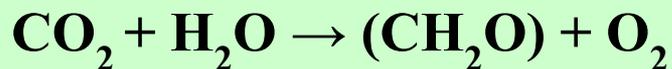


Фотосинтез: что делать, когда всё, что можно, уже окислилось?

а/ умереть от отсутствия энергии

б/ найти способ «регенерации» восстановленных соединений :



Для этого необходимо:

1. Найти «псевдонеиссякаемый» источник энергии (вспоминая первую лекцию – безотказного кредитора для безнадежной игры...)
2. Придумать систему трансформации этой энергии в энергию восстановленных соединений.

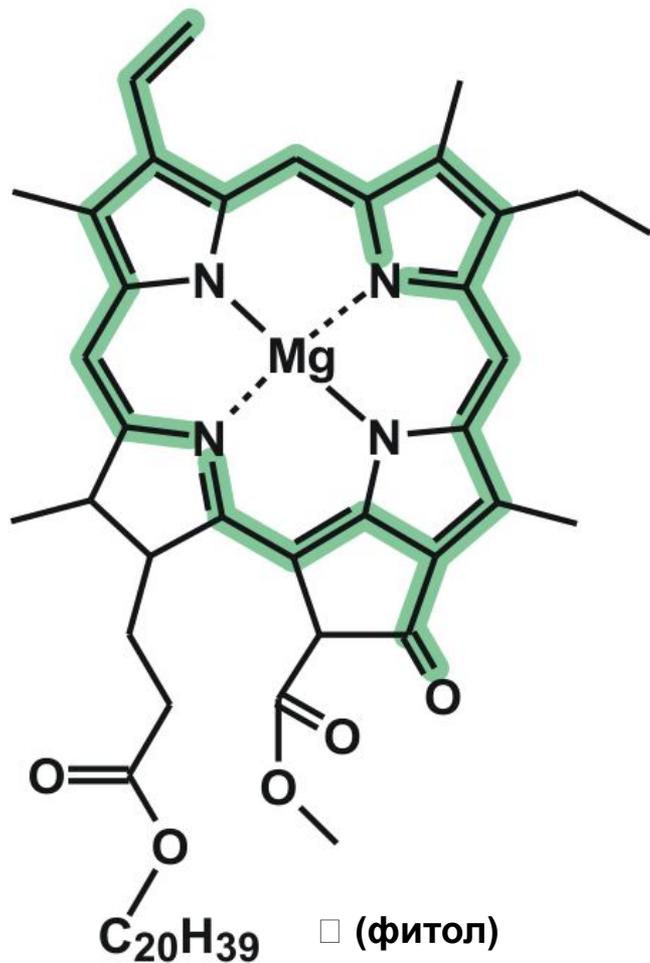
Псевдонеиссякаемый источник энергии на Земле – только энергия звезды по имени Солнце...

Таким образом, **основные задачи**:

- **поймать** энергию солнечных квантов
- **преобразовать** ее в энергию восстановленных соединений.



Хлорофилл: двуликий Янус Red-Ox реакций



Хлорофилл а

Хлорофиллов >10:

Хл. а, b, c₁, c₂, d, e;

Б-хл. а, b, c, d.

Единственная молекула которая может:

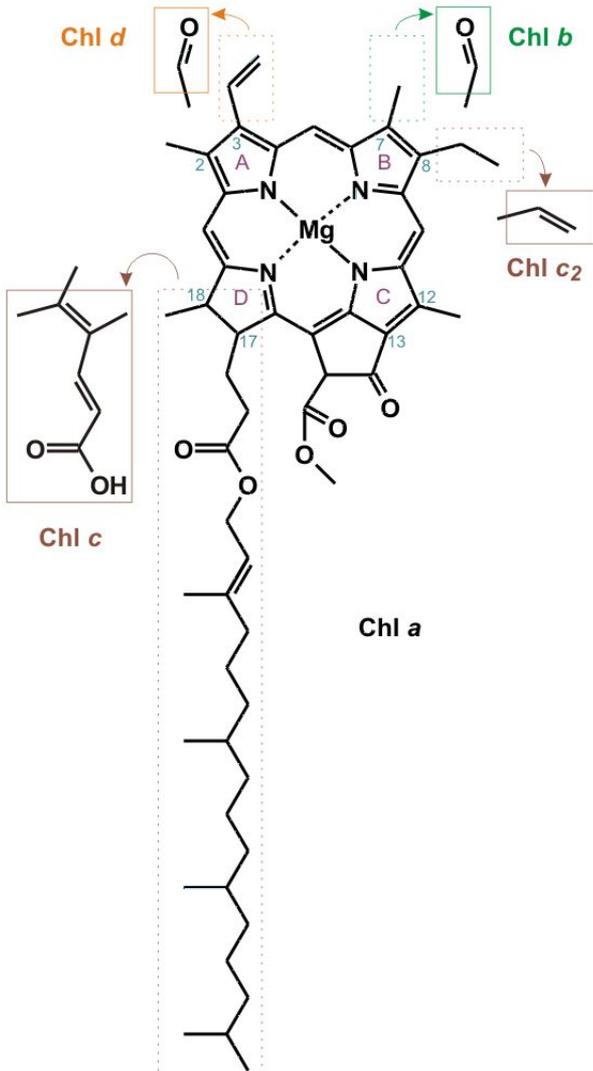
1. Поглощать $h\nu$ и трансформировать эту энергию в e^{-*}

2. Обратимо окисляться, т.е. отдавать e^{-*} с последующим заполнением «дырки»

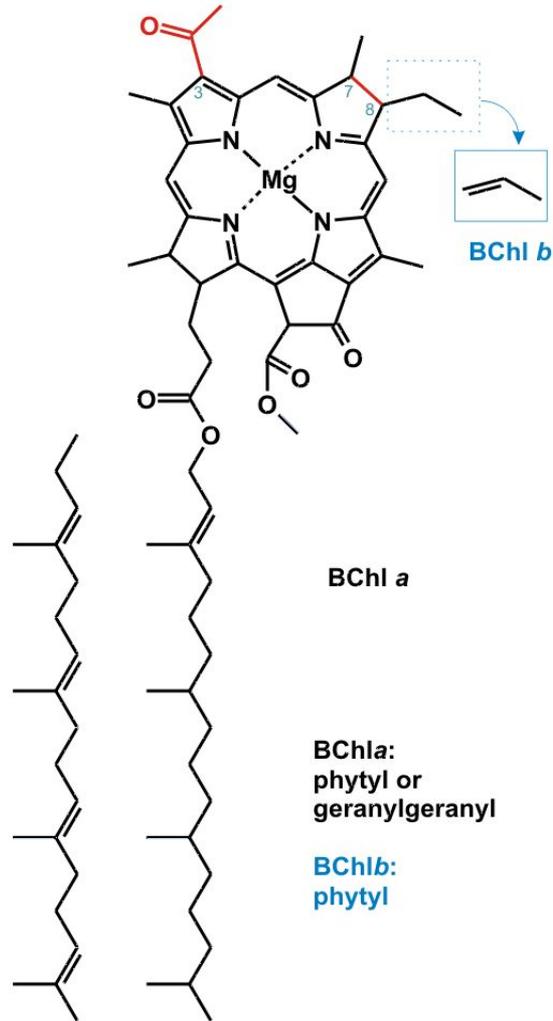
Т.о. иметь два E_0'

