

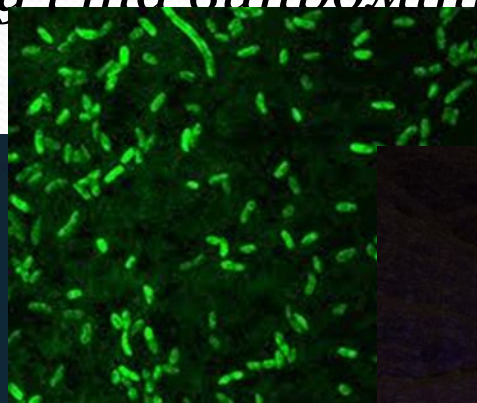
Біофізика фотобіологічних процесів

- Загальні закономірності фотобіологічних процесів.
- Явище біолюмінісценції у живій природі та його значення.
- Структурно-функціональні властивості фітохрому.
- Організація фотосинтетичного апарату у рослин.
- Фізико-хімічна основа фотосинтезу.
- Перетворення енергії у фотосинтетичних процесах.

Деякі процеси, що протікають у біологічних системах, супроводжуються явищем **люмінесценції** (світіння).

Світіння ряду організмів (деяких бактерій, молюсків, глибоководних риб, комах та ін.) відбувається у видимій області спектра за участю ферментів люцифераз і часто служить інформаційними сигналами для інших особин або є захисною реакцією.

Біоломінесценція - результат біохімічної (хемілюмінесцентної) реакції, в якій хімічна енергія збуджує специфічну молекулу і та випромінює світло.



Люмінесценція супроводжує ряд біохімічних реакцій
найбільш поширеним і вивченим прикладом яких є
реакції перекисного окислення ліпідів.

Крім того, хемілюмінесценція може бути викликана
впливом на біологічні системи зовнішніх фізичних
факторів: опроміненням іонізуючою радіацією
(радіохемілюмінесценція), видимим або
ультрафіолетовим випромінюванням
(фотохемілюмінесценція), впливом ультразвуку

Хемілюмінесценція виникає в тому випадку, якщо
(сонохемілюмінесценція) та ін.
енергії певної хімічної реакції достатньо для

утворення продуктів в електроннозбудженому стані
(P^*).

Перехід останніх в основний стан (P)
супроводжується випромінюванням кванта світла:



Походження явища

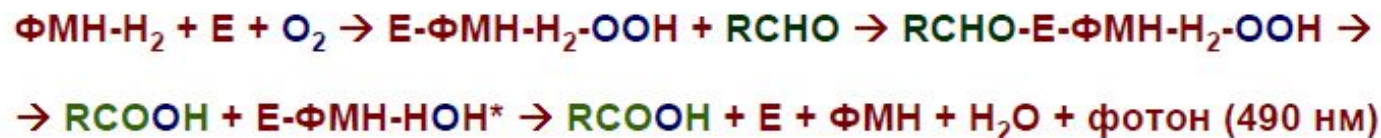


Особливістю біолоюмінесцентних систем є те, що вони не закріплювалися в філогенезі (тобто еволюційно). Більшість з них виникло у різних тварин незалежно, тому вони відрізняються як з біологічної, так і з хімічної точки зору. Таким чином, на противагу багатьом структурним білкам і ферментам (гістони, цитохроми або м'язові білки), які є подібним філогенетично у далеких форм, субстрати та ферменти біолоюмінесцентних систем у різних тварин, здатних до світловипромінювання, зовсім різні.

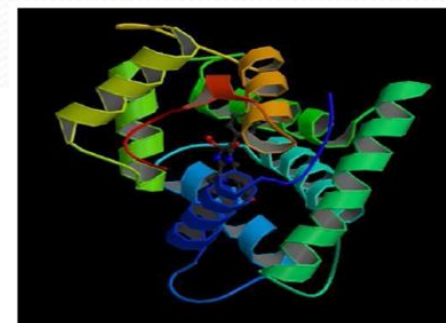
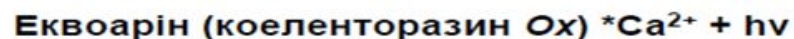
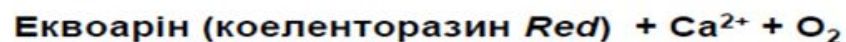
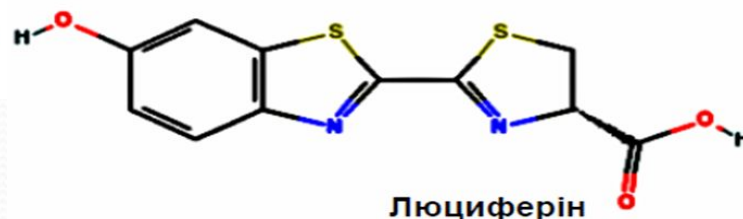
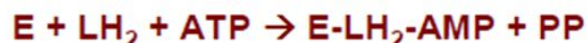
Найбільш поширеними біохімічними реакціями, що супроводжуються люмінесценцією, є процеси *перекисного окислення ліпідів*. Явище люмінесценції дозволяє кількісно визначити швидкість процесів перекисного окислення ліпідів.

