Вопросы к Вашим контрольным работам:

«Свет, в виде потока фотонов, достигает мембран хромофоров» ?

«В состав ФС II входит водоокисляющий комплекс, содержащий в активном центре ионы марганца».

?

«Восстановление световой энергией CO_2 (с низкой энергией) в высокоэнергетическую восстановленную форму углерода в составе **углеводов**, которые затем используются нефотосинтезирующими организмами **как источник энергии и углерода»** ?

«Диапазон солнечного излучения, достигающего земной поверхности, называется видимым светом» ?

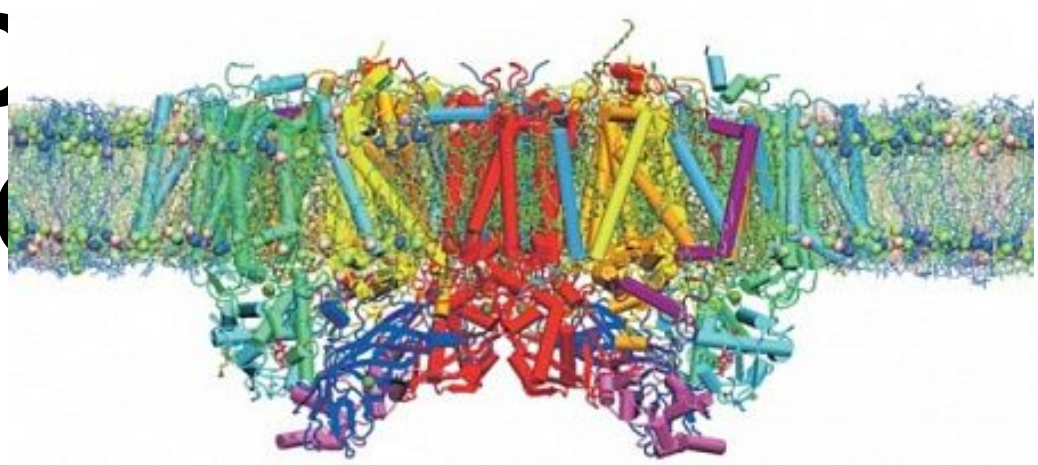
План лекции:

1. Молекулярная структура фотосинтетического аппарата. Регуляция экспрессии генов фотосинтеза

2. Процессы анаболизма в клетках водорослей. Темновое дыхание

3. Зависимость скорости фотосинтеза от освещенности

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕС ФОТО



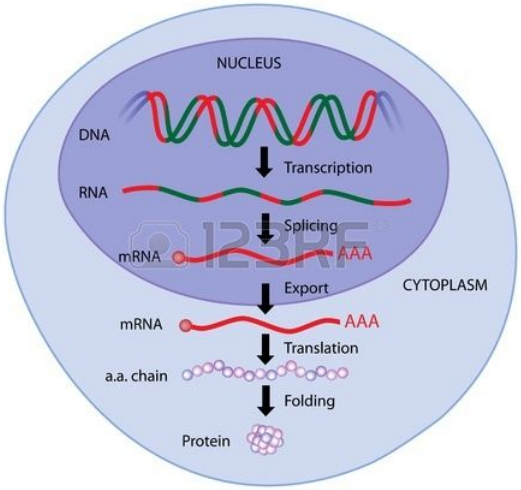
Кратко…..

Экспрессия гена?

Экспрессия гена – синтез зрелого функционального белка в соответствии с информацией, заключенной в гене.

Включает:

- траскрипцию (считывание),
- посттранскрипционную модификацию мРНК (иРНК) – процессинг (сплайсинг, редактирование
- трансляцию (синтез белка)
- посттрансляционный процессинг белка (отщепление головной (сигнальной и, или транзитной последовательности, фосфорилирование белков)
- пространственное размещение (компартментализацию)

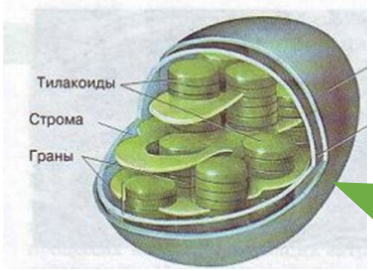


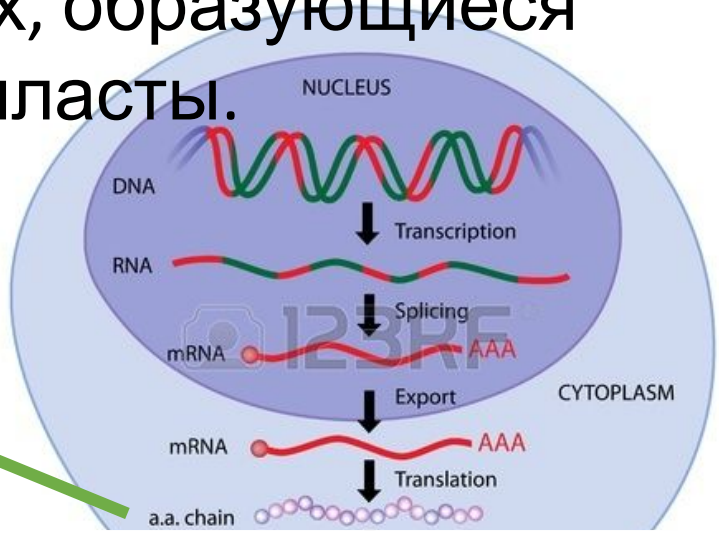
Регуляция экспрессии определенного гена фотосинтеза может идти на любом шаге, и как правило – на нескольких уровнях

Гены фотосинтеза – кодирующие компоненты фотосинтетического аппарата. Ядерные и хлоропластные.

Почему?

Ядерные - считываются в ядре, иРНК транслируется в 80S рибосомах, образующиеся белки импортируются в хлоропласты.



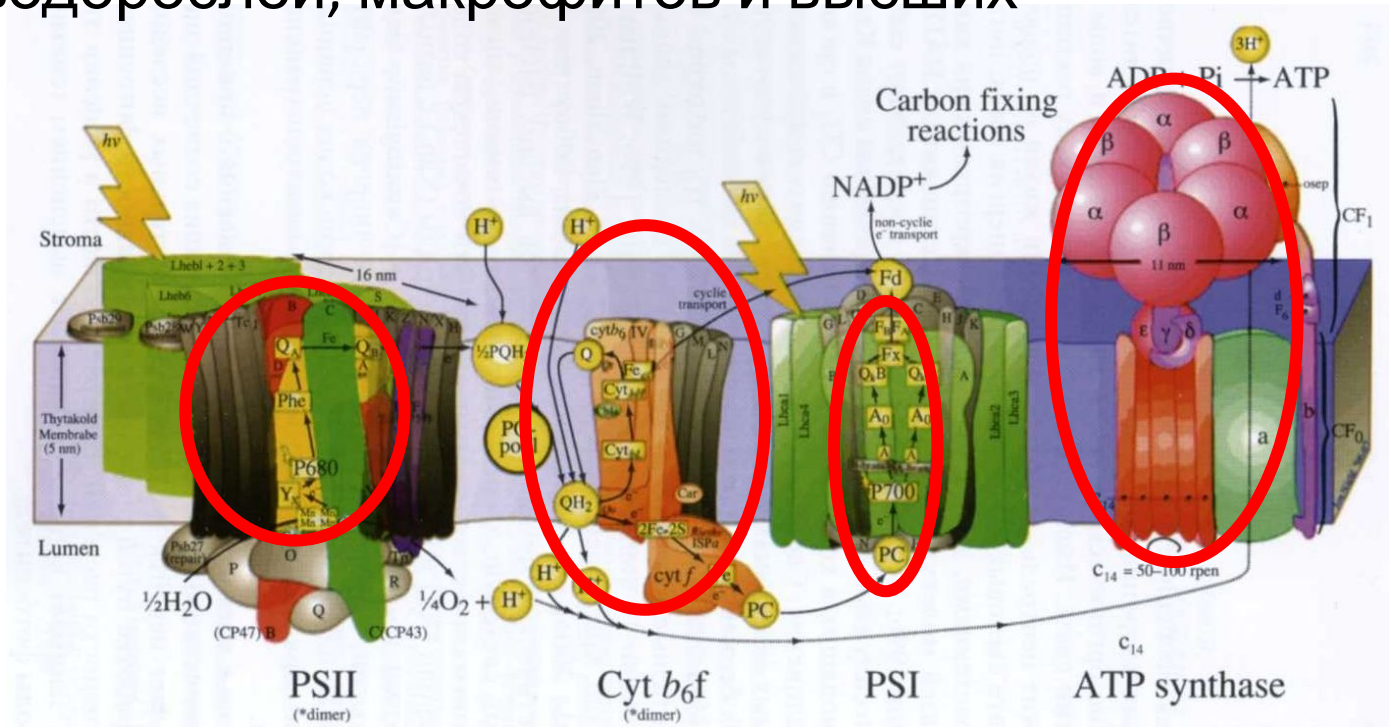


Многие белки **светособирающего пигментного комплекса**. Значительное разнообразие структуры белков, в соответствии с эволюционной историей таксономической группы

Хлоропластные - считываются в хлоропластах, иРНК транслируется в 70S рибосомах внутри хлоропласта.
Репликация хлоропластной ДНК происходит до или во время репликации ядерной ДНК.

Большинство ключевых белков РЦ, субъединицы РуБФК, часть АТФ-синтетазного комплекса, цитохромный комплекс.

Более **консервативные** белки (по сравнению с ССК) - структура относительно близка у цианобактерий, эукариотных водорослей, макрофитов и высших растений.



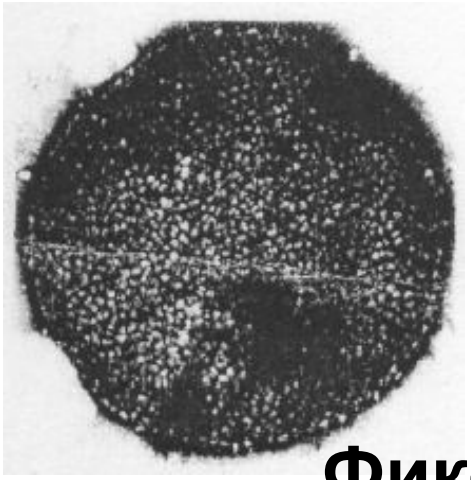
Светособирающий комплекс (антенна)

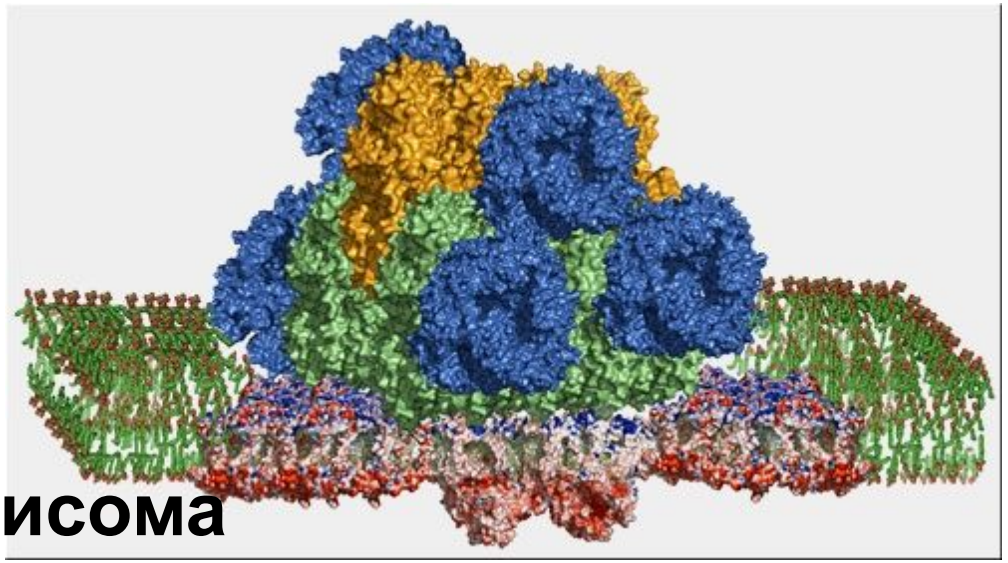
Разнообразен по составу и строению, в самом общем виде выделяют: хлорофилл-белковый и фикобилин-белковый ССК.

Фикобилин-белковый ССК

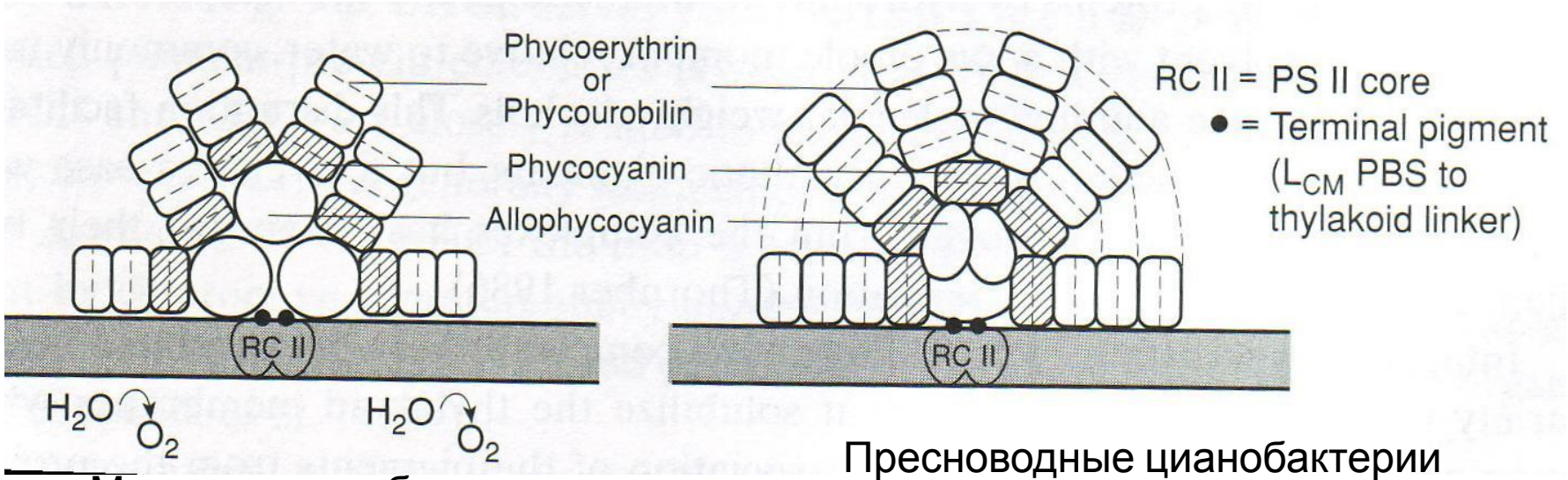
Водорастворим, присущ цианобактериям (кроме прохлорофитовых), криптофитовым, красным и глаукофитовым водорослям.