Многообразие хлорофиллов

Хлорофиллы (Chl)



Бактериохлорофиллы (BChl)

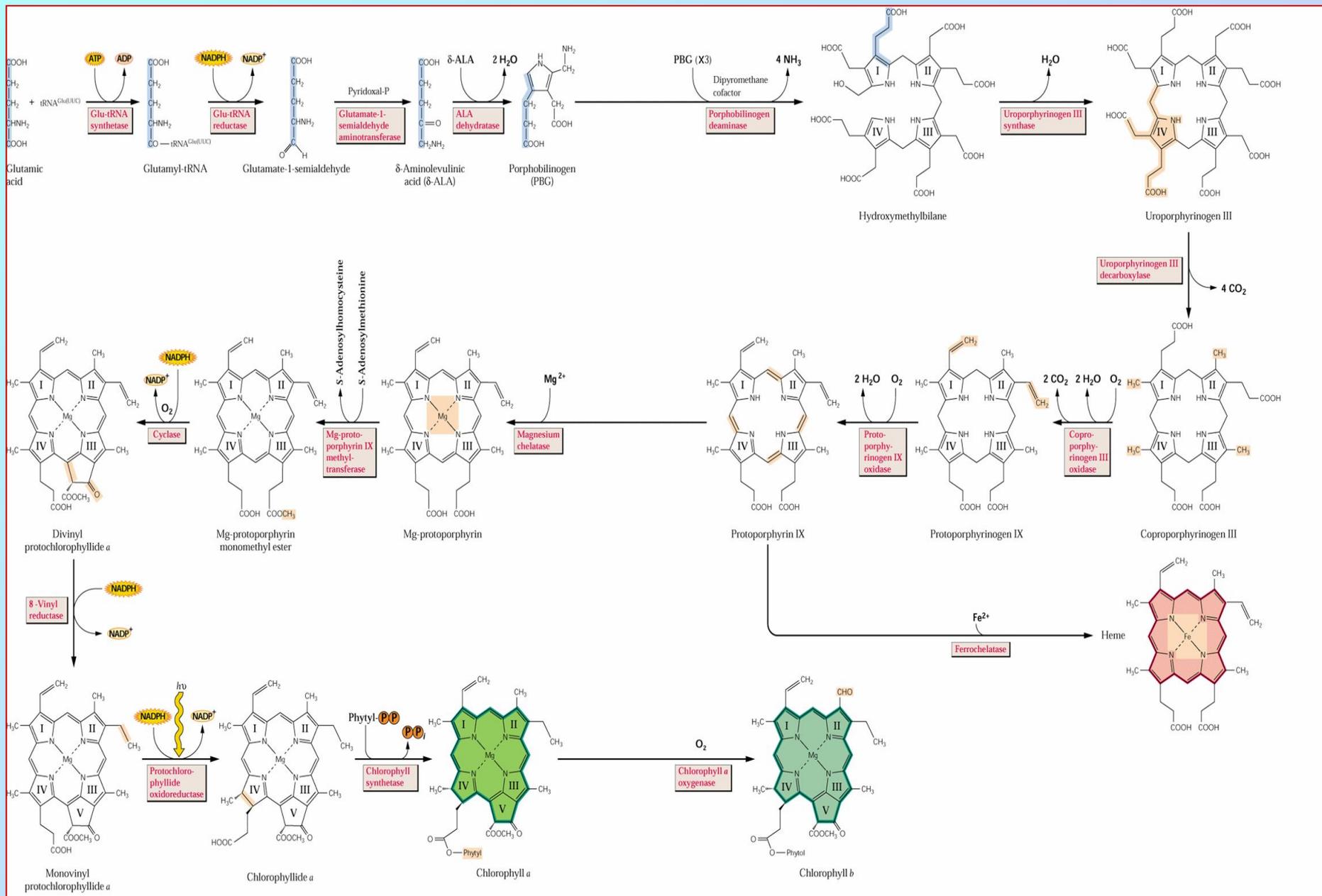


Организм		Хлорофиллы			
		a	b	c	d
Высшие растения		+	+		
Водоросли	Зелёные	+	+		
	Эвгленовые	+	+		
	Бурые	+		+	
	Диатомовые	+		+	
	Золотистые	+		+	
	Красные	+			+
Цианобактерии		+			

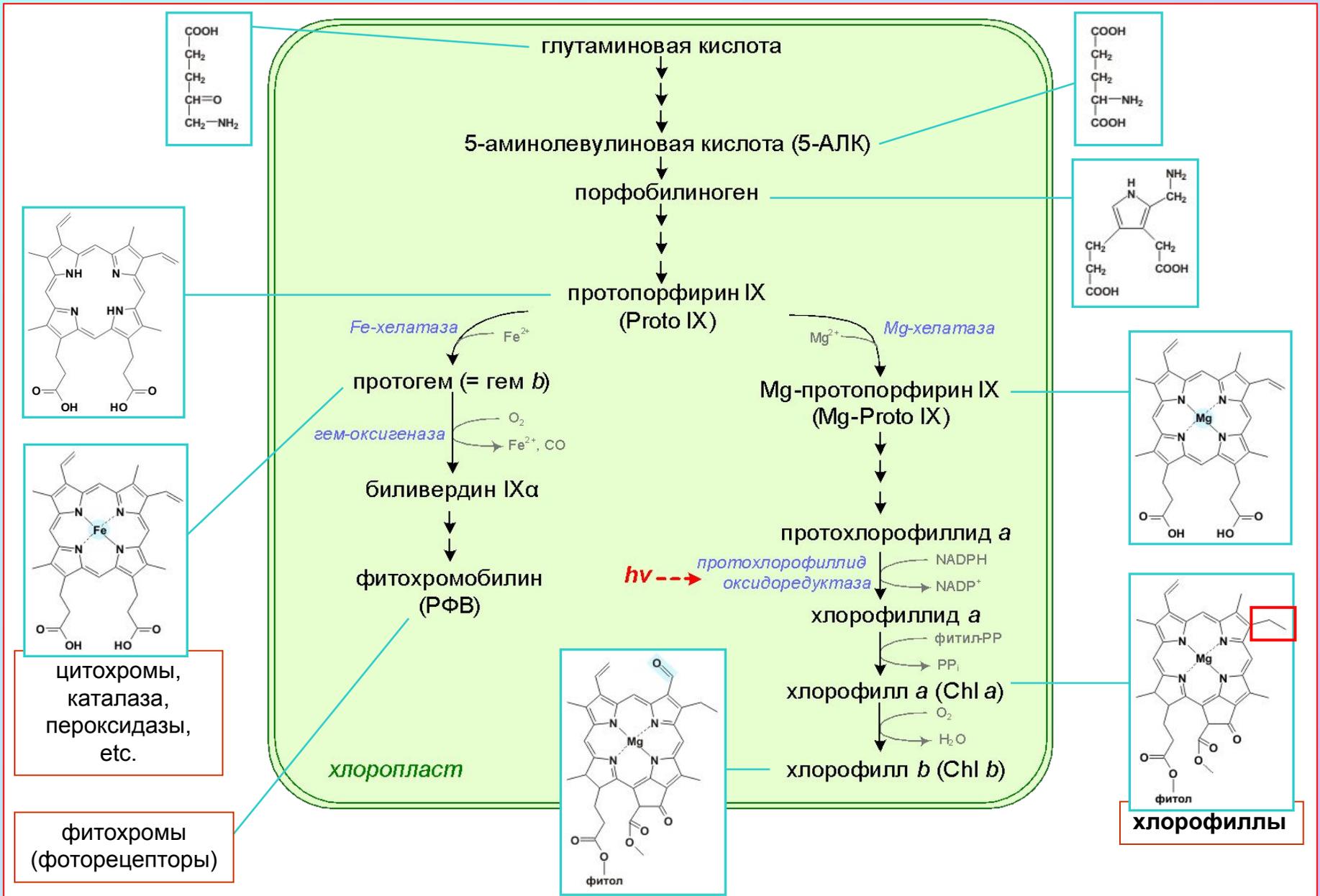
Основные структурные особенности молекулы хлорофилла