Визначення швидкості перекисного окислення дозволяє судити про рівень обмінних процесів у клітині при впливі хімічних і фізичних

В основі біolumінесценції бактерій лежить реакція окиснення відновленої форми флавінмононуклеотиду ФМН-Н₂ до ФМН і водночас окиснення аліфатичного альдегіду до міристинової кислоти, яка каталізується ферментом *бактеріальною люциферазою*:



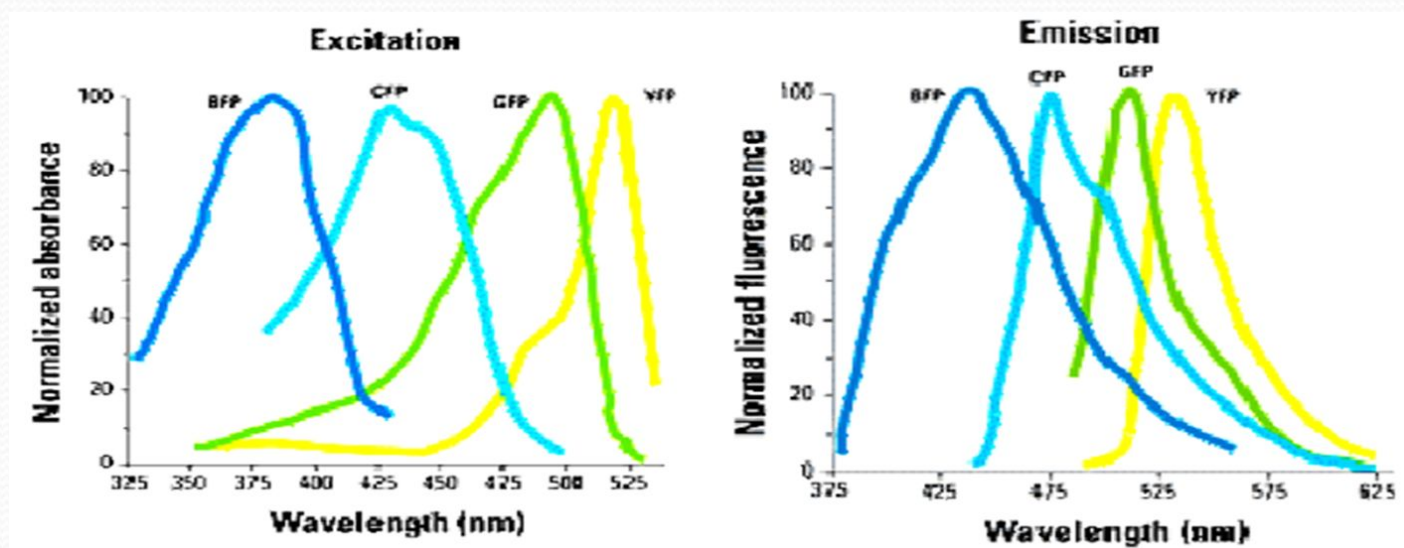
В основі біolumінесценції світляків лежить реакція окиснення люциферину киснем у присутності АТФ, яка каталізується ферментом *люциферазою*:



Параметри світлових сигналів, які використовуються для комунікацій:

- форма, розміри та кількість біоломінісцентних органів;
- яскравість свічення;
- рух об'єктів, які світяться;
- спектральний склад біоломінісцентного сигналу;
- часові параметри сигналу (частота мерехтіння, синхронізація спалахів, зміна часових характеристик з часом).

Флуоресцентні білки



Біохемілюмінесценція – світіння, що супроводжує хімічні реакції біологічних об'єктів (свідчення гнилих дерев, світлячків, тощо).

Доведено, що біохемілюмінесценція виникає при рекомбінації перекисних вільних радикалів ліпідів:

збуджений продукт продукт + квант біохемілюмінесценції.

Інтенсивність біохемілюмінесценції значно зростає при внесенні досліджувані системи солей двоцвалентного заліза.

Серед наземних організмів світяться окремі види грибів, земляних хробаків, равликів, багатоніжок і комах.

На рівні мікросвіту дуже слабе світіння, яке ми можемо зареєструвати тільки за допомогою високочутливих фотометрів, - це побічний ефект нейтралізації ферментами активних форм кисню, необхідних, але токсичних для клітин - учасників процесу окислювання глюкоз. Вони ж поставлять енергію, необхідну для хемілюмінесценції, різним люмінофорним білкам.

Значення:

Вимір інтенсивності
люмінесценції використовується :

- в медицині;
- в біохімічних лабораторій
(напр. для визначення
експресії генів);
- при судово-медичній
експертизі;
- для біотехнологічних
досліджень (генна інженерія).



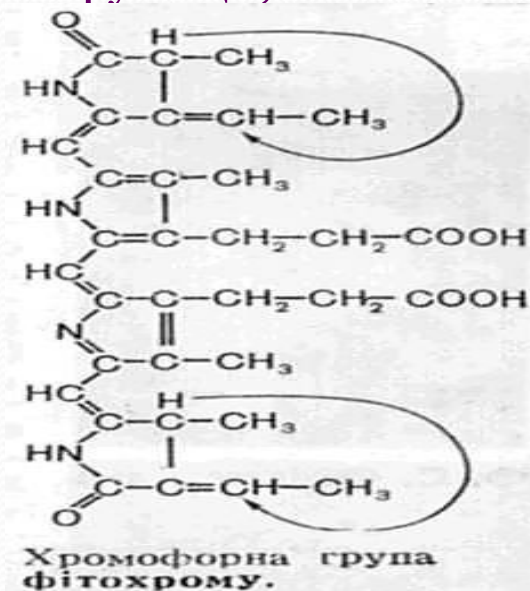
Фітохром вперше було виявлено у 1950-х роках американськими дослідниками А. Бортвіком, Б. Хендріксом і У. Паркером в рослині салату «Grand Rapids».

У 1957р. Л. Батлером (під керівництвом Б. Хендрікса) було остаточно виділено і описано фітохром в чистому вигляді.