У **цианобактерий,** красных и глаукофитов организован в большие, видимые в электронный микроскоп структуры – фикобилисомы. Пигменты: **фикоэритрин**, **фикоуробин**, **фикоцианин** (фикоцианобилин), **аллофикоцианин.**





Фикобилисома

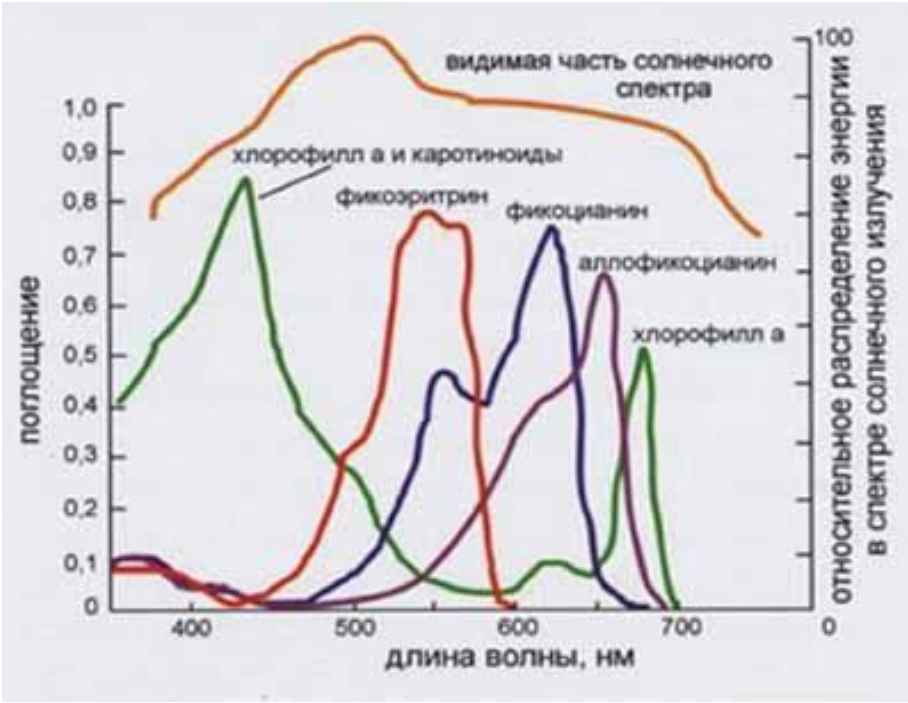


Морские цианобактерии

Пресноводные цианобактерии

У пресноводных водорослей фикобилипротеины агрегированы в дисковидные тримеры, у морских – в димеры.

Центр фикобилисомы связан с РЦ ФС2 через терминальный пигмент. **Одна фикобилисома обслуживает два РЦ ФС2.**



Средняя эффективность передачи энергии составляет

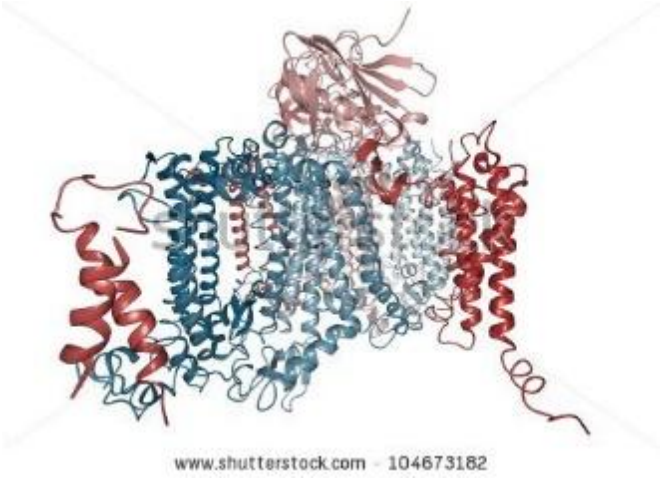
Пигменты и структура фикобилисом у разных клонов цианобактерии *Synechococcus*

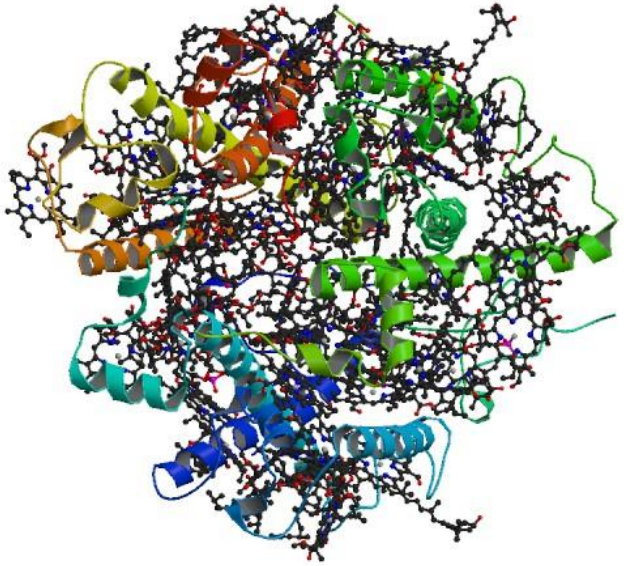
1, 2 и 3 – основные типы пигментации

3a, 3b, 3c и 3d – подтипы

У криптофитовых фикобилисом **нет.** Фикоэритрин встроен в тилакоидную мембрану и передает энергию возбуждения на РЦ ФС2 через хлорофилл *c*.

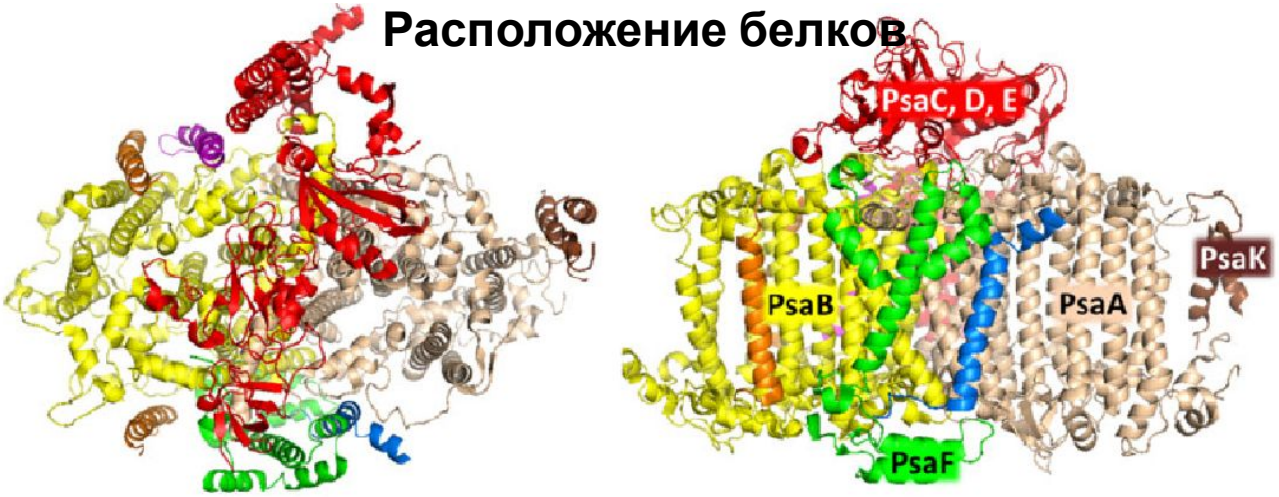
У всех водорослей, содержащих фикобилины, ССК ФС1– хлорофилл-белковый комплекс



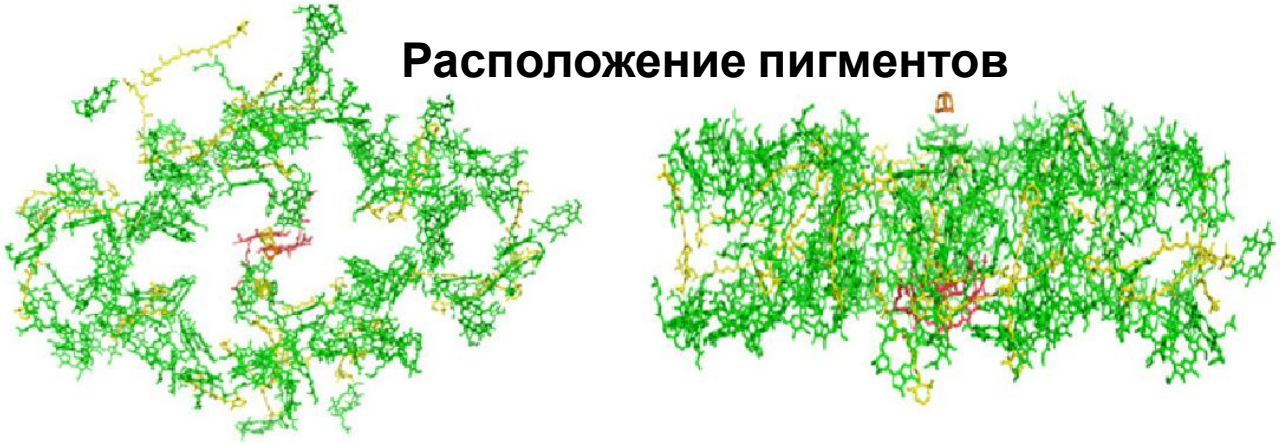


ССК ФС1 у цианобактерий

Расположение белков



Расположение пигментов



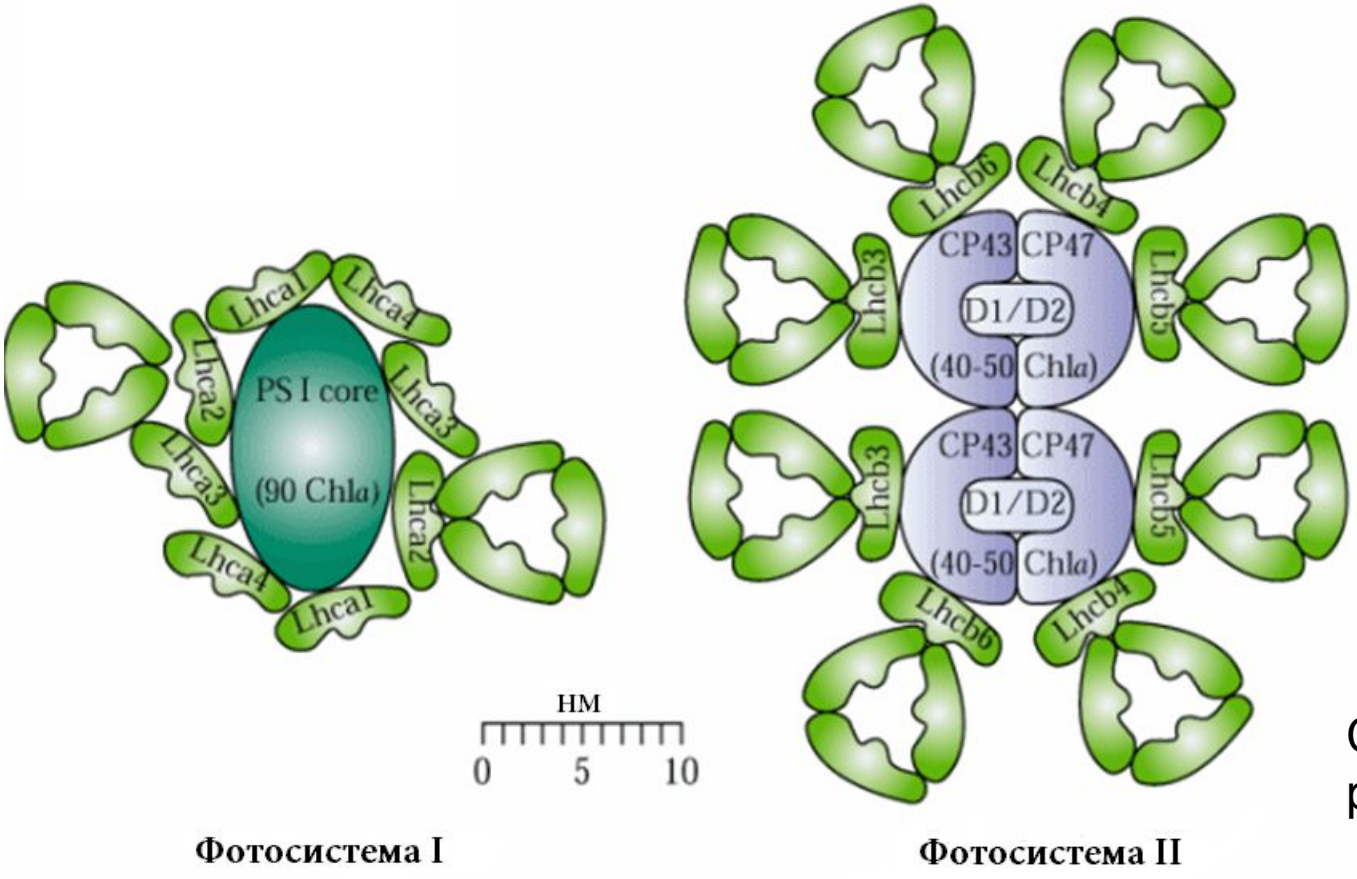
Хлорофиллы – зеленый цвет
P700 – красный цвет
Каротиноиды – желтый цвет

Хлорофилл-белковый комплекс

У каждой ФС – свой ССК.

ССК ФС2 и ССК ФС1 различаются, но филогенетически близкородственны

Водо-нерастворимый (гидрофобный), содержит > 95% клеточного хлорофилла. Кодируется как ядерным, так и хлоропластным геномом (у многих эукариот – только ядерным).



ССК у высших растений

ССК ФС2

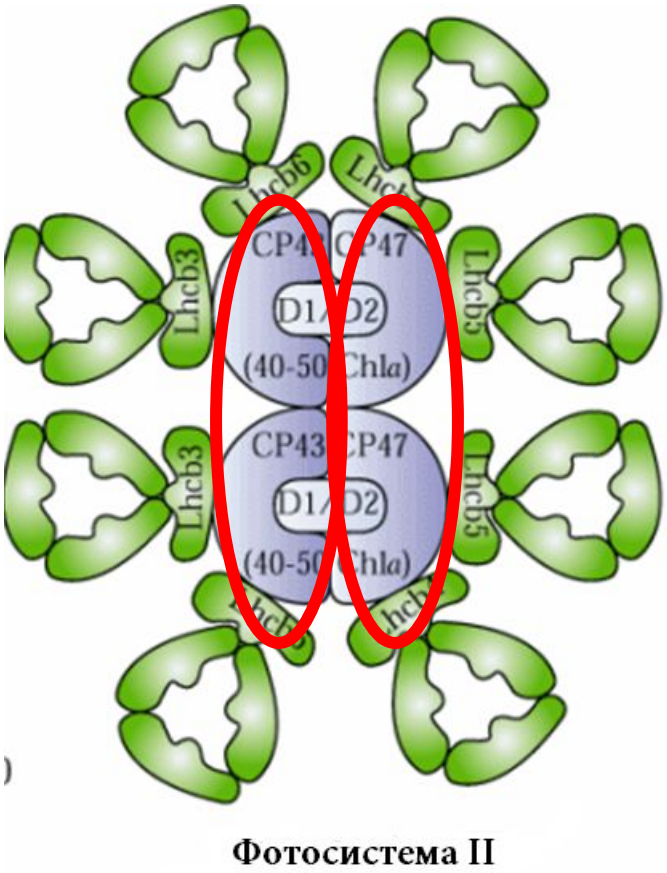
Сердцевина ССК ФС2 - хлорофилл-белковые комплексы CP43 и CP47, передают энергию непосредственно в РЦ ФС2

CP43 и CP47 **хлоропласт** кодируемые, содержат только хл *a*. Структура - консервативна, сходна у водорослей различных филогенетических линий и высших растений.

