

8. Исследования в области фотосинтеза

В этой главе мы вкратце рассмотрим некоторые главные направления в изучении широкой и многогранной проблемы фотосинтеза.

Хлоропласты, протопласты и клетки

Сейчас уже довольно легко выделить интактные хлоропласты, способные фиксировать углекислоту с высокой скоростью (хлоропласты типа А, или полные хлоропласты). Это дает возможность изучать функцию хлоропластов в связи с ролью цитоплазмы и других компонентов клетки. Протопласты, представляющие собой по сути дела клетки, лишенные оболочек (клеточные оболочки удаляют, воздействуя специальными ферментами), с успехом используются в современных исследованиях процессов переноса субстратов и метаболитов в клетку и из клетки, в хлоропласт и из хлоропласта. Из листьев можно выделять и целые клетки (вместе с оболочками) и изучать на них более сложные взаимодействия потоков субстратов, ионов, газов и т. д.

Роль света в регуляции фотосинтеза

Свет влияет на активность многих ферментов, участвующих в фиксации CO_2 . В их число входят NADP^+ -глицеральдегид-3-фосфат — дегидрогеназа, фруктозо-1,6-бисфосфатаза, седогептулозо-1,6-бисфосфатаза, рибулозо-бисфосфат-карбоксилаза, пируватфосфатдикиназа, малатдегидрогеназа. Для объяснения того факта, что свет повышает активность этих ферментов, предлагались различные гипотезы — изменение рН в строме, увеличение концентрации Mg^{2+} в строме, изменение окислительно-восстановительного состояния, активация под действием определенных белковых факторов и «эффекторов». Для стромы характерно высокое содержание аскорбиновой кислоты, и, следовательно, на активность ферментов могут влиять окислительно-восстановительные состояния

глутатиона и глутатионредуктазы. Обнаружено, что два белка хлоропластов (тиоредоксин и ферредоксиин-тиоредоксин — редуктаза) участвуют в работе связанного с ферредоксином регуляторного механизма, от которого зависят по меньшей мере четыре фермента пентозофосфатного восстановительного цикла. В настоящее время все эти проблемы исследуются очень активно.

Синтез крахмала и сахарозы

Осуществление фотосинтеза и его скорость зависят от движения метаболитов из хлоропласта в цитоплазму и обратно. Сахарофосфаты уносятся из хлоропласта и используются для синтеза сахарозы, а высвобождающийся в этой реакции фосфат переносится обратно в хлоропласт, где он может быть использован для синтеза крахмала. По-видимому, для изучения процесса фотосинтеза в целом и его продуктивности решающее значение имеет исследование регуляторных механизмов, управляющих синтезом сахарозы и крахмала и транспортом сахаров в клетке и листе.

Вторичные реакции

Фиксация атмосферного азота, восстановление нитрата и сульфата, синтез белков и множество других реакций зависят от источников энергии, образующихся в процессе фотосинтеза, т. е. от АТФ, восстановленного ферредоксина и NADPH. Эти реакции имеют не менее важное значение, чем фиксация CO_2 . Они необходимы для осуществления у растений процесса фотосинтеза в целом. Что касается механизмов регуляции и интеграции фотосинтетических процессов, то в этом вопросе еще много неясного.

Изучение фотосинтеза у целого растения и проблема биопродуктивности

Эффективность фотосинтеза целого растения играет решающую роль для сельского и лесного хозяйства, экологии и т. п., поскольку именно она имеет существенное значение для анализа процессов производства пищи,

деление в них липидов, белков, пигмент-белковых комплексов и т. п. (рис. 8.1). Пока еще не ясно, каков механизм упаковки мембран в граны и каково его биохимическое и физиологическое значение. С вопросом об образовании гран в некоторой степени связана и проблема взаиморасположения фотосистемы I и фотосистемы II в мембранах стромы и гран.

Происхождение и развитие хлоропластов

Откуда произошли хлоропласты водорослей и высших растений (эукариот)? Согласно эндосимбиотической теории эволюции эукариот, хлоропласты ведут свое начало от прокариотических клеток — цианобактерий (сине-зеленых водорослей). Верна ли эта теория? Можно ли считать, что сине-зеленые водоросли (симбиотические водоросли; см. рис. 3.5), обнаруживаемые в некоторых облигатных фотоавтотрофах, например в *Cyanophora* sp. (жгутиковой водоросли, содержащей сине-зеленую водоросль в качестве симбионта), являются современными представителями звена, лежащего в эволюционном ряду между сине-зелеными водорослями и хлоропластами? Накапливается все больше данных в пользу близкого сходства между сине-зелеными водорослями и хлоропластами эукариот.

Другое направление исследований, активно ведущихся в настоящее время, — это 1) синтез и сборка компонентов хлоропласта, 2) вопрос о том, синтез каких компонентов направляется геномом самого хлоропласта и каких компонентов — ядерным геномом клетки. Каким образом синтезированные в цитоплазме компоненты переносятся в хлоропласт и встраиваются в его мембраны; как из протопластид выращенных в темноте растений и водорослей образуются при освещении зрелые пластиды и тилакоиды?