Фітохром – це фікобілін, який знайдений у всіх фотосинтезуючих рослин, він є фоторецептором і виконує регуляторні функції, виявлений в усіх клітинах усіх органів, хоча найбільше його в **Фітохром** (від грец. - рослина і колір) - тканинах: блакитний пігмент з групи складних білків - хромопротеїдів.

З точки зору біохімії, фітохром - це білок, що містить біліновий хромофор.

Молекула хромофору синтезується спочатку як замкнутий тетрапірол (гем), а потім розмикається і вбудовується в білок.





**Цей пігмент відіграє важливу роль
в ряді процесів, таких як:**

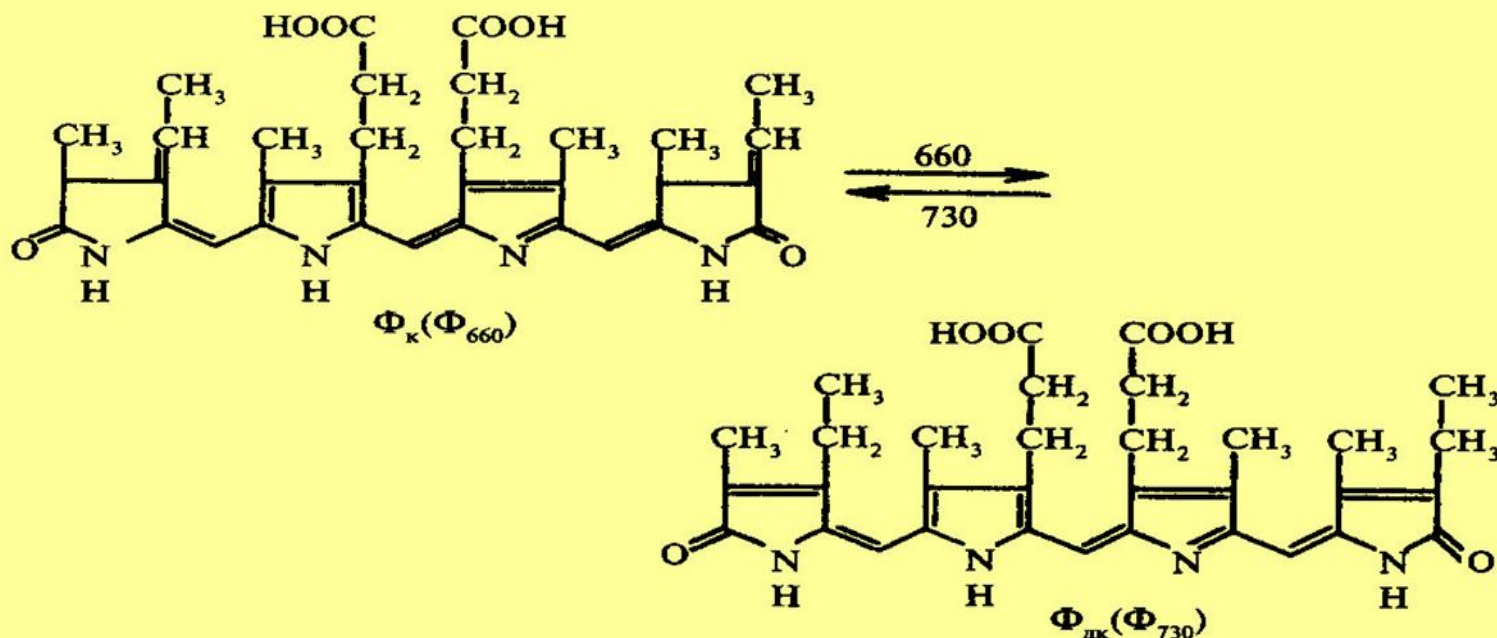
- *цвітіння і проростання насіння;**
- *допомагає встановлювати циркадні ритми;**
- *регулює форму, розмір і кількість листків, синтез хлорофілу;**
- *регулює розправлення епикотила и гіпокотила в насінні дводольних рослин;**
- *підвищує синтез антоціанів, зокрема, у**

Принцип роботи фітохромної системи

Фітохром може перебувати у двох основних станах, що характеризуються максимумом поглинання:

Фч – червона форма, що поглинає червоне світло з максимумом у ділянці 660 нм (фізіологічно неактивна форма),

Фдч - дальня червона форма або інфрачервона, що поглинає далекі червоні промені в ділянці 730 нм (фізіологічно активна форма).



Структура хромофорної групування фітохромов

Фітохімічні реакції в білках, ліпідах і нуклеїнових кислотах.

Загалом можна сказати, що механізм дії фітохрому вивчений не зовсім достатньо; згідно однієї з гіпотез, він пов'язаний із зміною проникності біологічних мембран.

Проте встановлено, що під контролем фітохрому знаходяться синтези біополімерів (ДНК, РНК, білків), системи біосинтезу хлорофілу, каротиноїдів, антоціанів, органічних фосфатів, вітамінів.

Фітохром прискорює катаболічний розпад полісахаридів, жирів і резервних білків, активує клітинне дихання і окислювальне фосфорилування.

На субклітинному і клітинному рівнях зареєстровані регуляція фітохромом формування пластид (ламелярної структури хлоропластів), а також ділення і розтягування клітин.

Фотосинтез - це комплекс процесів асиміляції фотонів і хімічних субстратів в рослинному організмі, які призводять до його росту і розвитку.

До фотосинтезу входять: процеси синтезу пігментів, що забезпечують поглинання фотонів і первинні фотохімічні реакції; синтез сполук, які відповідають за формування органів рослинного організму і його пристосування до умов навколишнього середовища.