Периферия антенны - в большинстве ядерно-кодируемые хл-белковые комплексы, содержат вспомогательные пигменты.

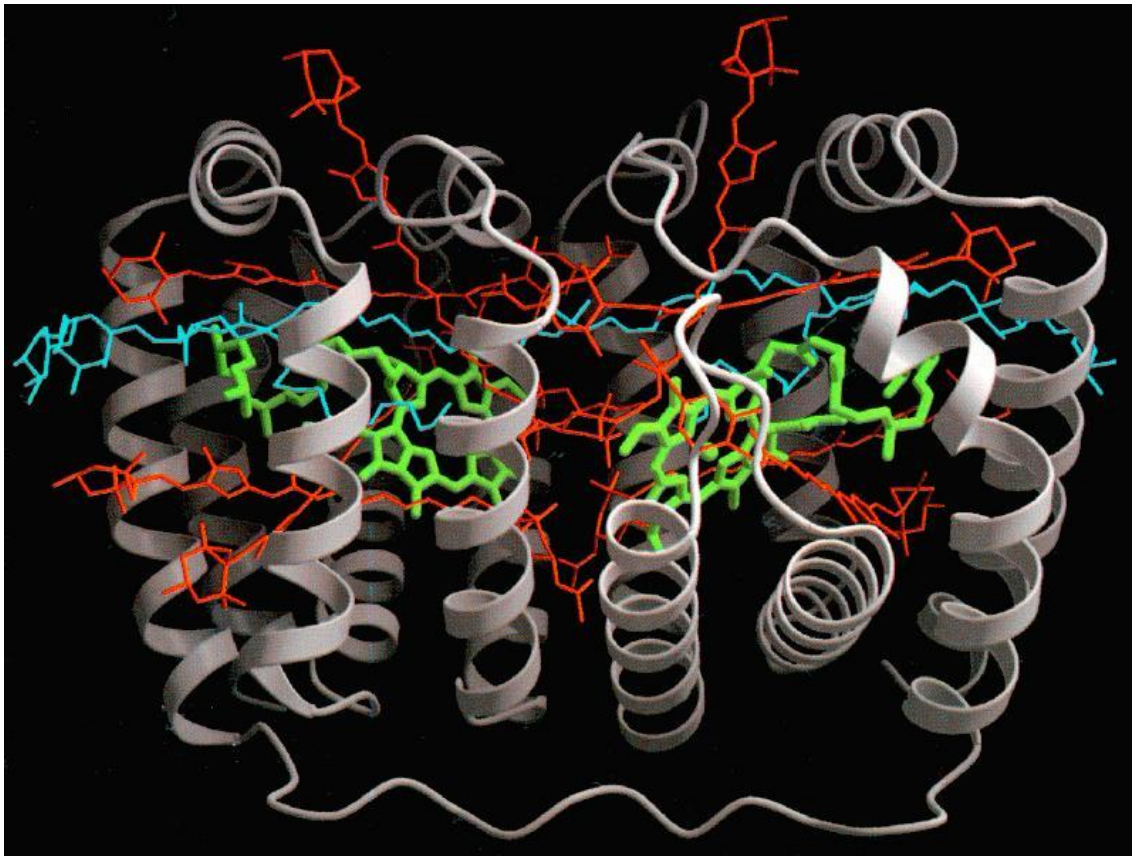
Состав вспомогательных пигментов у разных таксономических групп водорослей различается – различия в структуре периферии антенн:

Фукоксантин-хлорофилл белковый ССК у диатомовых и золотистых водорослей, содержит хл a и c, каротиноид фукоксантин.



ССК высших растений

Перидин-хлорофилл белковый ССК ФС1 у многих динофлагеллят, содержит хл *a* и *c* (или без хл с), каротиноид – перидин.



Перидин-хлорофилл *a* комплекс ФС2 у *Amphidinium carterae*

Большинство белков ССК кодируются ядерным геномом и, соответственно, транслируются в цитоплазме

Как попадают внутрь хлоропластов и встраиваются в тилакоидные мембраны?

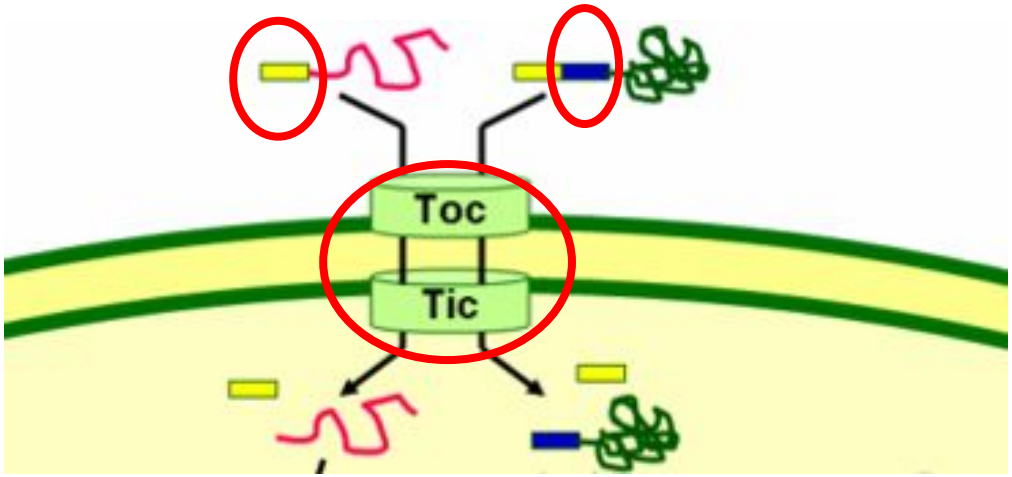
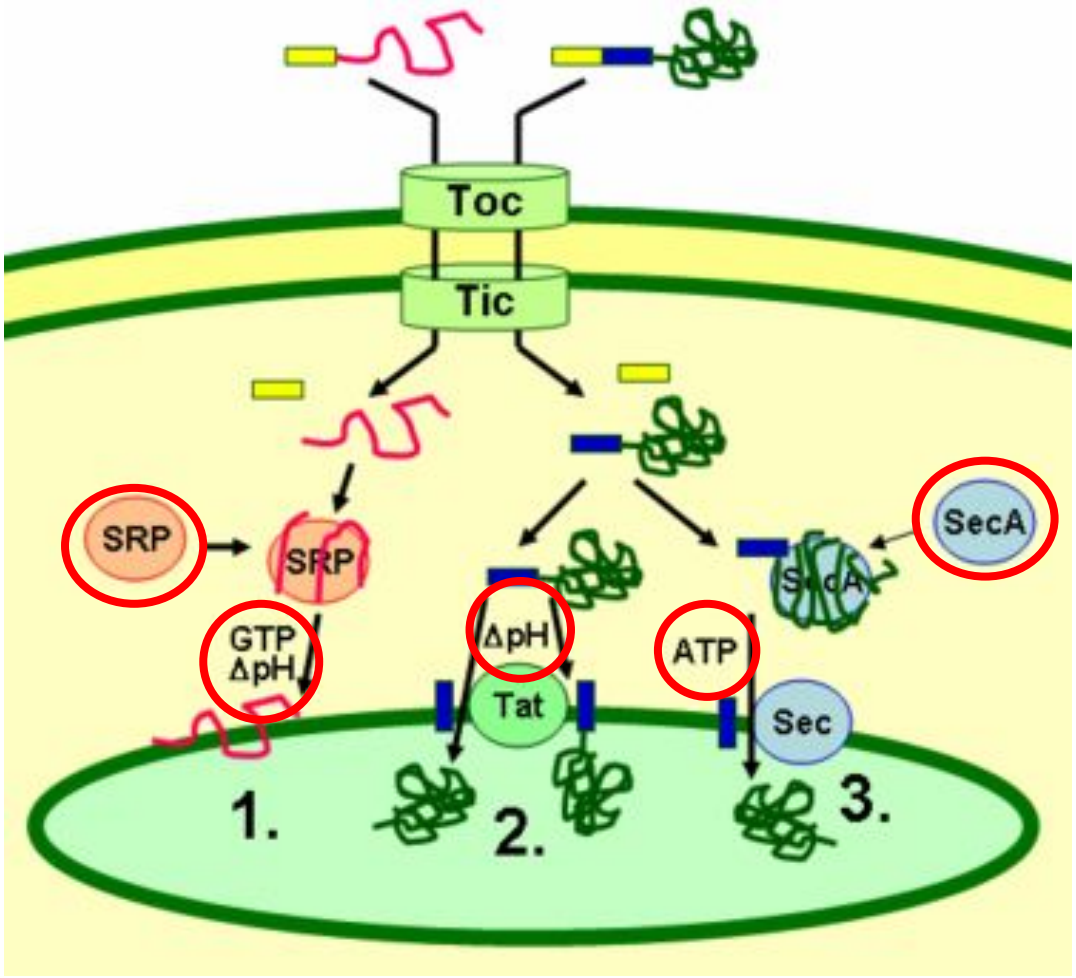


Схема транспорта белков ССК, кодируемых ядерными генами

Белки тилакоидов направляются к местам их расположения при помощи сигнальных пептидов и механизмов секреции. У большинство белков ССК два сигнала: N-концевой хлоропластный маркер (показан желтым), и тилакоидный маркер (показан синим).

Белки вводятся в хлоропласт через **транслоконные** комплексы на внутренней и внешней мембранах (Tic и Toc).



После попадания внутрь хлоропласта первый маркер отщепляется протеазой, что открывает доступ ко второму сигналу, и белок из стромы хлоропласта переносится в тилакоид в рамках второго этапа транспортировки.

Второй этап требует работы специальных компонентов, ответственных за перенос белков

Белки интегрируются в тилакоидную мембрану через механизм распознавания сигнальных участков (**1**), через механизм диаргининовой транслокации (ДАТ) (**2**) либо через секреторный механизм (**3**), и высвобождаются за счет отщепления тилакоидного маркера.

Перенос и встраивание белков в тилакоидную мембрану происходит с затратами энергии. В качестве источника используется АТФ или градиент pH

Регуляция экспрессии ССК

В регуляции экспрессии ССК принимает участие значительное число генов. Уровни контроля экспрессии комплекса часто взаимообусловлены и взаимосвязаны.

Экспрессия комплекса зависит от **спектрального состава и интенсивности света**, температуры и режима биогенных элементов.

1. Комплементарная хроматическая адаптация у цианобактерий:

Зеленый свет → Улавливается преимущественно фикоэритрином – активация ФС2 → Экспрессия хлорофилл-белкового ССК ФС1

Красный или голубой → Улавливается преимущественно хлорофиллами – активация ФС1 → Экспрессия фикобилисом

Регуляция на уровне транскрипции - увеличение синтеза мРНК в ответ на изменение спектрального состава света. Ключевой участок – цитохромный комплекс b_6/f.

цитохромный комплекс:

восстановлен → возрастание транскрипции генов хл *a* и хл *b* (синтез хлорофилл-белкового ССК ФС1)

окислен → возрастание транскрипции генов фикобилипротеинов (синтез ССК ФС2)

Регуляция экспрессии ССК

1. Изменение уровня освещенности

Возрастание клеточного содержания пигмент-белковых комплексов при низкой освещенности и снижение пигментации - при высокой. Контроль на уровне транскрипции и пост-трансляции

Низкая освещенность

Высокая освещенность

Запускающий механизм - окислительно-восстановительный статус пластохинонов.

Пул пластохинонов:

блокирование транскрипции генов ССК ФС2 и ФС1

восстановлен

окислен

возрастание транскрипции генов ССК ФС2 и ФС1

Реакционные центры

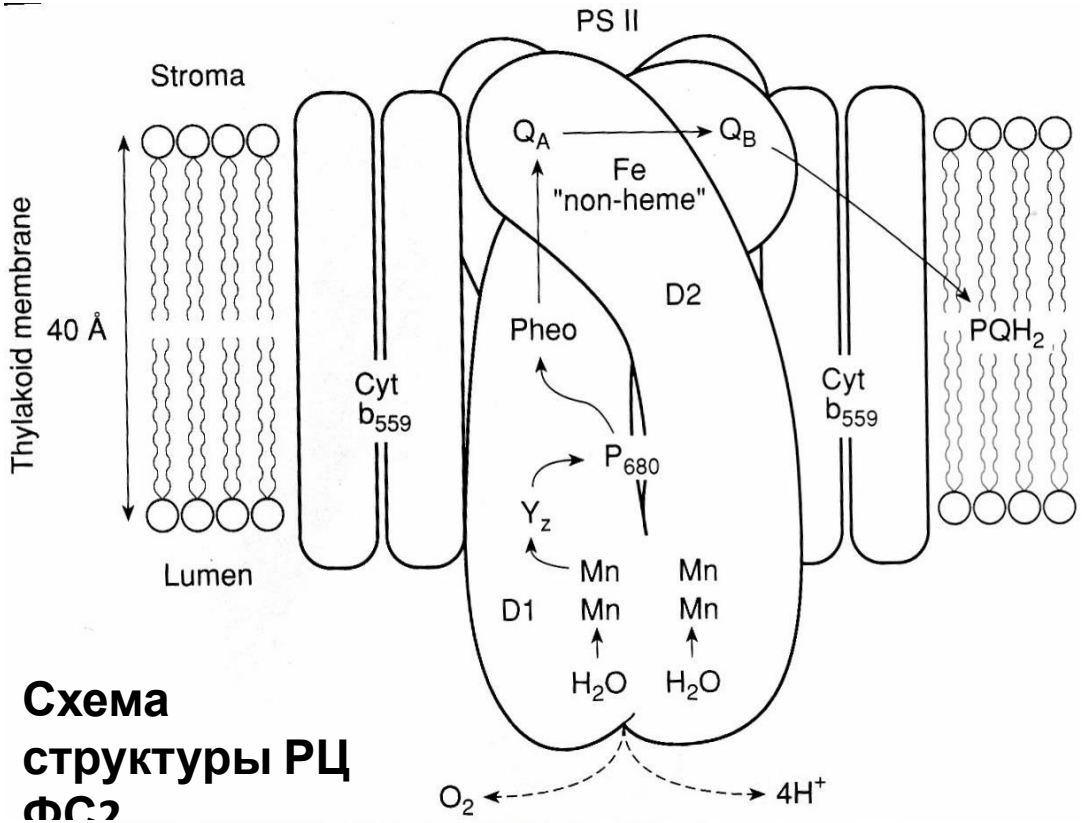
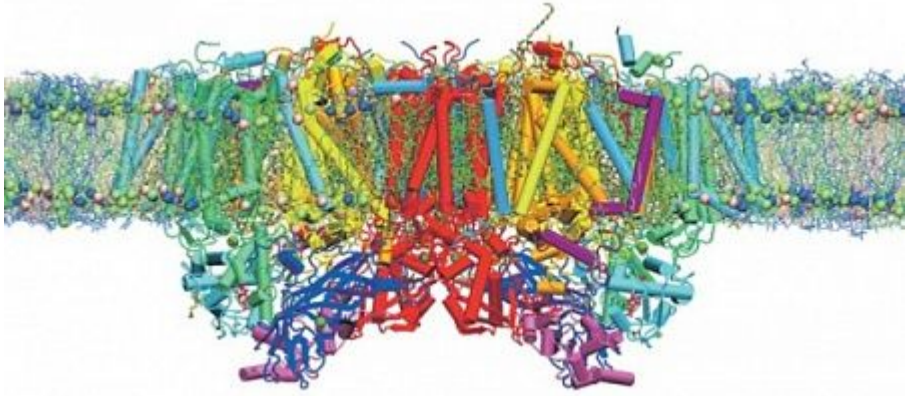


Схема структуры РЦ ФС2

РЦ ФС2

Состоит из двух основных **хлоропласт-кодируемых** белков D1 и D2, и цитохрома b559 (две субъединицы).