- **Конъюгированная система двойных связей: основная 18-членная π -система + дополнительные в I, II, V кольцах.**
- **Mg – минимум электроотрицательности; изменяет симметрию молекулы хлорофилла; «активирует» электроны пиррольных азотов**
- **V-кольцо – «форбиновая структура»: две важных группы: карбонильная при C₉ (участвует в $n - \pi$ переходах) и кетоэфирная при C₁₀ – *транс*- (хл-л а) или *цис*- (хл-л а’).**
- **Гидрофобный «хвост» (обычно C₂₀ – фитол). Структурная роль.**

δ-амнолевулиновая кислота – предшественник гема и хлорофиллов.



Биосинтез порфиринов у растений происходит в пластидах



глутаминовая кислота

5-аминолевулиновая кислота (5-АЛК)

порфобилиноген

протопорфирин IX (Proto IX)

Fe-хелатаза

Fe^{2+}

протогем (= гем b)

гем-оксигеназа

O_2

Fe^{2+}, CO

биливердин IXa

фитохромобилин (PФВ)

Mg-хелатаза

Mg^{2+}

Mg-протопорфирин IX (Mg-Proto IX)

протохлорофиллид a

$h\nu$

протохлорофиллид оксидоредуктаза

NADPH

NADP⁺

хлорофиллид a

фитил-PP

PP_i

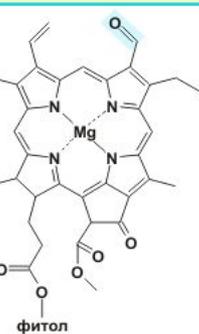
хлорофилл a (Chl a)

O_2

H_2O

хлорофилл b (Chl b)

хлоропласт

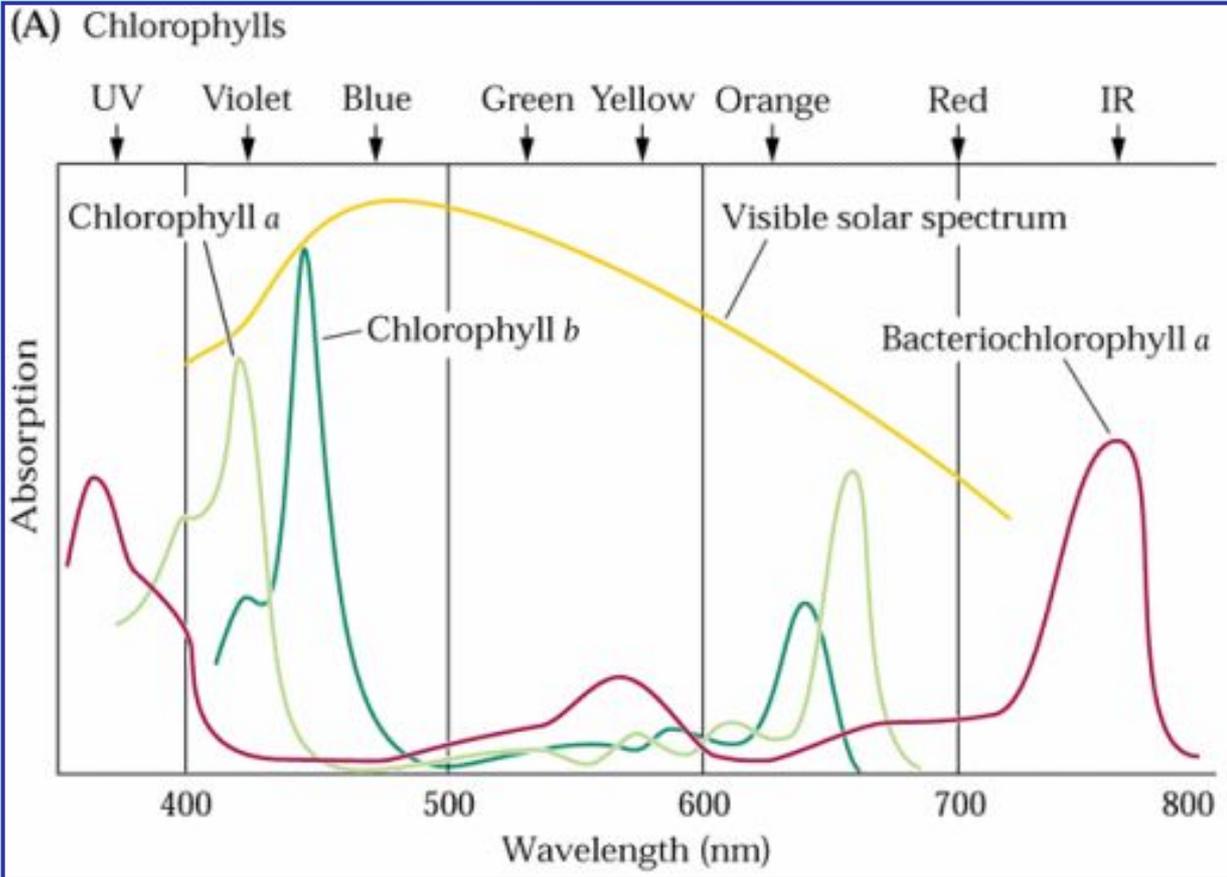


цитохромы,
каталаза,
пероксидазы,
etc.