У більш вузькому сенсі фотосинтез - це синтез вуглеводів під дією видимого світла.

Термін «**фотосинтез**» був запропонований Ч. Бансом із Чиказького університету на початку минулого сторіччя. В Європі цей процес часто називають асиміляцією вуглецю.

Багато живих організмів є здатними до фотосинтезу. Навіть в шкірному шарі ссавців під дією світла відбувається синтез хімічних сполук.

Але основними об'єктами дослідження фотосинтезу і практичного використання його продуктів є рослини, водорості і мікроорганізми.

У вищих рослин основна маса синтезованих сполук утворюється в листках. В

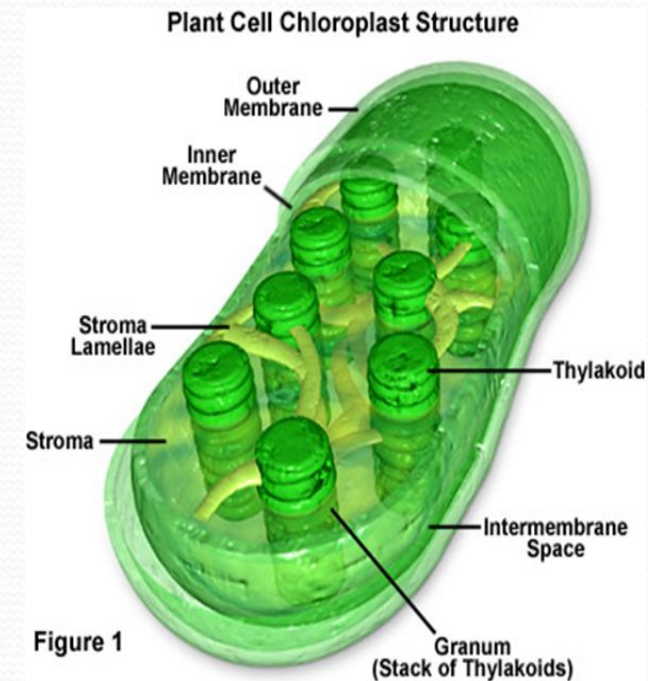
Структурна основа для фотосинтетичних процесів

Фотосинтетичні процеси рослинах локалізовані в спеціальних органелах – *хлоропластах*.

Внутрішній простір хлоропласта заповнений пластинчастими гранулами зеленого кольору - гранами. Грани являють собою стопки сплюснених мішечків - *тилакоїдів*.

Стінки тилакоїдів - *ламели* - являють собою тонкі фосфоліпідні мембрани, всередині яких знаходяться ліпотропні учасники первинних процесів фотосинтезу – білки, пігменти, переносники електронів і протонів.

Внутрішній міжмембранний простір тилакоїдів є водним середовищем, в якому містяться водорозчинні учасники процесу. У фотосинтезуючих бактерій немає хлоропластів, а процеси фотосинтезу розташовані в мембранах, які подібні на ламели вищих рослин. Вони розташовані під зовнішньою оболонкою і утворюють замкнутий простір, оскільки є необхідним утворення електрохімічного потенціалу для протонів.



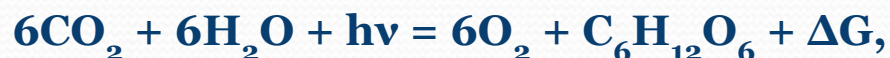
Фізико-хімічна основа фотосинтезу

Основна продукція фотосинтезу - це сполуки з високим відновним потенціалом - вуглеводи.

Процес фотосинтезу включає в себе дві стадії:

1. *Фотоліз* – фізична сутність якого полягає в розкладанні води за допомогою квантів світла на кисень і водень, причому кисень є в цьому процесі побічним продуктом.
2. *Відновлення* - отримання глюкози.

Основним рівнянням фотосинтезу у вищих рослинах є



реакція відбувається тільки за рахунок енергії світла і на один етап реакції в її продуктах запасається $\Delta G = 686$ ккал вільної енергії. Однак, це рівняння об'єднує два етапи перетворення субстратів: світловий і темновий, і в даному рівнянні не видно важливі проміжні продукти даної реакції.

Тому для розуміння необхідно записати ці етапи роздільно:



Видно, що продуктом світлової стадії є відновлені переносники НАДФН₂ і АТФ, які в темновій стадії відновлення вуглекислоти до глюкози (цикл Кальвіна) відповідно окислюються і гідролізуються.

Зірочкою відзначений кисень, який утворюється при фоторозкладі води.