Белок D1 связывает большинство компонентов, принимающих участие в электронном транспорте ФС 2: Mn кластер, включенный в водоразлагающий комплекс; тирозин; хлорофилл P680; феофитин.



Высокая скорость оборота **D1** (у *Chlamydomonas* 30 мин). Фотоингибирование обусловлено в первую очередь тем, что скорость деградации D1 превышает скорость его синтеза.

Структура D1 **консервативна** - от цианобактерий до высших растений последовательность аминокислот совпадает примерно на 85%.

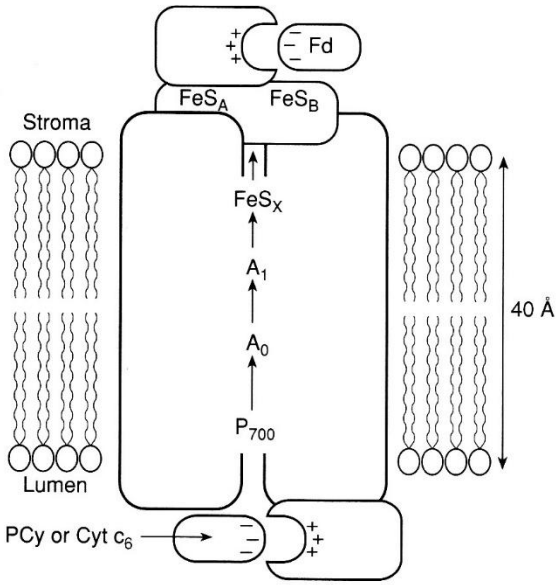
Консервативность структуры обусловлена консервативностью функций!

Хинон-связывающий участок - место связывания гербецидов, таких как диурон и атразин. Изменение хоть одной аминокислоты в структуре **D1** ведет к повышению устойчивости к гербицидам.

Белок **D2** - содержит связывающий участок для первичного акцептора Q_A, тиррозина и гистидинов. Скорость оборота высока, но ниже, чем скорость оборота **D1**. Последовательность аминокислот совпадает на 86% у цианобактерий и высших растений. Гомология между белками D_1 и D_2 - 28%. Белки **D1** и **D2** связаны атомом железа.

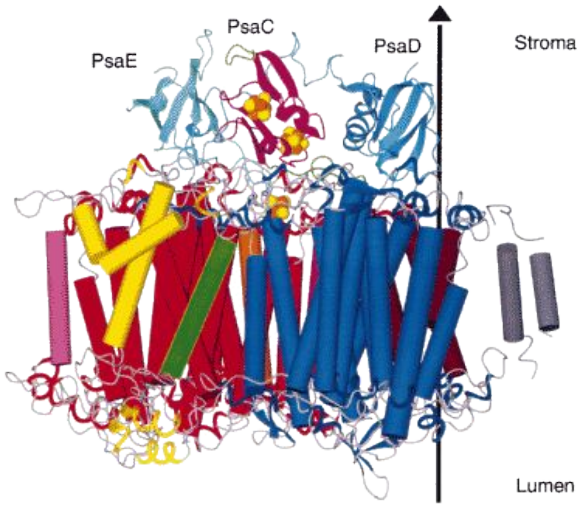
Цитохром b_{559} - хлоропласт-кодируемый, состоит из двух субъединиц, каждая с одним трансмембранным участком. Ингибирование или разрушений цитохрома ведет к накоплению белка **D2** - РЦ становятся функционально не активными.

РЦ ФС1



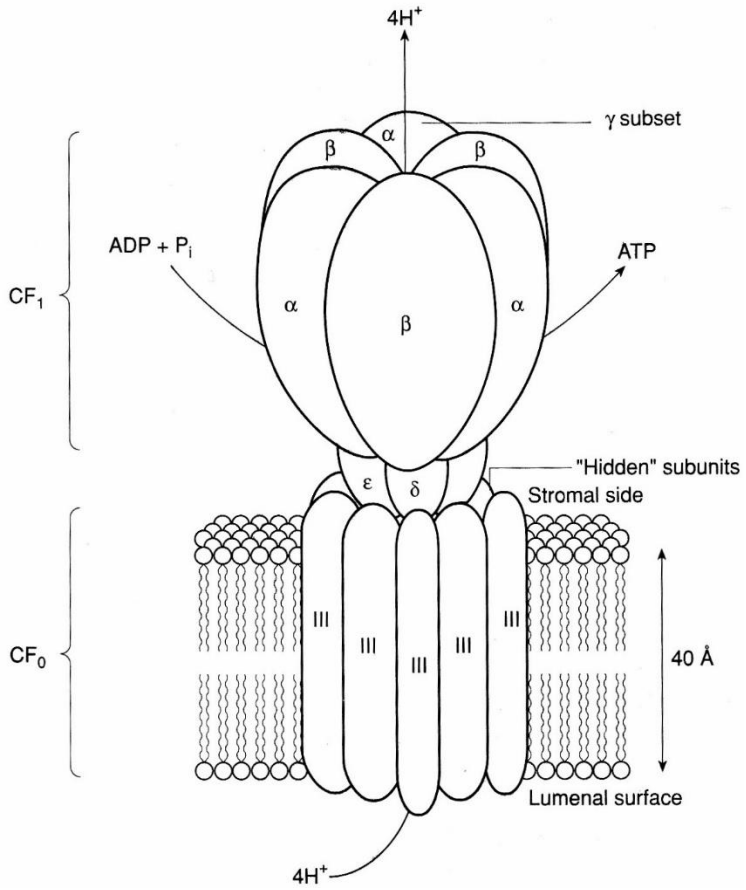
Основной компонент реакционного центра состоит из двух больших хлорофилл-содержащих белков, **кодируемых хлоропластными генами**. Два белка гидрофобны, имеют различную молекулярную массу, около 45% последовательностей аминокислот у них сходны.

Аналогично РЦ ФСII последовательность аминокислот в белках РЦ ФСI крайне консервативна – примерно 90% последовательностей одинаковы у цианобактерий и высших растений.



Комплекс РЦ ФС1 содержит около 100 молекул хл а, 12-15 молекул каротина, первичный донор электронов P700 (димер молекулы хл а), первичный акцептор электронов – Ао (модификация молекулы хл а), вторичный акцептор электронов A_1 (филлохинон) и третичный акцептор электронов — железо-серный комплекс (FeSx). Два других железо-серных комплекса (FeS_a и FeS_b), также являющихся акцепторами электронов, располагаются в белке с меньшей молекулярной массой, кодируемом геномом хлоропласта.

АТФ-синтазный комплекс

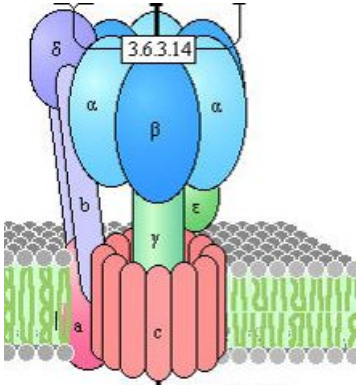


Состоит из двух компонентов: CF_1 и CF_0. Компонент CF_1 “торчит” в строму, т.е. окружен стромальной жидкостью, из которой связывает АДФ и неорганический фосфор. Имеет 5 субъединиц - **α, β, γ, δ** и **ε** в соотношении 3:3:1:1:1.

Компонент CF_0 внедрен в мембрану

CF_1 компонент взаимодействует с АТФ, АДФ и фосфатами, тогда как CF_0 компонент функционирует как канал протонов.

Комплекс может функционировать как для синтеза АТФ, так и для ее гидролиза.



У гетероконтовых и красных водорослей все субъединицы комплекса (кроме одной субъединицы компонента CF_1) **кодированы в хлоропластах.**

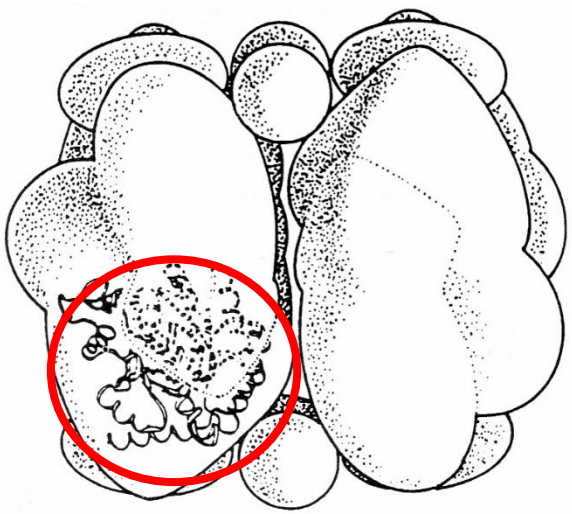
У эвгленовых **три** гена, кодирующих отдельные субъедицы комплекса, располагаются **в ядре**.

Регуляция экспрессии генов комплекса – иерархична, на многих уровнях. Основные запускающие факторы:

- электрохимический градиент через тилакоидные мембраны
- взаимообусловленное связывание АТФ, АДФ и фосфатов в CF_1.
- окислительно-восстановительный статус “цистеинового моста” субъединицы **γ** в CF_1 (при восстановленном состоянии экспрессия комплекса возрастает)

Ферредоксин восстанавливает небольшой белок тиоредоксин, а тот уже – субъединицу **γ**

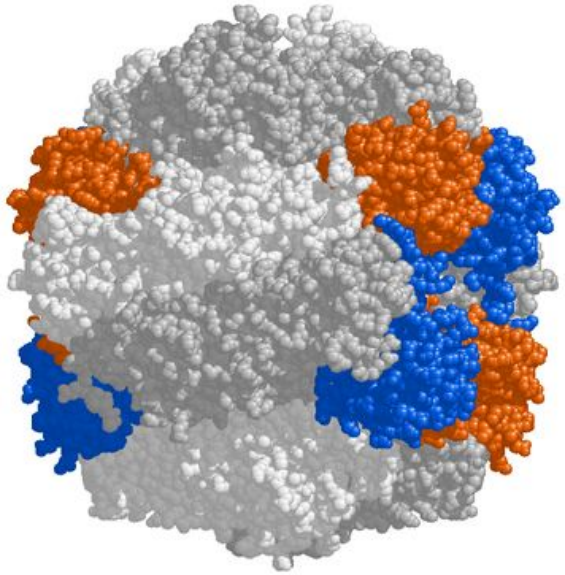
РуБФК/О



РуБФК/О – монофилетичный высоко консервативный фермент, существует в двух формах – I и II

Форма I (L_8S_8) состоит из 8 больших и 8 малых субъединиц , 4 димера больших субъединиц расположены по направлению 4-х осей и составляют стержень молекулы. По четыре малых субъединицы располагаются на каждом конце молекулы.

Форма II (L_2) состоит из 2 больших субъединиц – у динофлагеллят



Активные участки фермента располагаются на больших субъединицах, по одному на каждой – всего 8 активных участков в молекуле фермента.

РуБФК/О – может составлять до 25% от общего клеточного содержания белков

По тому, каким геномом кодируются субъединицы РуБФК/О, форму I делят на B и D группы (зеленый и красный тип фермента)

Form (subunit organisation)	Form I (L_8S_8)		Form II (L_2)
Origin	Cyanobacterial	β-Proteobacterium	α-Proteobacterium
Taxa	Form 1B (green type) Cyanobacteria Chlorophyta Chlorophyceaea Prasinophyceae Eugleophyceae	Form 1D (red type) Rhodophyta Cryptophyta Haptophyta Heterokonta Bacillariophyceae Chrysophyceaea	Dinophyta
Location of gene	Chloroplastic *rbc*L Nuclear *rbc*S	Chloroplastic *rbc*L Chloroplastic *rbc*S	Nuclear *rbc*L

Регуляция экспрессии генов фермента у водорослей и цианобактерий – на многих уровнях, зависит от обеспеченности CO_2 и биогенными элементами.

От освещенности, как правило, **НЕ зависит**

Примеры контроля экспрессии генов субъединиц РуБФК/О

У *Chlamydomonas* контроль синтеза большой субъединицы РуБФК идет на уровне транскрипции и трансляции;

У зеленых водорослей известна пост-трансляционная регуляция (отщепление сигнальной последовательности от малой субъединицы после поступления белка в хлоропласт);

У всех эукариот - **пост-трансляционная** модификация конфигурации молекулы. Добавление небольшой молекулы “структуро-формирующего” белка. Синтез самого “структуро-формирующего” белка в свою очередь регулируется такими факторами среды как температура и свет.

Общая закономерность (с массой исключений!):
Синтез компонентов, вовлеченных в процессы светоулавливания света и транспорт электронов регулируется светом, тогда как экспрессия генов, кодирующего ферменты цикла Кальвина от света не зависит.

Иными словами, интенсивность света гораздо чаще влияет на относительное содержание ССК и компонентов электрон-транспортной цепи, чем на количество ферментов, вовлеченных в процессы фиксации углерода.