фитохромы
(фоторецепторы)

хлорофиллы

Спектры поглощения хлорофиллов



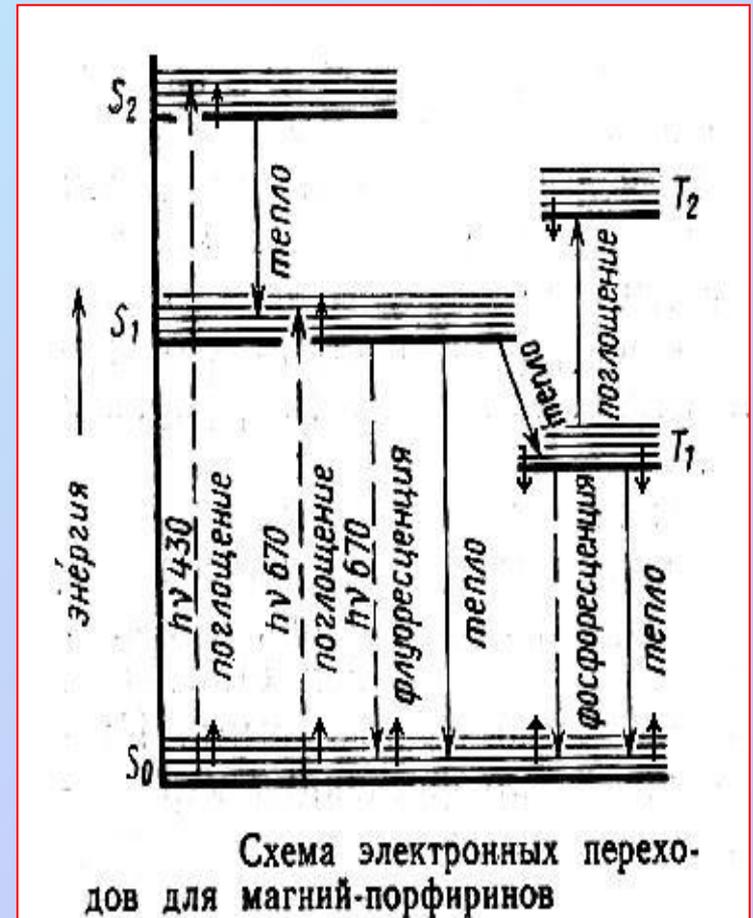
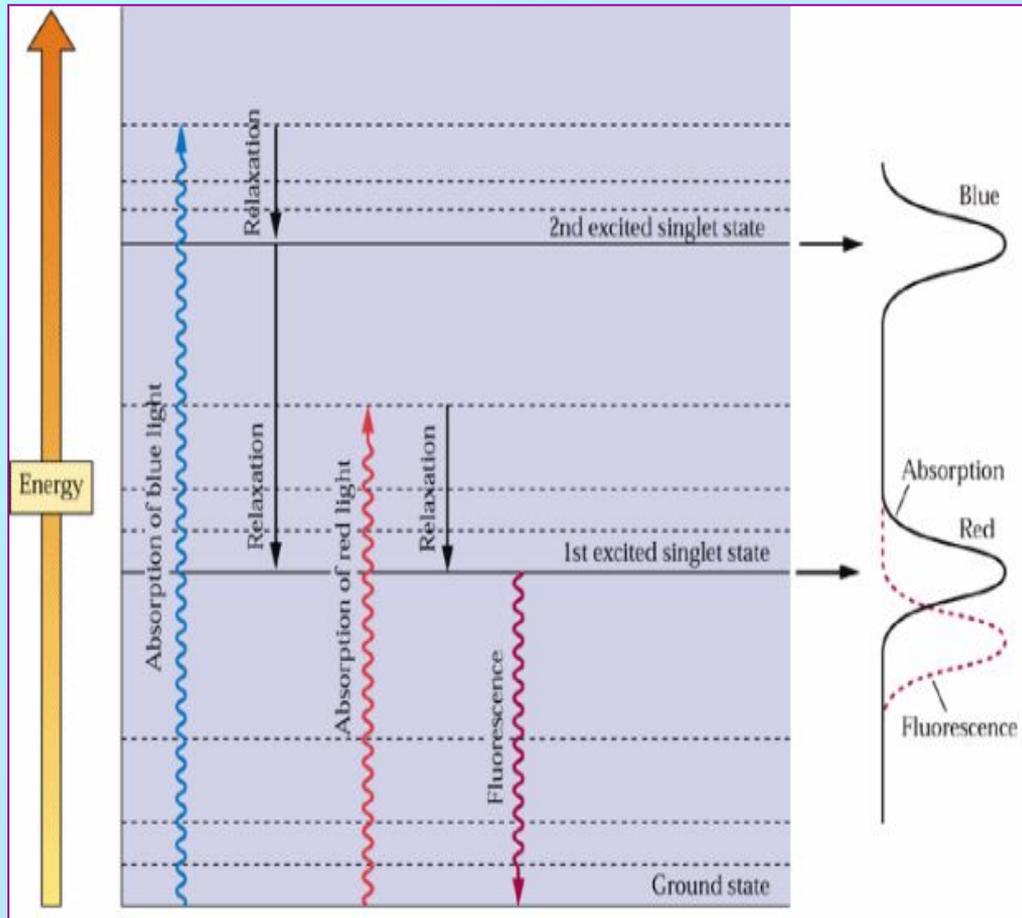
Почему видимый свет ?

1. Оптимум энергии: 1 – 3 эв.
2. Максимальная «прозрачность» атмосферы для этих длин волн – более 50%.

Хлорофиллы имеют два максимума поглощения - в красной области спектра (640-700 нм) и в синей - 400-450 нм. Каротиноиды поглощают в области 400 - 550 нм, главный максимум 480 нм



Энергетические уровни хлорофилла



Белковое окружение изменяет спектр поглощения хлорофилла

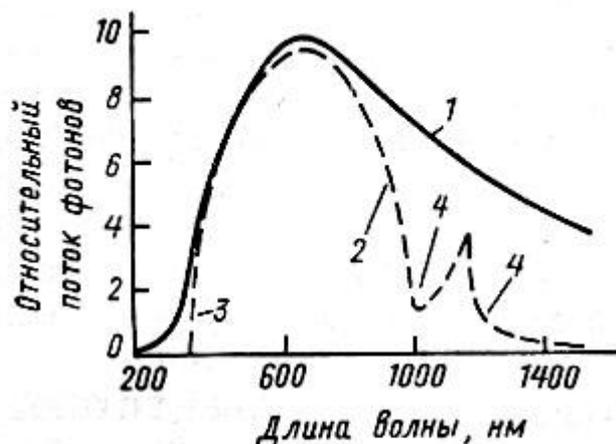


Рис. 9. Кривая распределения солнечной энергии, достигающей земной атмосферы (1) и поверхности земли (2). Показано экранирующее влияние озона (3) и паров воды (4)