Необхідно відзначити, що вода, яка утворюється в темновій стадії, містить інші

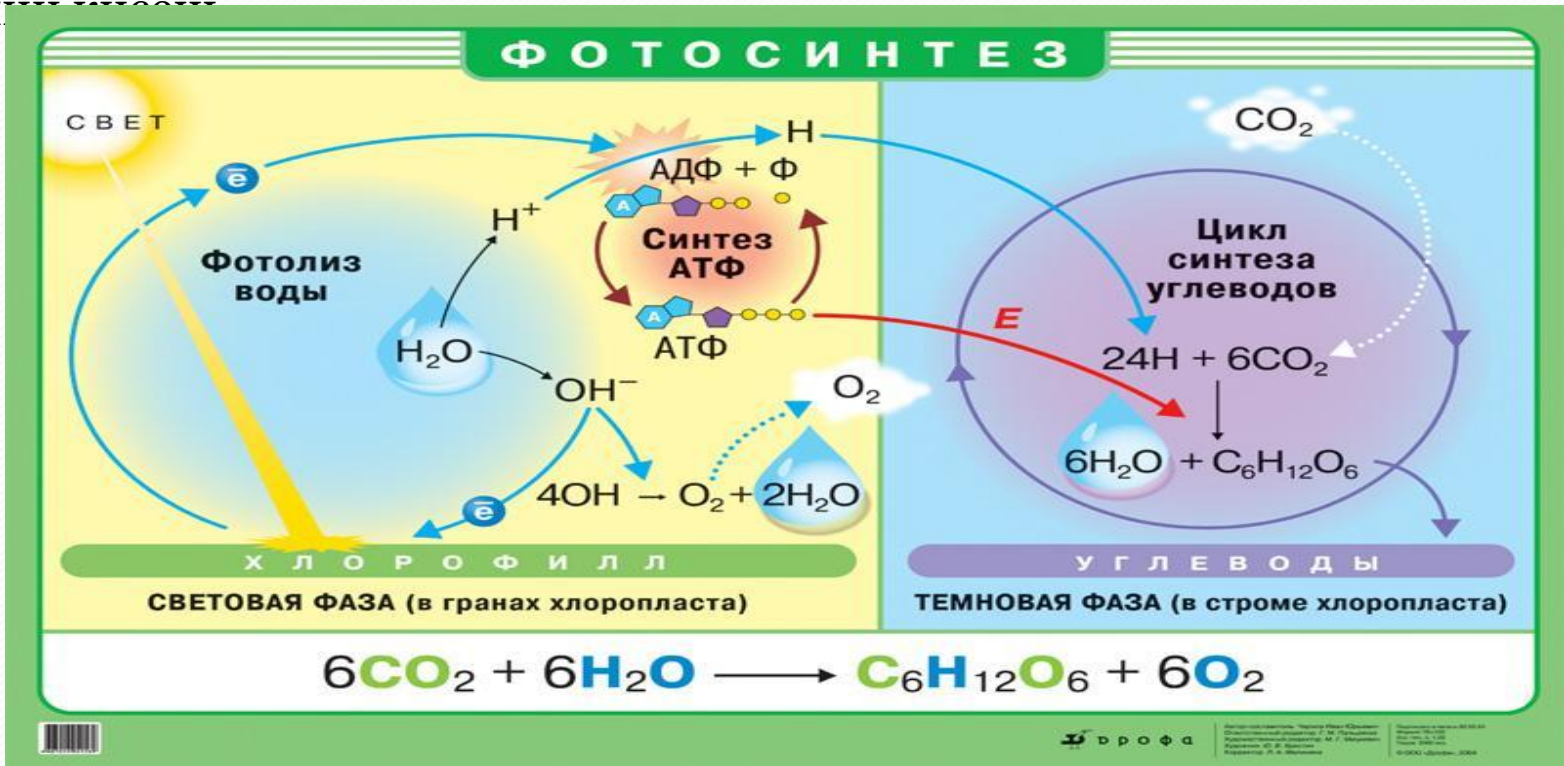


Рис. Світлова і темнова фази фотосинтезу.

Перша стадія фотосинтезу протікає на світлі за допомогою фотокаталізатора. Фотокаталізатором в рослинах є *хлорофіл - а, b і с*.

Спектри поглинання хлорофілів якісно схожі:

в червоній області - в районі 660-680 нм,

в синій області - в районі довжин хвиль 450 нм.

У хлоропластах вищих рослин є дві фотосистеми - *фотосистема 1 (ФС1) і фотосистема 2 (ФС2)*, які розрізняються по складу білків і пігментів.

Світлозбираюча антена ФС1 поглинає світло з довжиною хвилі 700-730 нм, а ФС2 - 680 - 700 нм. Індуковане світлом окиснення реакційних центрів двох фотосистем супроводжується їх знебарвленням, яке характеризується змінами спектрів поглинання.

Дві фотосистеми зв'язані за допомогою ланцюга електронних переносників.

ФС2 є джерелом електронів для ФС1. Індуковане світлом розділення зарядів в фотореакційних центрах забезпечує перенесення електрона від води, розкладається в ФС2, до кінцевого акцептора електрона - молекули НАДФ⁺.