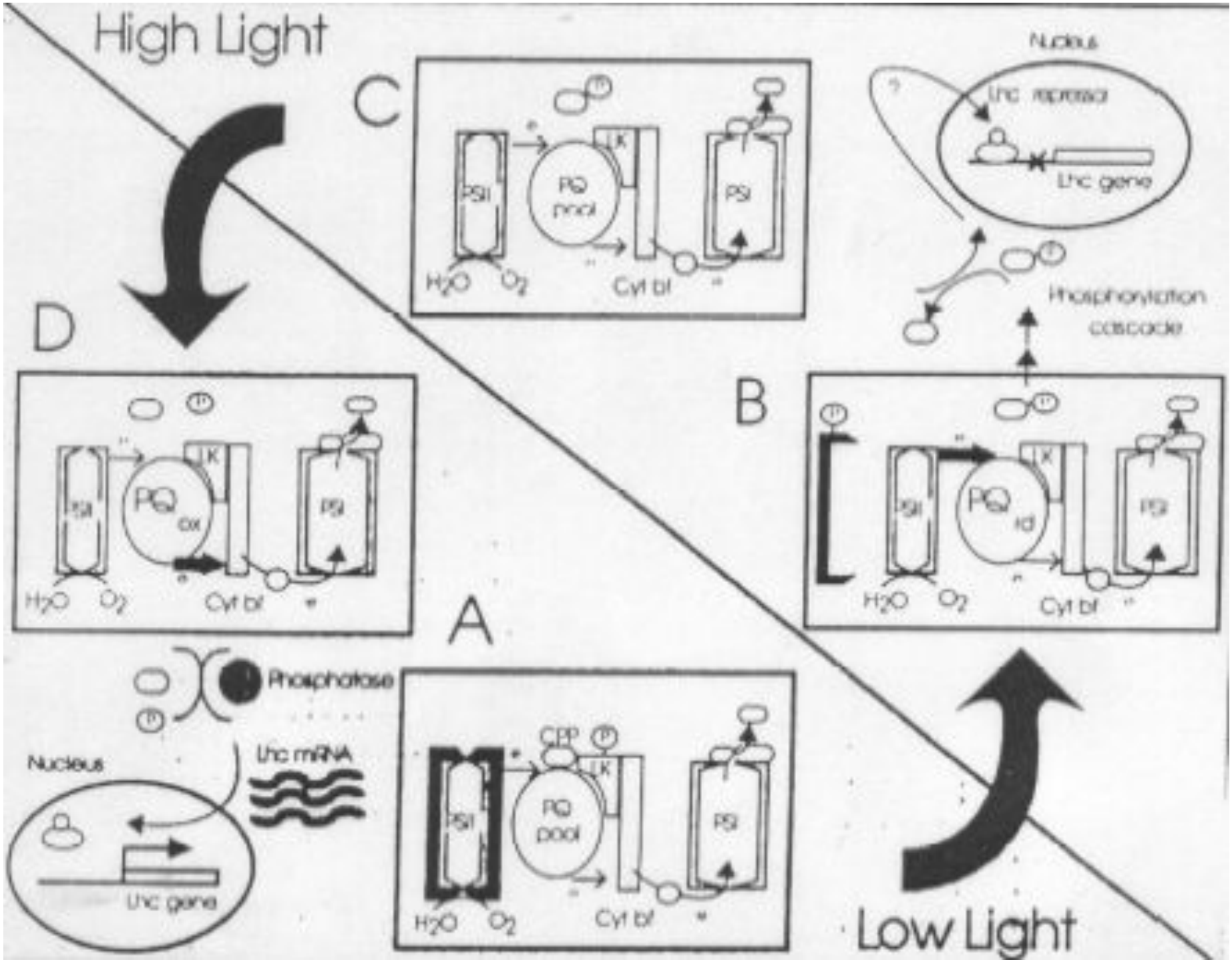
А как ядро «узнает», что необходима экспрессия/репрессия генов ССК?

Например, при высокой освещенности, когда уже НЕ нужна экспрессия ССК?

Передача сигнала из хлоропластов к ядру осуществляется посредством «пластидного» фактора – белка **CPP**, который после фосфорилирования диссоциирует из тилакоидной мембраны и далее из хлоропласта.

Пути дальнейшей передачи сигнала к ядру выяснены не конца. Известно, что участвует каскад реакций фосфорилирования, окончательный продукт которого выступает сигналом для **репрессии** гена, и соответственно снижению количества иРНК, несущих информацию о ССК ⇒ снижение (прекращение) синтеза компонентов СУК.

Снижение освещенности ⇒ окисление пластохинонного пула ⇒ активация фосфокиназ ⇒ снижение концентрации фосфопротеина CPP ⇒ прекращение репрессии генов СУК ⇒ увеличение количества иРНК


High Light
C
D
B
A
Low Light
Nucleus
Lhc repressor
Lhc gene
Phosphorylation cascade
PSII
PQ pool
PSI
H_2O
O_2
Cyt bf
LK
CBP
Phosphatase
Lhc mRNA
Nucleus
Lhc gene

ПРОЦЕССЫ АНАБОЛИЗМА В КЛЕТКАХ ВОДОРОСЛЕЙ.

ТЕМНОВОЕ ДЫХАНИЕ

Дыхание – это совокупность метаболических процессов, идущих с потребление кислорода и выделением CO_2: темновое дыхание и фотодыхание.

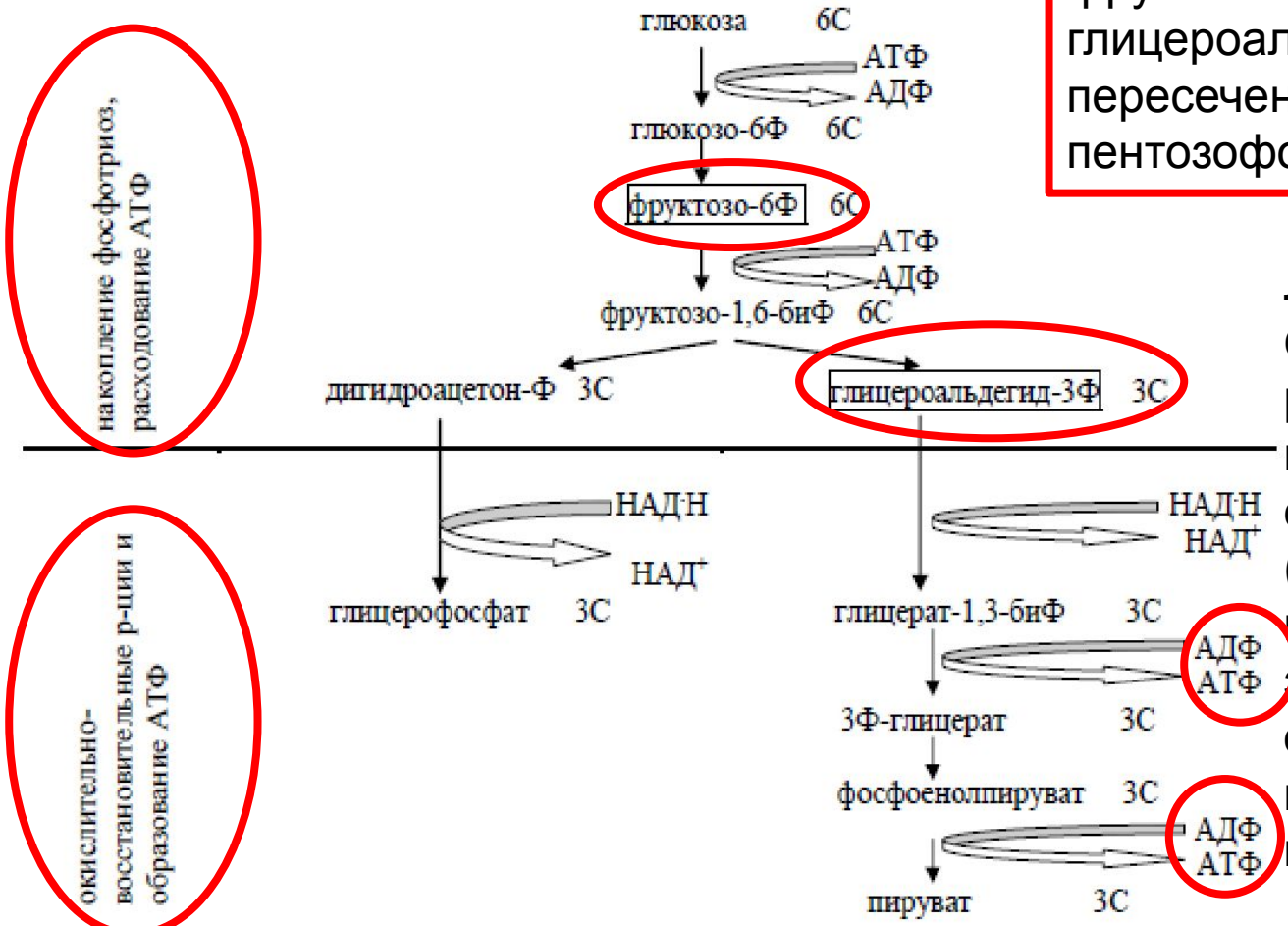
Темновое дыхание – независимое от света выделение CO_2.

Включает 4 основных компонента:

- гликолиз
- окислительный пентозофосфатный путь (пентозофосфатный шунт)
- цикл трикарбоновых кислот
- митохондриальный транспорт электронов (окислительное фосфорилирование)

Гликолиз (или путь Эмбдена-Мейергофа) – наиболее примитивный путь. Это анаэробное, не требующее кислорода, расщепление гексоз (глюкозы). Обнаружен у большинства прокариот и у всех эукариот.

Гексозы окисляются до пирувата

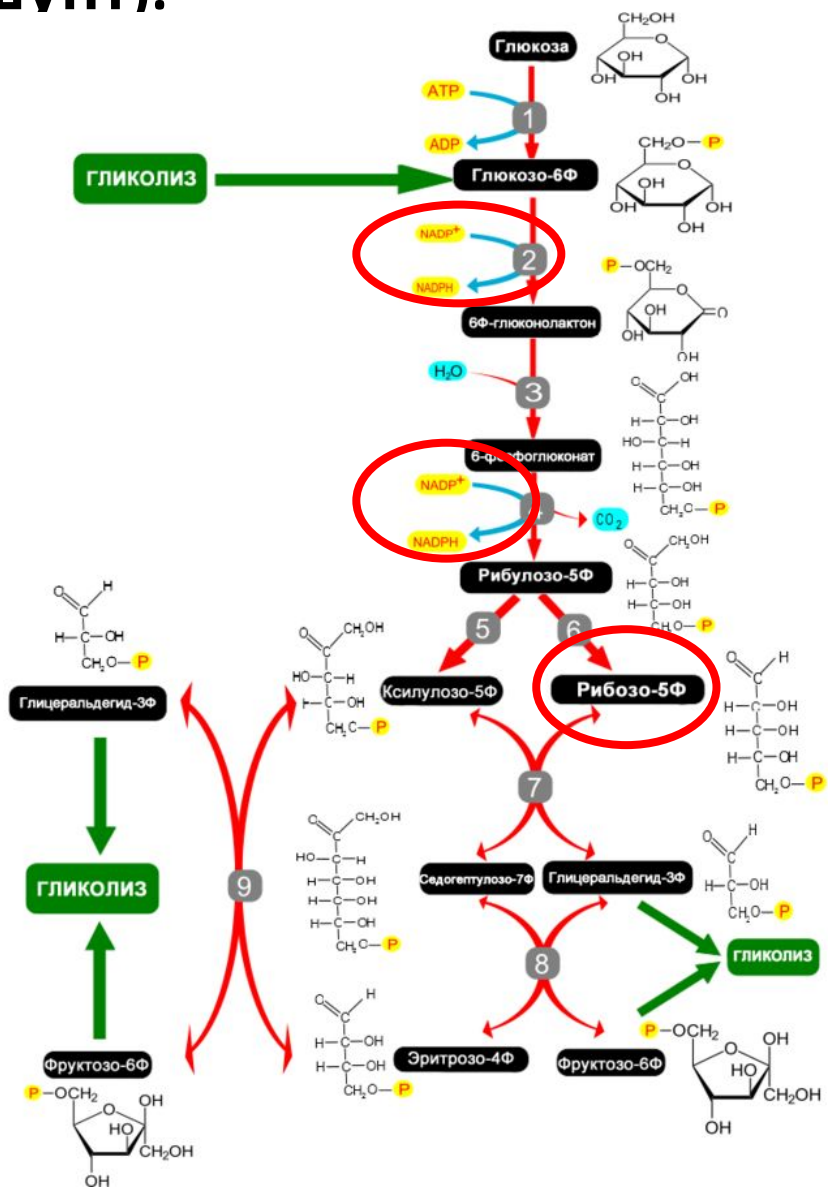


фруктозо-6Ф и глицероальдегид-3Ф - точки пересечения с пентозофосфатным шунтом

Локализация. У Chlorophyta – часть реакций в цитоплазме, часть – в строме хлоропластов (где протекают те или иные реакции - зависит от вида). Про остальных эукариот – практически не известно.

Основное назначение - образование субстратов для дальнейшего окисления (в пентозофосфатном шунте и цикле Кребса).

Окислительный пентозофосфатный путь (пентозофосфатный шунт, гексомонофосфатный шунт).



Основное назначение:

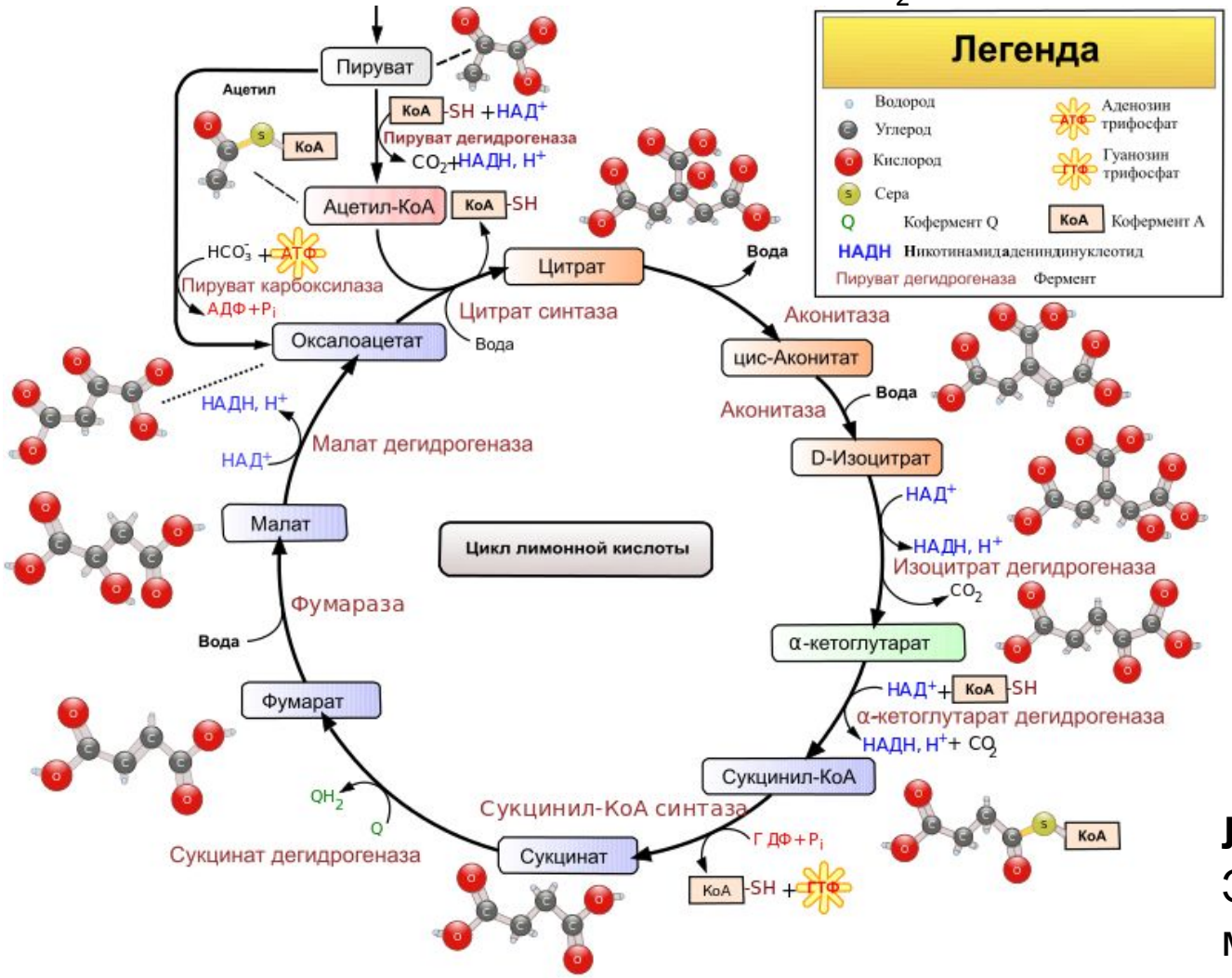
- Генерировать независимо от фотосинтеза восстановитель НАДФН.
- Образование пентоз, главным образом – D-рибозы, для синтеза нуклеиновых кислот.