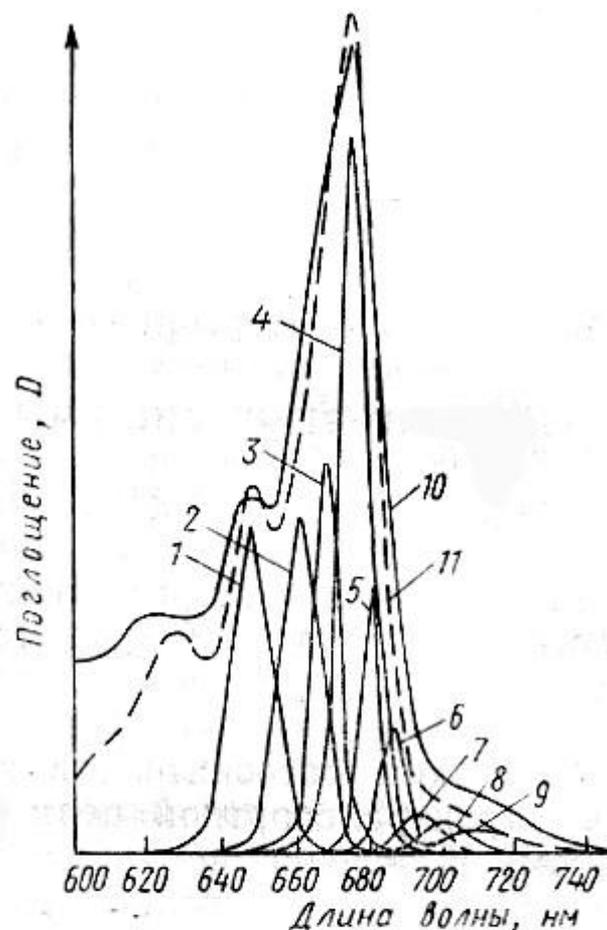
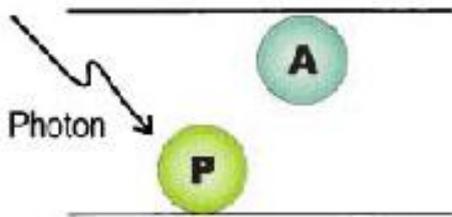


Рис. 10. Спектр поглощения фракции хлоропластов при -196° и его разложения на гауссовские полосы (Литвин, 1973).

1—9 — хлорофиллы: 1 — b_{648} ; 2 — a_{661} ; 3 — a_{668} ; 4 — a_{675} ; 5 — a_{681} ; 6 — a_{686} ; 7 — a_{693} ; 8 — a_{700} ; 9 — a_{710} ; 10 — суммарная экспериментальная кривая; 11 — суммарная теоретическая кривая

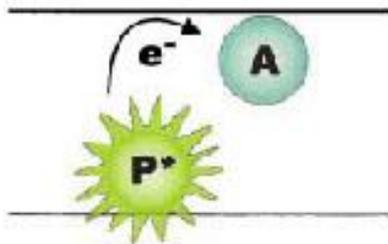
Первичные процессы фотосинтеза – временные интервалы различаются на 6 -7 порядков

Фотоны
фс – пс



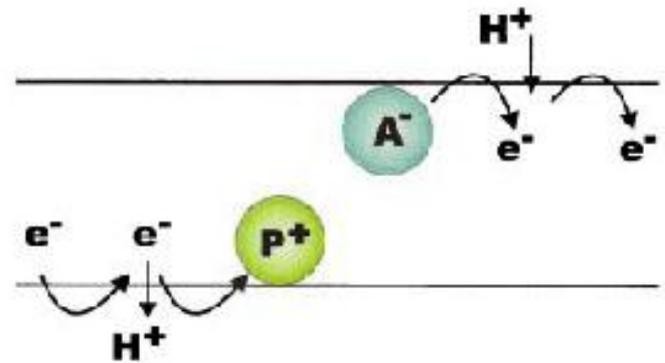
Поглощение фотона
и перенос энергии
в реакционный центр

Электроны
пс – нс



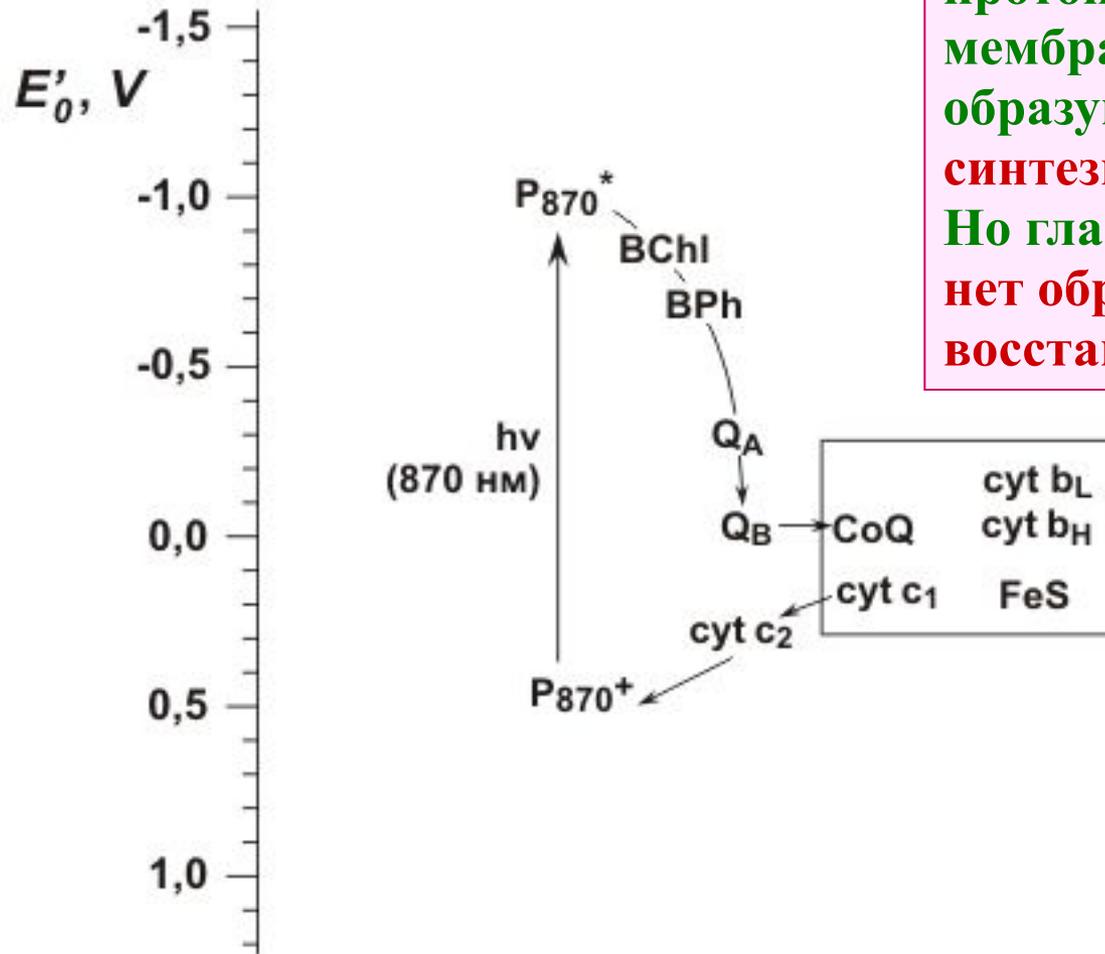
Разделение зарядов,
образование P^+ и A^-