Ланцюг електронного транспорту, що з'єднує дві фотосистеми, включає в

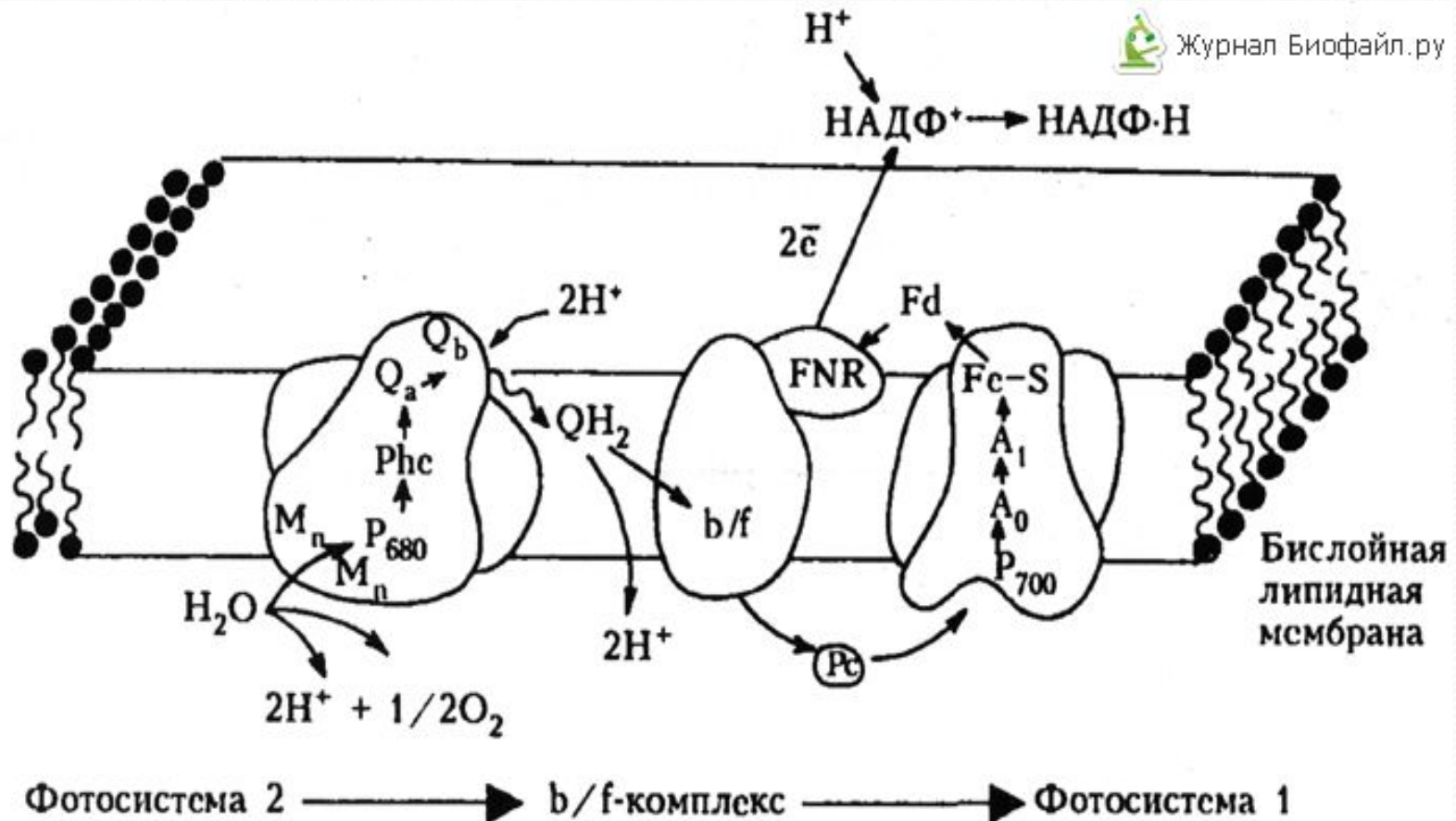


Рис. Розташування електрон-транспортних комплексів (ФС1, ФС2, b/f-комплексу) та їх взаємодія в тилакоїдній мембрані.

Фізичний сенс фотосинтезу полягає в тому, що в цьому процесі відбувається електронна перебудова молекул.

Загалом, *фотосинтез* - окислювально-відновний процес, в ході якого електрони від води (редокс-потенціал $H_2O/O_2 E_m = +0,81 V$) переносяться до піридиннуклеотидів (редокс-потенціал $НАДФ^+/НАДФН E_m = -0,32 V$), де електрони перебувають на більш високому енергетичному рівні.

Перенесення електрона йде проти термодинамічного потенціалу і вимагає енергії. Різниця окисно-відновних потенціалів окислення води та відновлення НАДФ дорівнює 1,2 В.

Отже, для перенесення одного електрона термодинамічно «вгору» (проти термодинамічного потенціалу) необхідно затратити 1,2 еВ енергії. В результаті електронної перебудови компонентів і утворення відновлених сполук (НАДФН) накопичуються електрони з високим енергетичним потенціалом.

Таким чином, в світлових реакціях фотосинтезу при поглинанні енергії фотонів *створюється потужний висхідний потік електронів проти градієнта термодинамічного потенціалу*. В результаті створюється великий

Редокс-енергія в процесах фотосинтетичного перетворюється в інші види хімічної енергії (електрохімічний потенціал, енергія фосфатних зв'язків АТФ). Сполуки, які утворюються в результаті роботи ЕТЛ, мають високий відновний потенціал (-0,43 В, -0,6 В).

Створення потужного відновного потенціалу у фотосинтезі має вирішальне значення для здійснення найважливіших метаболічних процесів і, насамперед, для відновлення CO_2 . Утворений відновний потенціал використовується також для відновлення NO_2^- , SO_3^{2-} і ряду сполук, що беруть участь в регуляції ферментів вуглецевого циклу.