ПФШ может заканчиваться реакцией образования Д-рибозы;
либо включать еще ряд реакций, которые пересекаются с гликолизом. В итоге, ПФШ и гидролиз обеспечивают обратимые взаимопревращения 3-, 4-, 5-, 6- и 7-углеродных сахаров путем переноса 2- или 3-углеродных фрагментов.

Локализация. У Chlorophyta – полная последовательность реакций как в цитоплазме, так и в строме хлоропластов.
У других эукариот – только в

Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) и окислительное фосфорилирование

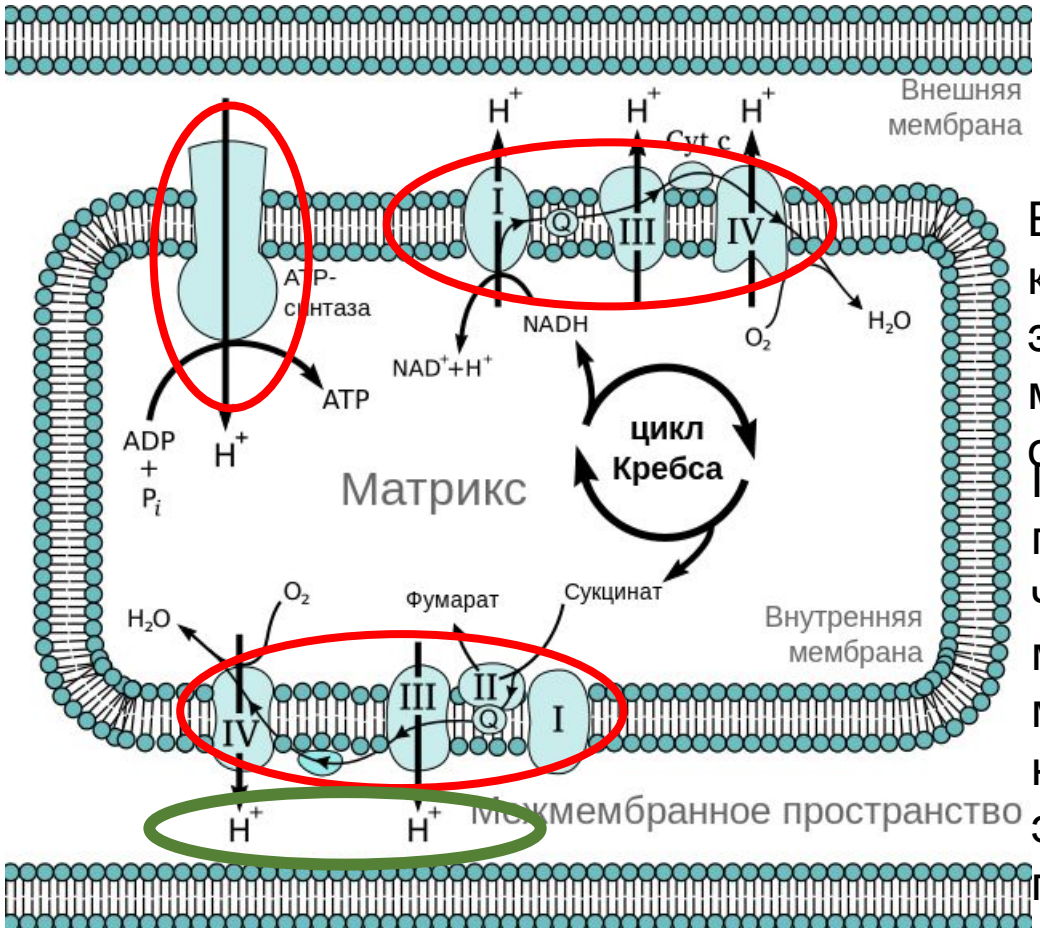
Пируват, образованный в результате гликолиза, окисляется до CO_2 в цепи последовательных реакций, в которых происходит расщепление одной ацетильной группы с высвобождением CO_2 и протона, который идет на



Основное назначение ЦТК: образование углеродных скелетов (промежуточные продукты) для синтеза аминокислот, жиров, тетрапиролов и для др. процессов.

Локализация. Эукариоты - матрикс митохондрий

Митохондриальный транспорт электронов и окислительное фосфорилирование



Перенос электронов от доноров к акцепторам в ходе окислительно-восстановительных реакций – электронтранспортная цепь.

В состав ЭТЦ входит пять белковых комплексов. В конечном итоге электрон идет на восстановление молекулярного кислорода с образованием воды.

При движении электронов по ЭТЦ происходит на транспорт протонов через внутреннюю митохондриальную мембрану в межмембранное пространство - накапливается потенциальная энергия (в виде протонного градиента и электрического потенциала).

Энергия высвобождается при возвращении протонов обратно в митохондриальный матрикс через АТФ-синтазу и используется для синтеза АТФ из АДФ (фосфорилирование). Фосфорилирование запускается потоком протонов, которые вызывают вращение части АТФ-синтазы; которая работает как вращающийся молекулярный мотор.

Альтернативный путь митохондриального транспорта электронов

Перенос электронов с комплекса II непосредственно на кислород. При этом по сравнению с полным путем транспорта образуется **меньше** АТФ

Значение альтернативного пути: рассеивание избыточной энергии путем потока электронов без образования АТФ. При этом количество промежуточных продуктов ЦТК не изменяется

В ситуациях, когда высокая освещенность генерируется много фотосинтетической АТФ, гликолиз может подавляться. Соответственно, образуется недостаточное для функционирования ЦТК количество пирувата, что приведет к снижению количества промежуточных продуктов ЦТК и ПФШ, необходимых для синтеза клеточных веществ. Альтернативный путь митохондриального электронного транспорта снизит количество АТФ в цитоплазме, что приведет к восстановлению гликоза

Анаплеротические реакции

Норма: концентрация промежуточных соединений цикла трикарбоновых кислот поддерживается постоянной. Т.е. реакции, за счет которых промежуточные продукты удаляются из цикла и поступают в цикл, уравновешивают друг друга (состояние динамического равновесия).

В ряде случаев возникает повышенная потребность в некоторых промежуточных продуктах ЦТК, и они интенсивно изымаются из цикла. Например, при ассимиляции нитратов интенсивно изымаются **2-оксоглютарат и оксалоацетат**. Для поддержания необходимой их концентрации включаются анаплеротические реакции (β-карбоксилирование) - присоединение CO_2 или HCO_3^- к трехуглеродным компонентам. Например:

пируват или фосфоенолпируват + CO_2 или HCO_3^- $\rightarrow$ оксалоацетат

2-оксоглютарат – для синтеза аминокислоты глютамата.
Глютамат – источник углеродных скелетов и α-аминогруппы для многих оксокислот (таких как аргинин, пролин, гидроксипролин); а также для синтеза хлоринов и порфиринов

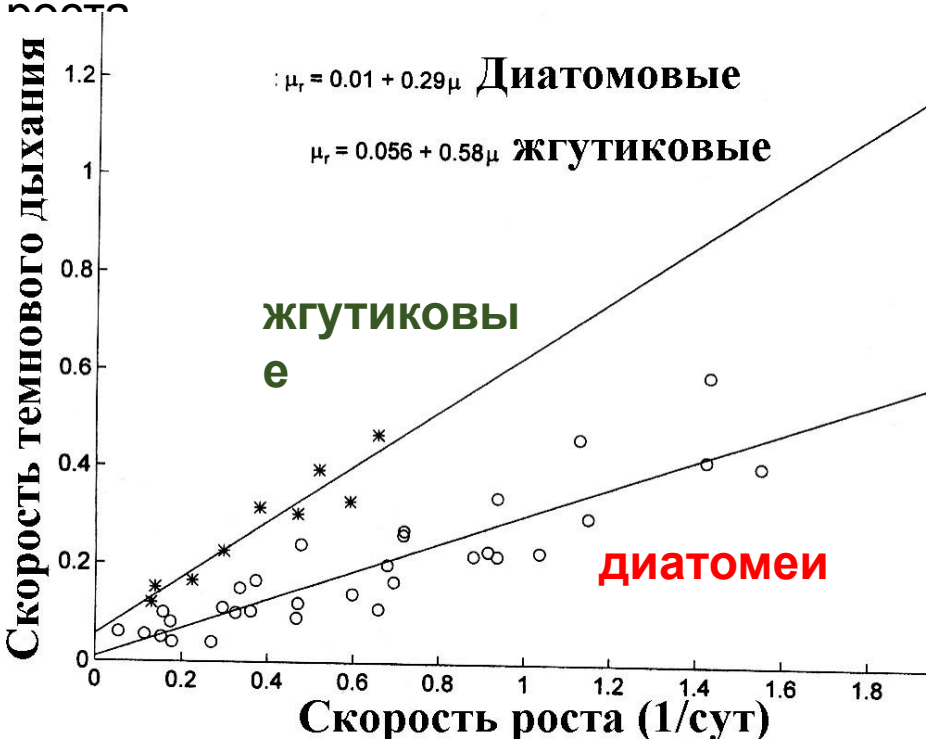
Оксалоацетат - для синтеза аспартата и всего аспартатного семейства аминокислот (тионин, изолейцин, метионин и лизин).

Анаплеротические реакции идут за счет энергии АТФ, могут протекать в темноте, составляют около 5% от углерода, фиксированного водорослями.

Взаимосвязь скорости дыхания и скорости роста

Дыхание обеспечивает клетки не только восстановителем и энергией в виде АТФ, но и углеродными скелетами, необходимыми для процессов синтеза, а соответственно и клеточного роста.

Удельная скорость дыхания прямо пропорциональна удельной скорости роста



Значение в точке пересечения с осью *y* – ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЕ дыхание. Соответствует минимальному окислительному метаболизму, необходимому для поддержания жизнедеятельности клеток при нулевой скорости роста.

Включает: процессы восстановления поврежденных белков (оборот белков), оборот нуклеиновых кислот, восстановления растворов. Эти процессы идут в клетках водорослей независимо от того, делятся они или нет.

Скорость поддерживающего дыхания различна у отдельных видов. В среднем, на ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЕ дыхание идет около 1% клеточного углерода в сутки (при 25^{o}C).

Зависимость дыхания от размеров клеток водорослей

Зависимость дыхания от размеров тела показана для разнообразных гетеротрофных организмов и описывается **аллометрической** зависимостью (нарушающей пропорции)

$$R = a W^{(b)},$$

где R – **удельная** скорость дыхания на единицу биомассы, W – размер или масса организма, a и b – коэффициенты.

a – константа, характерная для конкретной (рассматриваемой) группы организмов.

b - ~ 0,75 (или ¾) → «закон Кляйбера» или «правило 3/4».

В расчете на единицу веса интенсивность метаболизма организмов снижается по мере увеличения массы тела

Закон справедлив и для фотоавтотрофных водорослей

a – изменяется в пределах 0,2 – 0,4.

b - ~ 0,75 (или ¾), и довольно постоянно для фитопланктона в диапазоне W, различающихся на несколько порядков;

Биологическая основа эмпирически выявленной закономерности не совсем ясна.

Полагают, что основное значение имеет соотношение активности митохондрий к клеточному объему. Поскольку объем цитоплазмы и суммарная поверхность митохондрий изменяются непропорционально, более крупные клетки с меньшим соотношением поверхности к объему и меньшим относительным объемом митохондрий имеют меньшее относительное к объему дыхание по сравнению с более мелкими клетками.

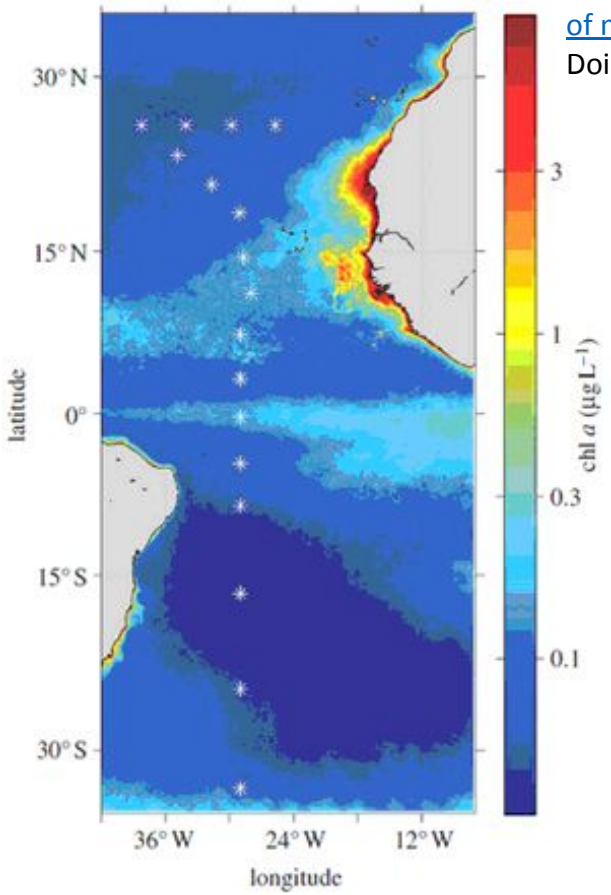
НО! Возможно, сегодняшнее представление о том, что в мире водорослей правило «¾» работает, будет **пересмотрено**.

Основания:

(1) Для растений также предполагалось, что соблюдается «правило 3/4». Однако в 2006 году с помощью тщательных наблюдений за дыханием растений в темноте было установлено, что показатель степени в уравнениях, связывающих массу растения и их дыхание, равен не 0.75, а 1.04 (значимо не от

Зависимость интенсивности дыхания растений от их массы оказалась не аллометрической, а изометрической (сохраняющей пропорции):
в расчете на единицу массы крупные и мелкие растения дышат одинаково.

(2) Оценка первичной продукции фитопланктона разных размерных классов в тропических и субтропических водах Атлантического океана



María Huete-Ortega, Pedro Cermeño, Alejandra Calvo-Díaz, Emilio Marañón. Isometric size-scaling of metabolic rate and the size abundance distribution of phytoplankton // *Proc. R. Soc. B*. 2011. Doi: 10.1098/rspb.2011.2257.