Генетика

В настоящее время изучение молекулярной генетики хлоропласта интенсивно развивается. Расширились наши представления о хлоропластной ДНК, о местах синтеза и транслокации хлоропластных белков, о регуляции син-

теза белков и т. д. В будущем это поможет нам управлять реакциями фотосинтеза на уровне хлоропластов, листьев и целых растений. Генетические аспекты изучения сине-зеленых водорослей (цианобактерий) и фотосинтезирующих бактерий и выяснение роли плазмид представляются также очень интересными, поскольку все эти организмы являются бактериями, и в работе с ними можно использовать те же генетические методы и подходы, которые уже хорошо разработаны для других прокариотических организмов.

Последовательности транспорта электронов при циклическом и нециклическом фотофосфорилировании

Приведенные в этой книге схемы, разумеется, нельзя рассматривать ни как полные, ни как безусловно точные. Изучение кинетических характеристик реакций индивидуальных компонентов и выяснение роли пока еще не обнаруженных компонентов могут существенно изменить наши представления. До сих пор мало изучены реакции выделения кислорода в фотосистеме II, первичные акцепторы электронов, состав реакционных центров. Активно исследуются важные вопросы, касающиеся ориентации отдельных компонентов мембраны. Значительный интерес представляет роль большого пула пластохинонов между фотосистемой II и фотосистемой I.

Транспорт ионов

Участие хлоропластов в «перекачке» различных катионов, например Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , и анионов, например PO_4^{3-} , Cl^- , вносит важный вклад в общий процесс переноса и накопления ионов в клетке. Точный механизм этого явления еще не установлен.

Кроме того, под действием света такие ионы, как Mg^{2+} и H^+ , переносятся через мембрану тилакоида, принимая участие в механизмах регулирования фиксации CO_2 и возникновения поверхностного заряда на самих мембранах. Какова роль этого перемещения ионов, пока еще не ясно.

Механизм образования АТР

Связь между протонным насосом, создающим трансмембранный градиент концентрации H^+ , и образованием АТР (хемиосмотическая гипотеза Митчелла) активно изучается на самых разнообразных объектах — мутантах водорослей, целых и лопнувших хлоропластах, препаратах субхлоропластных мембран. При этом исследуется влияние сопрягающих факторов и АТРаза, антител, ингибиторов и разобщителей, регуляторов электронного транспорта и т. п. Локализация образования АТР точно еще не установлена. Обнаружены два участка, связанных с фотосистемами I и II, в которых синтез АТР сопряжен с транслокацией протонов. До сих пор не установлена точная стехиометрия процесса фотофосфорилирования, т. е. отношение $NADPH/ATP$. Иначе говоря, неизвестно, чему равно отношение $ATP/2e^-$ (1,0, 1,33 или 2,0?), а это очень важное значение, поскольку, получив ответ на этот вопрос, можно узнать, сколько квантов необходимо для фиксации одной молекулы CO_2 . Значительные успехи достигнуты в изучении структуры АТРаза — 5 белковых субъединиц этого фермента показаны на рис. 8.1. Постепенно выявляются и свойства этих субъединиц — способность к связыванию с мембраной, ингибиторная активность, протонный обмен, связывание фосфатов и т. п.

Выделение кислорода в фотосистеме II

Эта важнейшая реакция фотосинтеза у всех растений остается до сих пор одной из самых больших загадок. Однако исследования, проводимые в последние годы, помогают понять природу механизма, обуславливающего разложение воды и высвобождение кислорода, протонов и электронов. Был выделен белковый комплекс фотосистемы II, при добавлении которого к лишенным его мембранам липосом восстанавливалось выделение кислорода. Роль марганца в этом процессе пока еще установить не удастся, поскольку существует по меньшей мере два пула марганца и исследовать их методами спектрофотометрии очень трудно. Не установлена также последовательность актов поглощения света,

окисления S-состояний, выброса протонов и выделения кислорода. Вместе с тем имеются успехи в изучении взаимной ориентации компонентов фотосистемы II в мембране — показано, что выделение кислорода и высвобождение протонов происходят на внутренней поверхности мембраны тилакоида.

Моделирование фотосинтеза

Фотохимики и фотобиологи настойчиво ищут искусственные системы, способные расщеплять воду за счет солнечной энергии. В синтетические мембраны, приготовленные из липосом, можно встраивать пигменты, белки и другие молекулы, способные поглощать свет и осуществлять транспорт электронов. Специально синтезируются различные соединения марганца и исследуется их способность катализировать разложение воды. Изготовлены различные полупроводниковые катализаторы, содержащие рутений и (или) титан и способные при освещении выделять молекулярный кислород из воды. Исследуются также искусственные системы, способные к фотовосстановлению CO_2 с образованием муравьиной кислоты и метилового спирта. Ферредоксин, используемый для моделирования системы хлоропластной мембраны, в присутствии гидрогеназы и платины может восстанавливаться на свету с образованием молекулярного водорода из воды. Преимущество подобных искусственных систем по сравнению с природными системами фотосинтеза состоит в том, что их можно оптимизировать, добиваясь максимальной эффективности фотосинтеза, которая в данном случае не лимитируется физиологическими свойствами и потребностями целого растения.