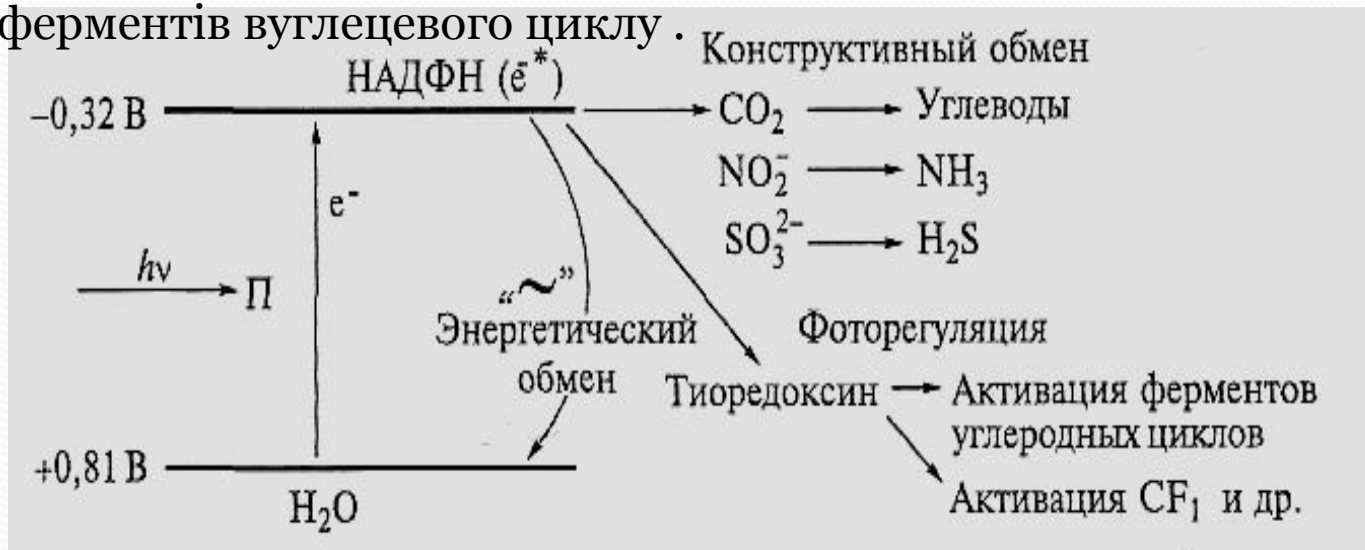
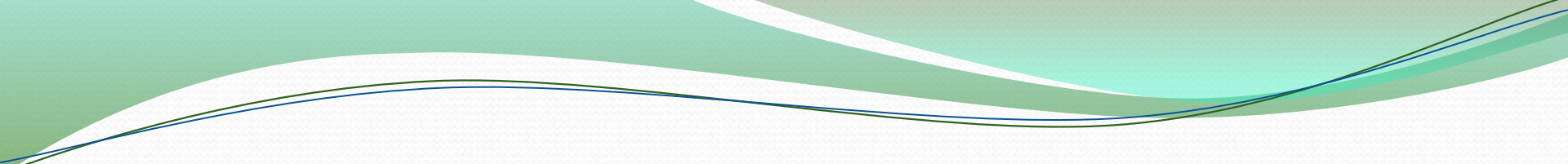


Рис. Використання в метаболізмі клітини енергетичного та відновного потенціалів, що виникають у фотохімічних реакціях.

Перетворення енергії в фотосинтетичних системах

Основні етапи перетворення енергії включають в себе такі процеси:

1. Поглинання енергії світла пігментами світлозбиральної антени;
2. Перенесення енергії збудження до фотореакційного центру;
3. Окислення фотореакційного центру та стабілізація розділених зарядів;
4. Перенесення електрона по ланцюгу електронного транспорту, утворення НАДФ•Н;
5. Трансмембране перенесення протонів;
6. Синтез АТФ.



Перенесення електронів по ЕТЛ супроводжується зниженням енергії. Цей процес можна уподібнити мимовільному руху тіла по похилій площині. Зменшення рівня енергії електрону в ході його руху вздовж ЕТЛ не означає, що перенесення електрона є енергетично марним процесом.

У нормальних умовах функціонування хлоропластів велика частина енергії, що виділяється в ході електронного транспорту, не пропадає марно, а використовується для роботи спеціального енергоутворюючого комплексу клітини - АТФ-синтетази.

Цей комплекс каталізує енергетично не вигідний процес утворення АТФ з АДФ і неорганічного фосфату. Тому прийнято говорити, що енергодонорні процеси електронного транспорту сполучені з енергоакцепторними процесами синтезу АТФ.

Основні властивості фотосинтетичного апарату рослин

1. Насичення світлової кривої фотосинтезу із зростанням освітленості:

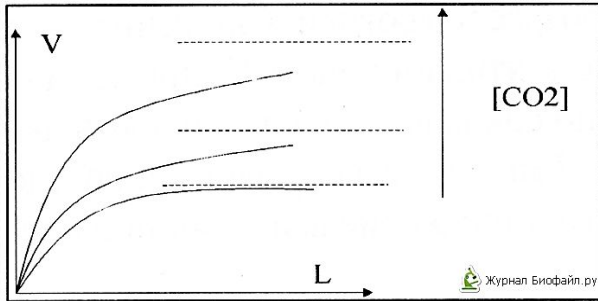


Рис. По вертикальній осі - швидкість асиміляції вуглекислоти V , по горизонтальній осі - освітленість листка L .

2. «Ефект посилення» Еммерсона.

Якщо вимірювати інтенсивність фотосинтезу від двох монохроматичних джерел світла з довжинами хвиль $\lambda_1 < 690$ і $\lambda_2 > 690$ нм, то вона виявиться в кілька разів більшою, ніж інтенсивність фотосинтезу при світлі тієї ж потужності, але яке містить лише одну довжину хвилі λ_1 або λ_2 .

Це пояснюється тим, що для нормального протікання фотосинтезу необхідне збалансоване збудження ФС1 і ФС2. Інакше, потік електронів слабшає.

«Пам'ять» «ефекту посилення» становить 1 секунду. Якщо освітлювати лист рослини по черзі світлом з λ_1 і λ_2 з інтервалом менше 1 секунди, то швидкість фотосинтезу буде відрізнятися від швидкості при одночасному опроміненні світлом з λ_1 і λ_2 . Цей час характеризує час утримання пластохіноном надлишку або дефіциту

3. Зміна окисно-відновного стану цитохромів b і f при освітленні світлом з різними довжинами хвиль.