Показатель степени *b* в уравнении, представляющем продукцию планктонных водорослей как функцию их размера (объема), оказался равным не 0.75, а варьировал от 1.03 до 1.32 (среднее значение 1.16).

Показатель, равный единице, указывает на то, что скорость продуцирования в расчете на единицу массы для мелких и крупных водорослей одна и та же (как в случае дыхания наземных растений).

Если же показатель достоверно больше единицы, это значит, что более крупные одноклеточные водоросли в расчете на единицу массы характеризуются несколько большей величиной продукции (а соответственно, и метаболической активностью), чем мелкие.

Предполагают, что у крупных одноклеточных планктонных водорослей в ходе эволюции выработались особенности строения и физиологии, направленные на преодоление тех ограничений, которые накладывает большой размер клетки.

ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФОТОСИНТЕЗА ОТ ОСВЕЩЕННОСТИ

субстрат

продукт

$$2H_2O + CO_2 + hv = (CH_2O) + H_2O + O_2$$

Квантовый выход фотосинтеза

φ= моль продукта (моль субстрата) / моль поглощенных hv

φ_{max} – наибольшее количество продукта (субстрата) при наименьшем количестве поглощенных фотонов

Еще несколько важных моментов….

Фосфорилирование и дефосфорилирование белков

Фосфорилирование – включение в молекулу белка остатка фосфорной кислоты ($H_2PO_3^-$). Ферментируется киназами (фосфотрансферазами). Дефосфорилирование – отщепление $H_2PO_3^-$, ферментируется фосфатазами. Фосфорилирование идет на участках расположения таких аминокислот как серин, тионин и гистидин.

Фосфорилирование – АТФ-зависимый процесс, идет с расходованием АТФ.

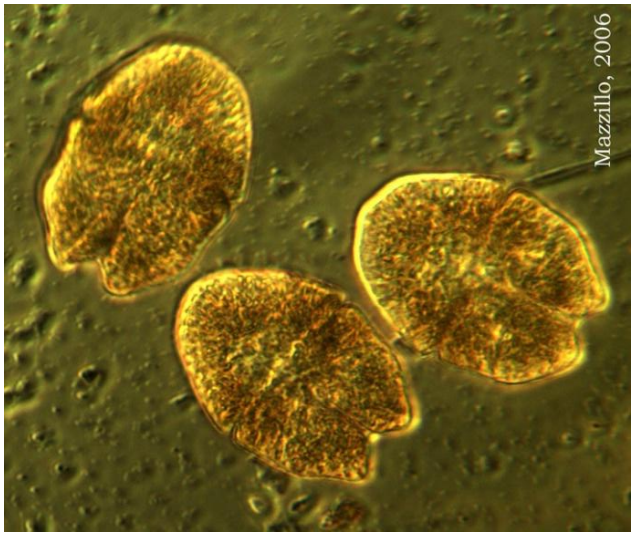
Фосфорилирование существенно меняет свойства белков. В результате белок становится способным распознать, связать, активировать, деактивировать, фосфорилировать или дефосфорилировать свои субстраты**. Таким образом, фосфорилирование может включать и выключать ферменты и белки.** Дефосфорилирование возвращает белки обратно в состояние покоя. Существует ряд белков, которые фосфорилированы в состоянии покоя, а в активное состояние переходят после процесса дефосфорилирования.

Функциональная способность большинства тилакоидных белков, включая **белки светособирающих комплексов, белки D_1 и D_2 РЦ ФС2** регулируется через фосфорилирование. Процесс фосфорилирования определяется, как правило, окислительно-восстановительным статусом пула пластохинонов

Многие другие белки, такие как **нитратредуктаза и ферменты цикла Кальвина** также могут быть фосфорилированы. Фосфорилирование ведет к переключению специфической активности фермента и изменению его сродства к местам связывания субстрата.

Токсины микроводорослей обладают высокой способностью ингибировать фосфатазы в цитоплазме или ядре (но не в хлоропластах):

Окадиновая кислота – жирорастворимый белковый ингибитор фосфатаз, вырабатываемый некоторыми динофлагеллятами. Накапливаются в моллюсках, вызывают желудочные отравления у людей (diarrhetic shellfish



Микроцистин - водорастворимый белковый ингибитор фосфатаз, вырабатываемый цианобактериями рода *Microcystis*.

ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФОТОСИНТЕЗА ОТ ОСВЕЩЕННОСТИ

Уровни реагирования водорослей на изменение освещенности:

I. На этапе улавливания световой энергии

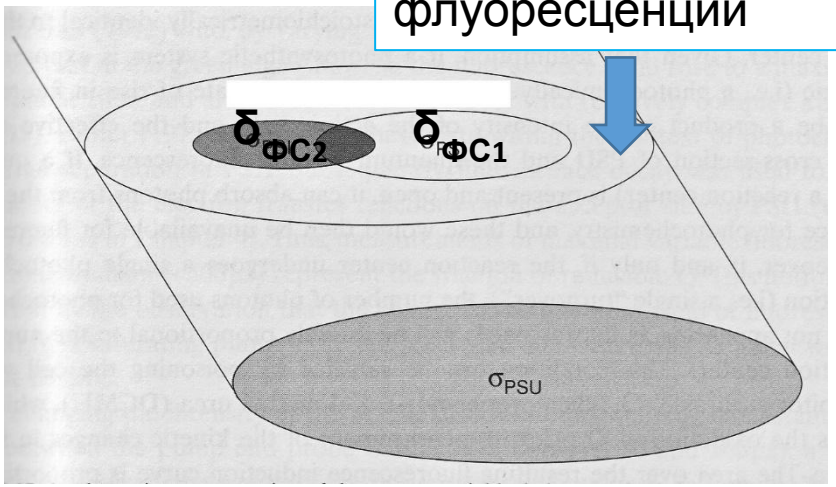
(а) изменение способности улавливать световую энергию (размер антенны - количество молекул в ССК)
(б) вероятность ее использования в фотохимических реакциях в РЦ ФС (**δ**);
δ - функциональный размер антенны (эффективное поглощающее сечение - effective absorption cross-section)

$\delta_{ФС2}$ $\delta_{ФС1}$

ФС2 + ФС1 → фотосинтетическая единица

Способы изменения **δ** - варьирование концентрации каротиноидов (поглощают энергию, но не передают ее на хл *a*), фосфорилирование-дефосфорилирование белков ССК.

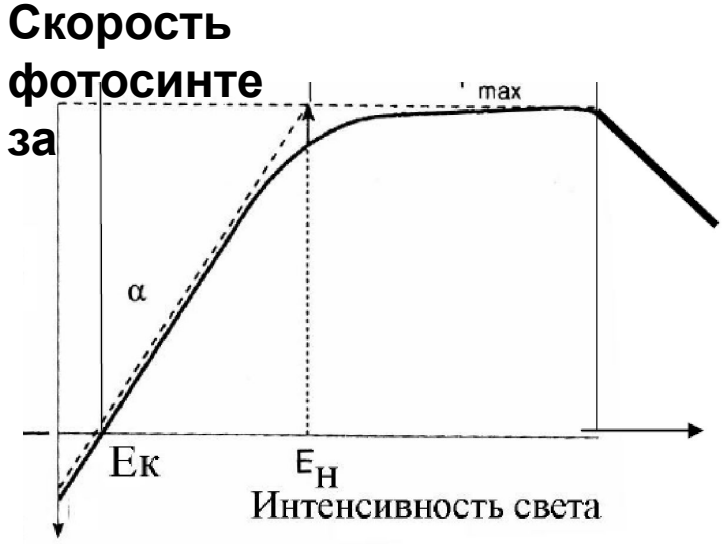
Потери в виде тепла и флуоресценции

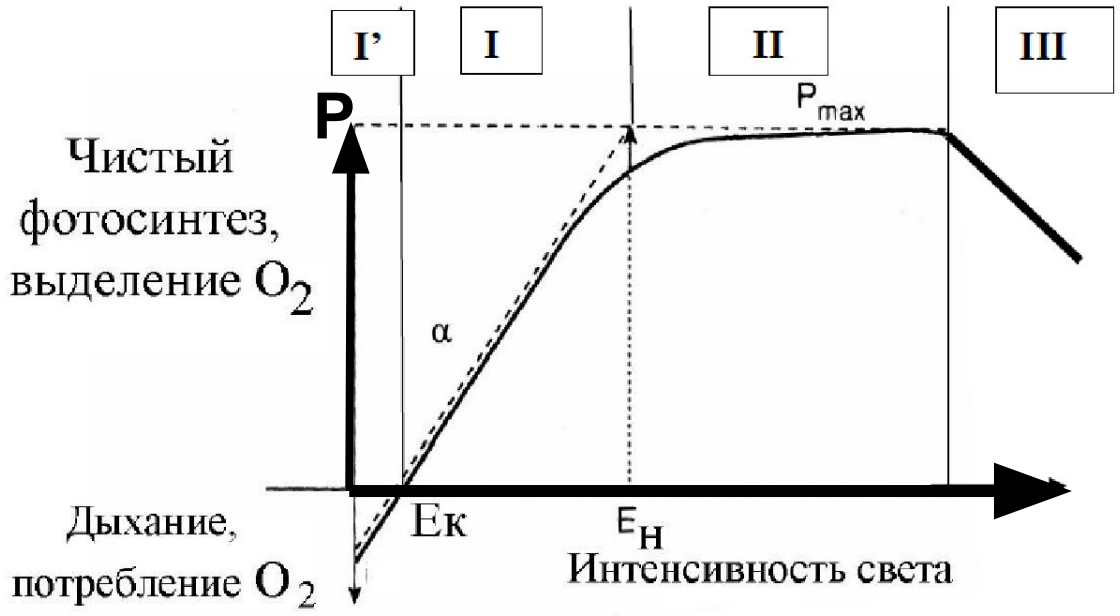


II. На этапе перевода солнечной энергии в энергию химических связей: изменение количества РЦ ФС и компонентов электрон-транспортной цепи (т.е. числа фотосинтетических единиц), а также их реакционной способности

III. На этапе фиксирования CO_2: изменение активности и концентрации ферментов цикла Кальвина-Бенсона (ферменты групп 1 и 2)

Измеряя скорость фотосинтеза при различных уровнях <u>постоянной</u> освещенности (энергии падающего света, моль квантов/ ($м^2$ с)) получают P/E кривые.





I Светолимитированный участок

I' – потребление O_2 (дыхание) превышает его выделение в процессе фотосинтеза – отрицательный баланс O_2. Компенсационная освещенность (Ек) → фотосинтез = дыханию.

I – выделение **O_2** прямо пропорционально освещенности, **P=αE**. Коэффициент пропорциональности (наклон кривой) - α.

При нормировании на единицу биомассы, выраженную в единицах хлорофилла -

α^B (моль O_2 (или моль CO_2) на единицу хл / <u>квант</u> на единицу площади)

В ситуациях, когда практически весь падающей свет поглощается (листья высших растений, пластины макрофитов, плотные суспензии водорослей) α^{B} пропорционален максимальному квантовому выходу фотосинтеза.

Если значительная часть падающего света рассеивается (плотность клеток водорослей невелика, природные концентрации фитопланктона) α^{B} пропорционален эффективному поглощающему сечению $\delta_{ФС2}$ и числу фотосинтетических единиц **n**:

$$\alpha^{B} = n \ \delta_{ФС2}$$

При низкой освещенности в любой момент времени большинство РЦ - открыты (способны к поглощению фотона).

Минимальная интенсивность света, при которой возможен фотосинтез - примерно 0.02% максимальной (в полдень) солнечной радиации на планете Земля. Некоторые красные водоросли способны к фотосинтезу при такой низкой освещенности.

II Нелимитированный светом (светонасыщенный) фотосинтез

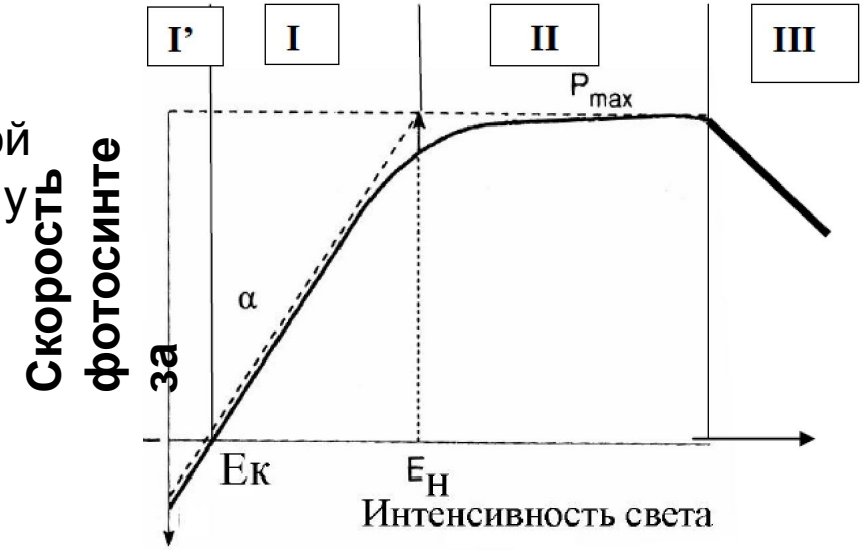
С увеличением интенсивности света скорость фотосинтеза возрастает сначала линейно, затем нелинейно, а затем при насыщающей освещенности (Ен) выходит на максимальный уровень – Pmax (O_2 выделенный или CO_2 фиксированный на единицу хл /в единицу времени)

$$P^{B}_{max} = n\ (1/т)$$

Где **1/т** - максимальная скорость, с которой электроны передаются от воды к конечному акцептору - CO_2 (= скорость оборота фотосинтетических единиц) ФЕ.

т - время оборота ФЕ.

P_{max} от $\delta_{ФЕ}$ не зависит!



Исходя из P/E кривой: **Ен= P_{max}/ α**

С учетом уравнений для P_{max} и α: **Ен=1/($\delta_{ФС2}$ т)**

Таким образом, Ен - обратно пропорциональна **$\delta_{ФС2}$** и **т**

$\delta_{ФС2}$ и **т** зависят от длины волны падающего света, соответственно, Ен зависит от длины волны.

При насыщающей интенсивности света скорость поглощения фотонов превышает скорость транспорта электронов от воды к CO_2.

Ен – оптимальная освещенность для фотосинтеза, при ней достигается максимальный квантовый выход фотосинтеза (но не всегда!)