Электроны и протоны
нс – мкс



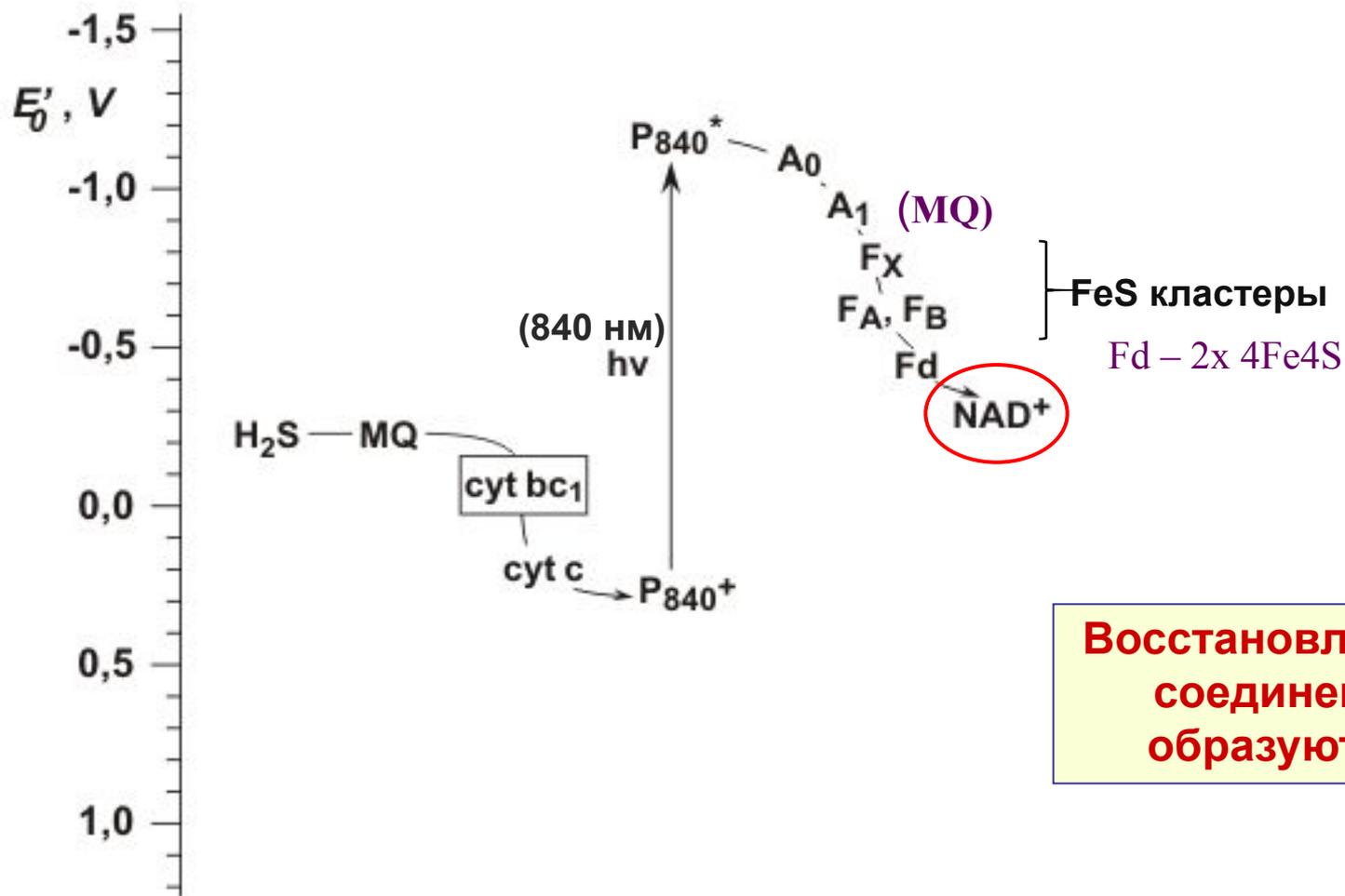
Транспорт электрона,
сопряжённый с переносом протонов
через мембрану □ запасание энергии
в виде трансмембранного протонного градиента

Простейшая схема фотосинтеза — пурпурные бактерии.



За счет работы b_6c_1 -комплекса протоны «перекачиваются» через мембрану, и за счет образующегося $\Delta\mu H^+$ синтезируется АТФ. Но главная задача не решена — нет образования восстановленных соединений.

Вторая простейшая схема фотосинтеза - серные зеленые бактерии.



Восстановленные соединения образуются!

Очередная проблема: где взять источник (донор) электронов (окисляемое соединение)?

Основные требования к донору электронов:

1. E_0' меньше E_0' хл⁺ (т.е. может отдавать e⁻ на хл⁺)
2. Продукты окисления нетоксичны (желательно)
3. Его должно быть **МНОГО**

H₂S – хорош по всем параметрам, кроме последнего:

1. $E_0'_{\text{H}_2\text{S}} = -0,23$ – электрон достаточно легко «забрать»
2. Продукт окисления (сера) - легко уводится из реакции

H₂O – отвратителен по всем параметрам, кроме последнего:

1. $E_0'_{\text{H}_2\text{O}} = +0,82$ – очень много, электрон «оторвать» трудно
2. Продукт окисления (кислород) - очень токсичен.

Но последний фактор оказался решающим.