При освітленні фотосинтетичного апарату світлом з $\lambda_1 < 690$ нм цитохроми відновлюються, а при освітленні світлом з $\lambda_2 > 690$ нм цитохроми окислюються. Це відбувається тому, що світло з довжиною хвилі λ_1 збуджує переважно ФС2, направляючи електрони до цитохромів, а світло з довжиною хвилі λ_2 збуджує в основному ФС1, відбираючи електрони від цитохромів.

4. Ефект Кока-Жоліо.

Якщо зелений листок рослини витримати в темноті близько години, а потім почати освітлювати короткими спалахами світла, то вихід кисню буде мати наступний вигляд



Рис. Кількість кисню, що виділяється при одному спалаху.
N - номер спалаху.

На два перші спалахи кисень практично не виділяється, на третій спалах виділення максимально, на четвертий дещо менше, далі серія повторюється з періодом 4, і через 20-30 спалахів модуляція згладжується, і виділення стають однаковими.

5. Затримана флуоресценція.

Слідом за загасанням флуоресценції молекули хлорофілу (декілька наносекунд) в живому листку спостерігається слабке залишкове світіння з характерним часом згасання від кількох секунд до хвилини.

6. Індукція флуоресценції.

При включенні освітлення спостерігається флуоресценція з певним значенням квантового виходу.

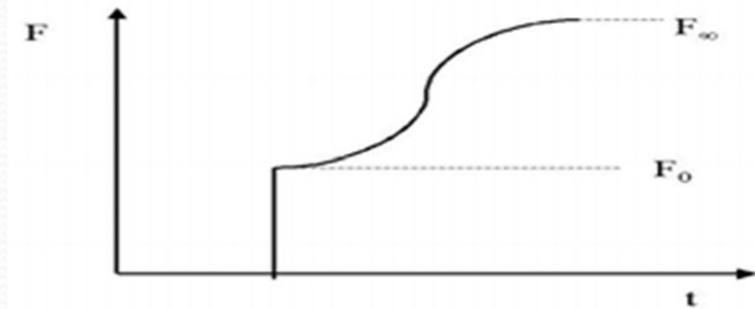
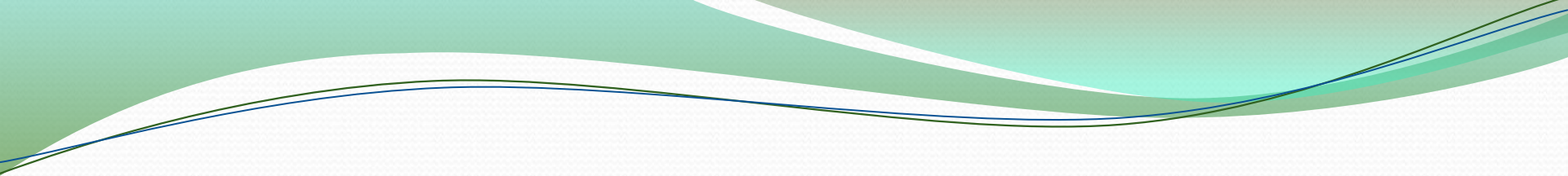


Рис. Індукція флуоресценції: F – квантовий вихід флуоресценції, t – час.



Отже, фотосинтез є основним джерелом біологічної енергії, фотосинтезуючі автотрофи використовують її для утворення органічних речовин з неорганічних, гетеротрофи існують за рахунок енергії хімічних зв'язків, запасеної автотрофами, вивільняючи її в процесах аеробного та анаеробного дихання.

Енергія, отримувана людством при спалюванні викопного палива (вугілля, нафта, природний газ, торф), також є запасеною в процесі фотосинтезу.

Фотосинтез є головним методом залучення неорганічного вуглецю в біологічний цикл. Весь кисень атмосфери біогенного походження і є побічним продуктом фотосинтезу. Формування окиснювальної атмосфери повністю змінило стан земної поверхні, зробило можливою появу дихання, а надалі, після утворення озонового шару, дозволило життю вийти на сушу.

Література

1. Біофізика: Підручник. / П.Г. Костюк, В.Л. Зима, М.Ф. Шуба, І.С. Магура, М. С. Мірошніченко, – Київ. нац. ун-т ім. Т.Шевченка. – К., 2008. – 567 с.
2. Рубин А.Б. Биопфизика: в 2 т. – М., Книжный дом «Университет», 2000.
3. Тиманюк В.А. Биопфизика / Тиманюк В.А., Животова, Е.Н. – Харьков: изд-во НФАУ, 2003. – 704 с.
4. Волькенштейн М.В. Биопфизика. – М.: Наука., 1988. – 592 с.
5. Геннис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функция. М., Мир, 1997. – 622 с.
6. Клейтон Р. Фотосинтез. Физические механизмы и химические модели. – М., 1984. – 355 с.
7. Плонси Р., Барр Р. Биоэлектричество. Количественный подход / Р.Плонси, Р. Барр. – М.: Мир, 1992. – 366 с.
8. Горго Ю.П., Маліков М.В., Богдановська Н.В. Екологічна біофізика людини: Навч. посіб. для студ. вузів. – Запоріжжя: ЗНУ, 2005. – 175 с.
9. История и методология биологии и биофизики [Электронный ресурс] : электрон. учеб. пособие / В.А. Кратасюк, Е. В. Немцева, Е. Н. Есимбекова и др. – Красноярск : ИПК СФУ, 2009. – 596 с.
10. Конев С.В. Фотобиология / С.В. Конев, И.Д. Вологовский – Минск: Изд-во БГУ, 1979. – 385 с.