$E_i < Ен$

скорость поглощения фотонов меньше, чем скорость оборота ФЕ (1/т), $P_i < P_{max}$
квантовый выход фотосинтеза выше, чем при $E_i > Ен$,

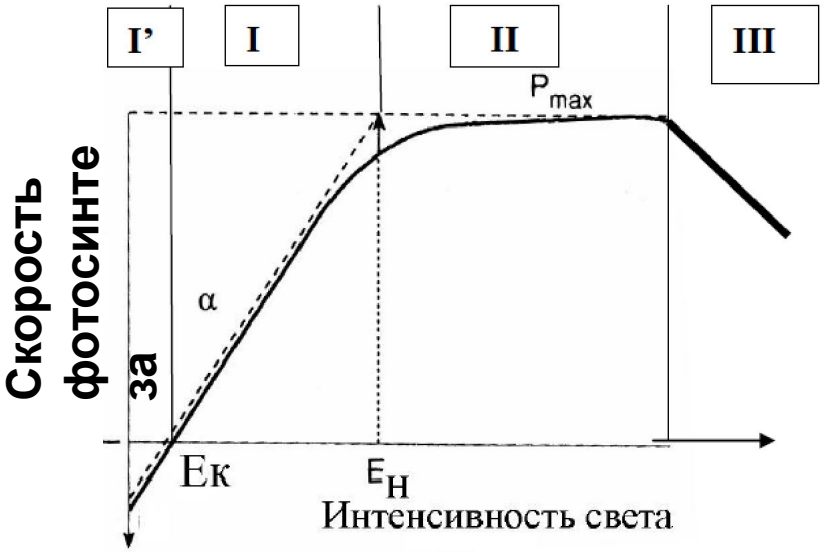
$E_i > Ен$

скорость поглощения фотонов превосходит скорость оборота ФЕ, квантовый выход снижается, $P_i = P_{max}$,

СУПРАОПТИМАЛЬНАЯ ОСВЕЩЕННОСТЬ

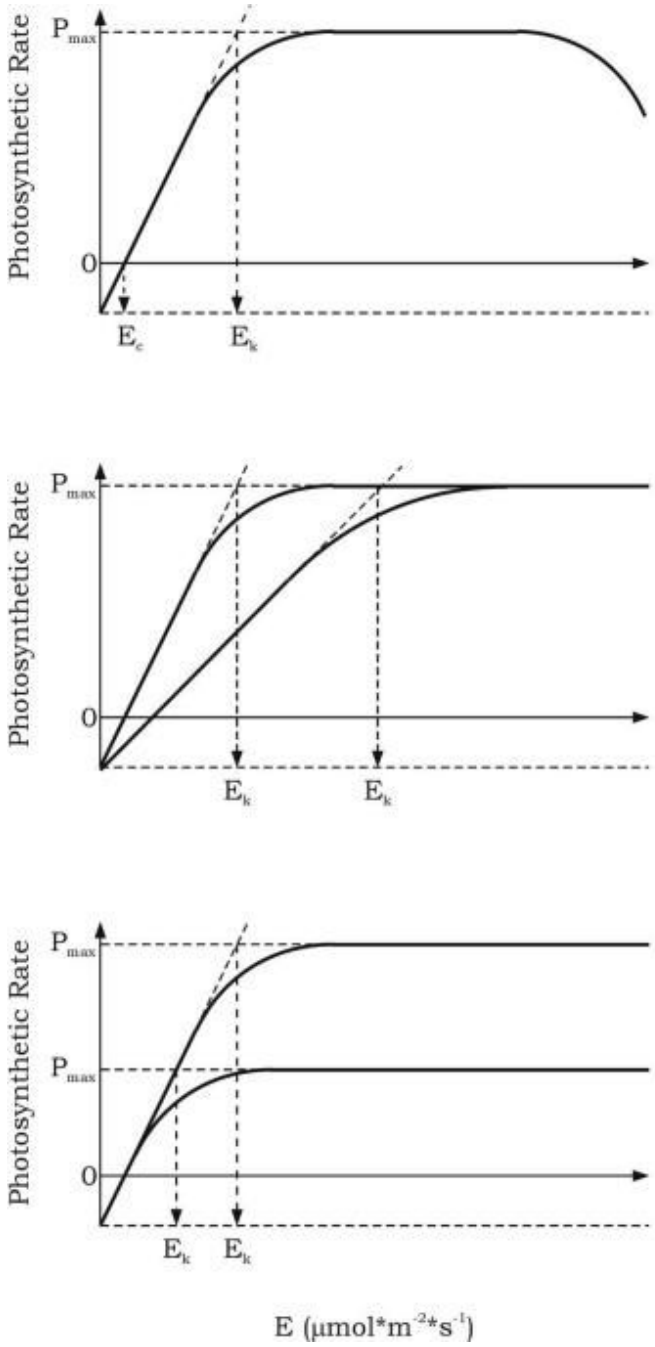
Повышение интенсивности света выше насыщающего уровня может приводить к снижению скорости фотосинтеза по сравнению с максимумом (участок III).

Это снижение, зависящее как от интенсивности света, так и от продолжительности периода воздействия света с такой интенсивностью, называется **фотоингибированием**.



Фотоингибирование (снижение P^B) может быть обусловлено как уменьшением количества фотосинтетических единиц, так и увеличением времени их оборота.

Уменьшения количества функционально активных реакционных центров: Молекула $P680^*$ в возбужденном состоянии - один из самых сильных биологических окислителей. Под его воздействием могут образоваться свободные радикалы, способные окислять и разрушать компоненты РЦ



Водоросли различаются по фотосинтетическим параметрам

Наклон P/E кривой **(α)** и $\mathbf{E_к}$ – различаются при одинаковых значения $\mathbf{P^B_{max}}$.

Значения $\mathbf{P^B_{max}}$ различаются при одинаковых **α** и $\mathbf{E_к}$

АДАПТАЦИЯ, АККЛИМАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ

Адаптация – результат отбора **изменений** в генотипе организмов (на уровне популяции).

Акклимация – изменения в составе макромолекул организма, которые в свою очередь являются результатом синтеза или деградации определенных компонентов - **эксперессия/репрессия** определенных генов, имеющихся в генотипе.

Регуляция – изменения в каталитической или энергетической эффективности определенных процессов. Изменения эффективности идут не за счет синтеза или деградации макромолекул, а обусловлены незначительной структурной модификацией макромолекул.

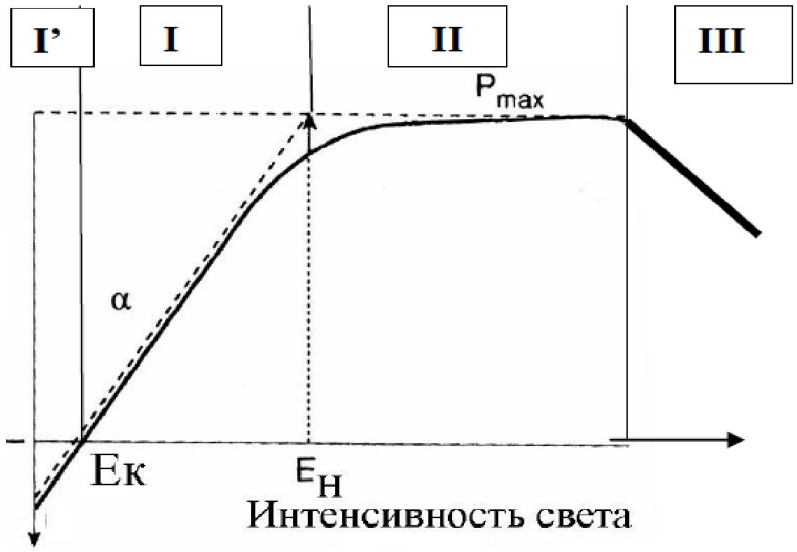
АККЛИМАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СВЕТОВОГО РЕЖИМА

Акклимация и регуляция ФА направлены на **установление** и **поддержание баланса** между количеством энергии возбуждения, поступающей из антенны (уловленная энергия света – количество фотонов) и потребностью в электронах для биосинтеза и поддерживающего метаболизма.

Сопоставление потока уловленных фотонов и потребности в электронах – регуляторный индекс **ω**.

ω = количество энергии возбуждения/ потребность в электронах= $2\ A_{ФЭТ}/A_{h\nu}$

$A_{ФЭТ}$ - активность электрон транспортной цепи, мкмоль электрон/ (г С) сек;
$A_{h\nu}$ - удельная (на единицу углерода) скорость абсорбции света, мкмоль фотон/(г С) сек;
2 – коэффициент, учитывающий, что для прохождения 1 электрона по электрон транспортной цепи требуется поглощение 2 фотонов.



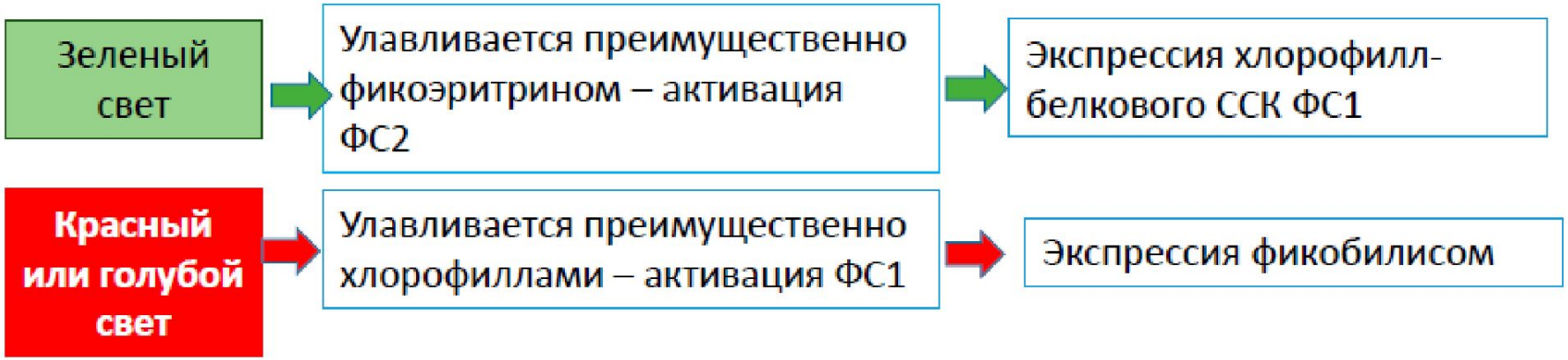
На основе регуляторного индекса P/E кривую можно рассматривать следующим образом:

I. Светолимитированный участок. **ω < 1** (уловленная энергия меньше потребности в электронах).
II. Насыщающая интенсивность света Ен. **ω = 1.**
III. Светонасыщающий участок. **ω > 1**
IV. Ингибирование. **ω >> 1.**

АККЛИМАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА

Пример акклимации?

1. Комплементарная хроматическая адаптация у цианобактерий:



Временной масштаб - часы

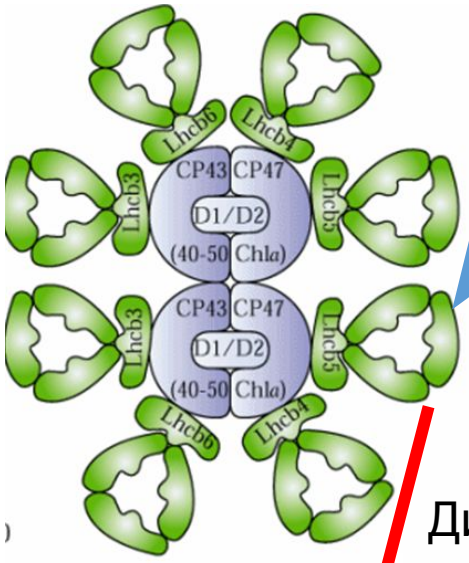
Регуляция. Изменение равновесного состояния (STATE TRANSITION) у зеленых

Изменение равновесного состояния у зеленых водорослей

Преобладание голубого света – преимущественная активация ФС2

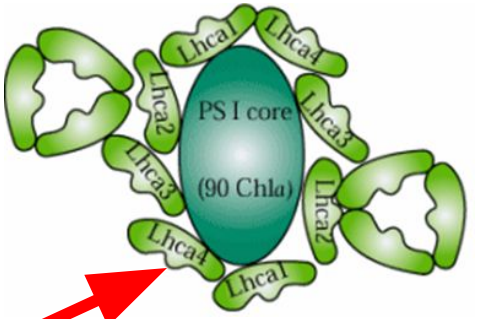
Накопление пула восстановленных пластохинонов

Активация киназы фосфорилирование тримера



Фотосистема II

Диссоциация тримера от ССК ФС2

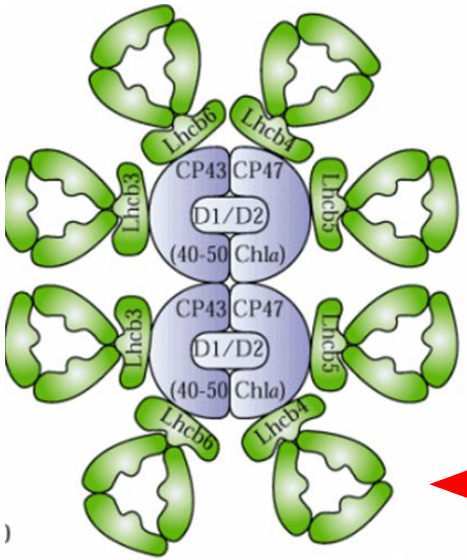


Присоединение тримера к ССК ФС1

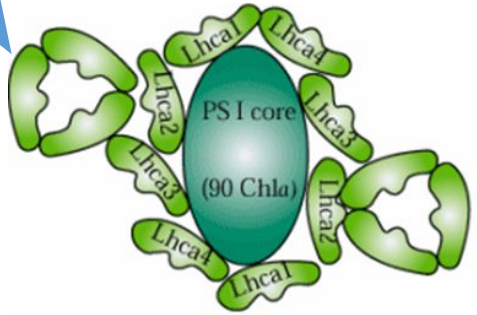
Преобладание красного света – преимущественная активация ФС1

Накопление пула окисленных пластохинонов

Активация фосфатаз-дефосфорилирование тримера



Фотосистема II



Диссоциация тримера от ССК ФС1

Взаимосвязанное изменение улавливающей способности антенн фотосистем может составлять 10-20%. Временной масштаб - минуты

АККЛИМАЦИЯ И РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТА

E_0 - оптимальные **δ** и число фотосинтетических единиц, **ω**

$E_i < E_0$ (=1) ← → $E_i > E_0$

Задача: увеличить количество улавливаемой энергии и эффективность ее использования в РЦ ФС	Задача: уменьшить количество энергии, поступающей в РЦ ФС	
Регуляция: 1. Дефосфорилирование хл-белков СУК - повышение δ при постоянном размере антенны.	**Регуляция**: 1.Фосфорилирование хл-белков СУК - снижение δ при постоянном размере антенны. 2.Нефотохимическое тушение в ксантофильном цикле	минуты
2. Фотоакклимация	3. Фотоакклимация	часы-сутки
2.1.Увеличение размера антенны 2.2. Увеличение количества ФЕ	3.1. Снижение δ - увеличение содержания каротиноидов 3.2. Уменьшение размера антенны 3.3. Уменьшение	экспрес-сия и репресси я генома

Контрольная работа: Зависимость фотосинтеза от интенсивности света. Дыхание фитопланктона.

Для ответа на экзаменационный вопрос: Зависимость фотосинтеза от интенсивности света и концентрации биогенных элементов. Дыхание фитопланктона. Чистый и валовый фотосинтез.

Спасибо за внимание!