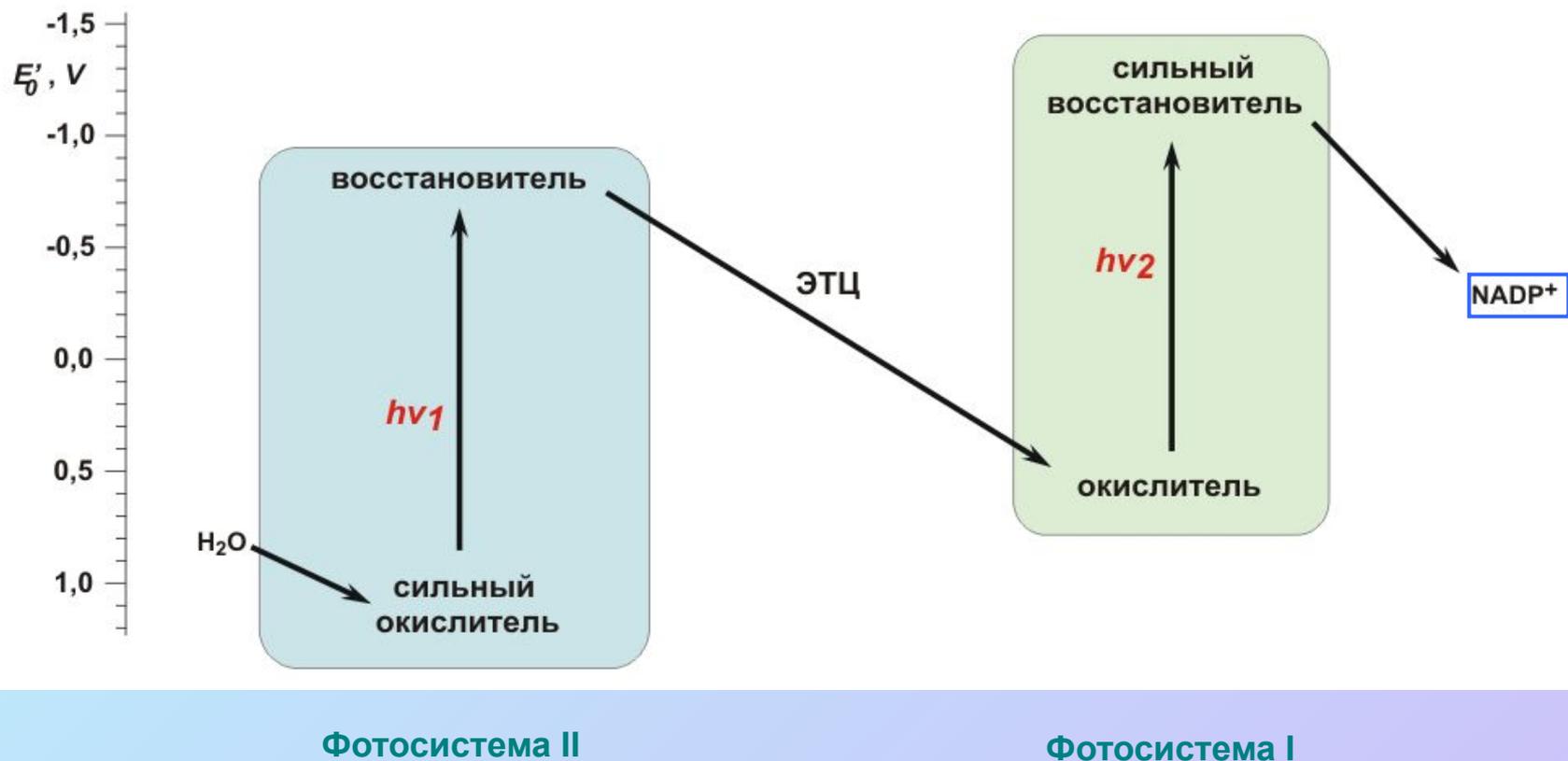
**Как решить проблемы водички в качестве донора электрона?
Энергия квантов видимого света.**

400нм (синий свет) — 700нм (красный свет)

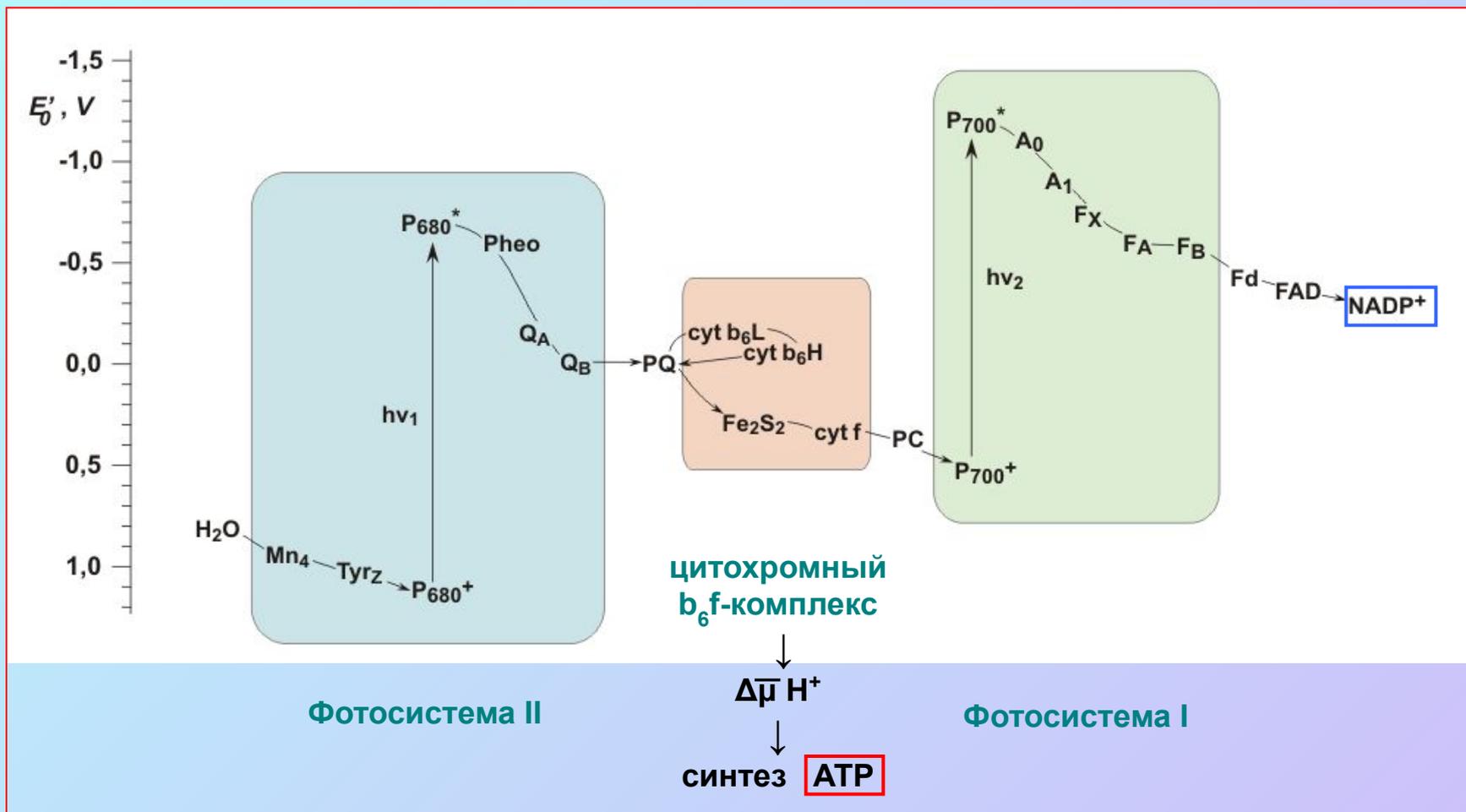
λ	энергия фотона		$\Delta E_0'$	1 моль фотонов
700нм	0,28 аттодж.	1,77 э-в	1,7 в	171 кдж
640нм	0,31 аттодж.	1,94 э-в	1,9 в	187 кдж
500нм	0,40 аттодж.	2,48 э-в	2,4 в	239 кдж
400нм	0,50 аттодж.	3,1 э-в	3,0 в	299 кдж

Энергии кванта света (с учетом затрат на стабилизацию - ~50%) не хватает, чтобы и окислить воду, и восстановить НАДФ⁺. **Что делать?**

Гениальное решение: соединить две фотосистемы!



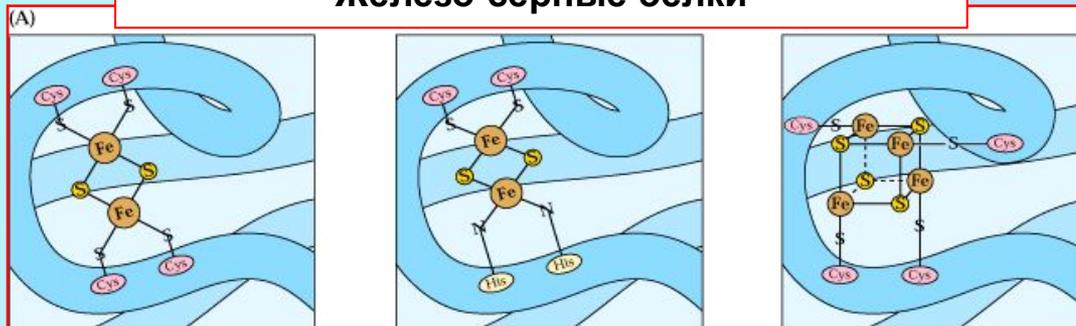
Z-схема: оптимальное сочетание фотосистем позволяет «втиснуть» между ними еще и b_6f -комплекс



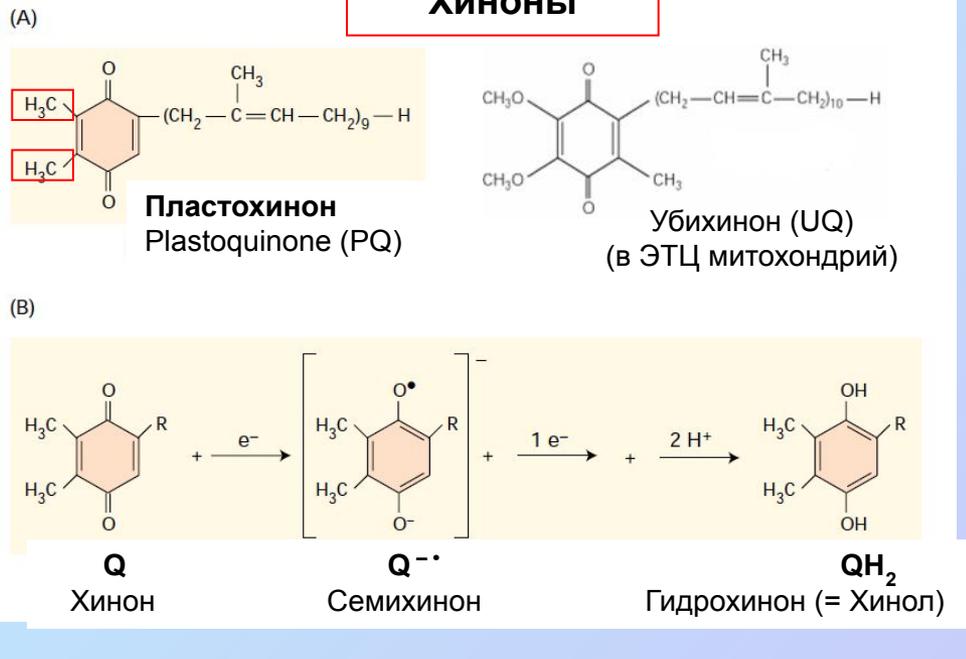
Кофакторы ЭТЦ фотосинтеза: знакомые все лица...

2Fe-2S и 4Fe-4S-белки, хиноны (пластохиноны и филлохинон), цитохромы

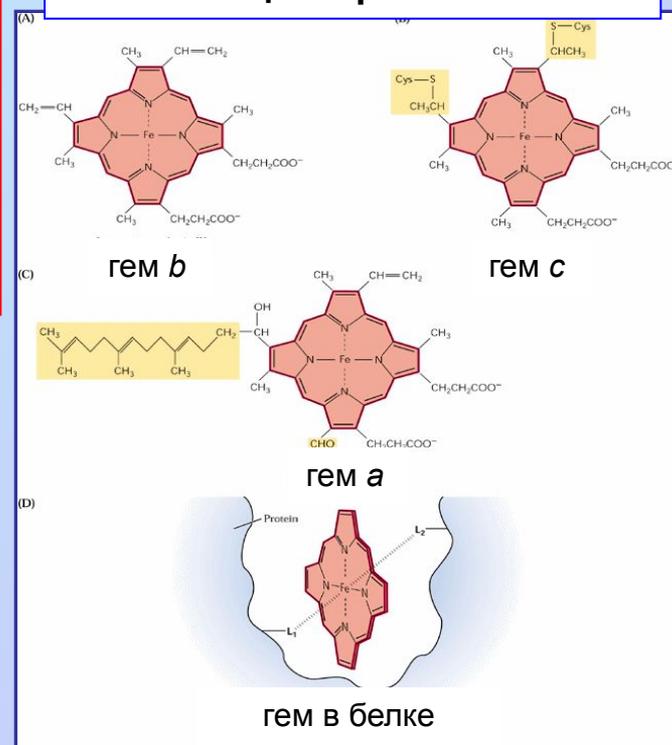
Железо-серные белки



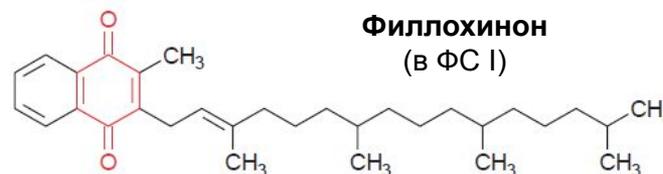
Хиноны



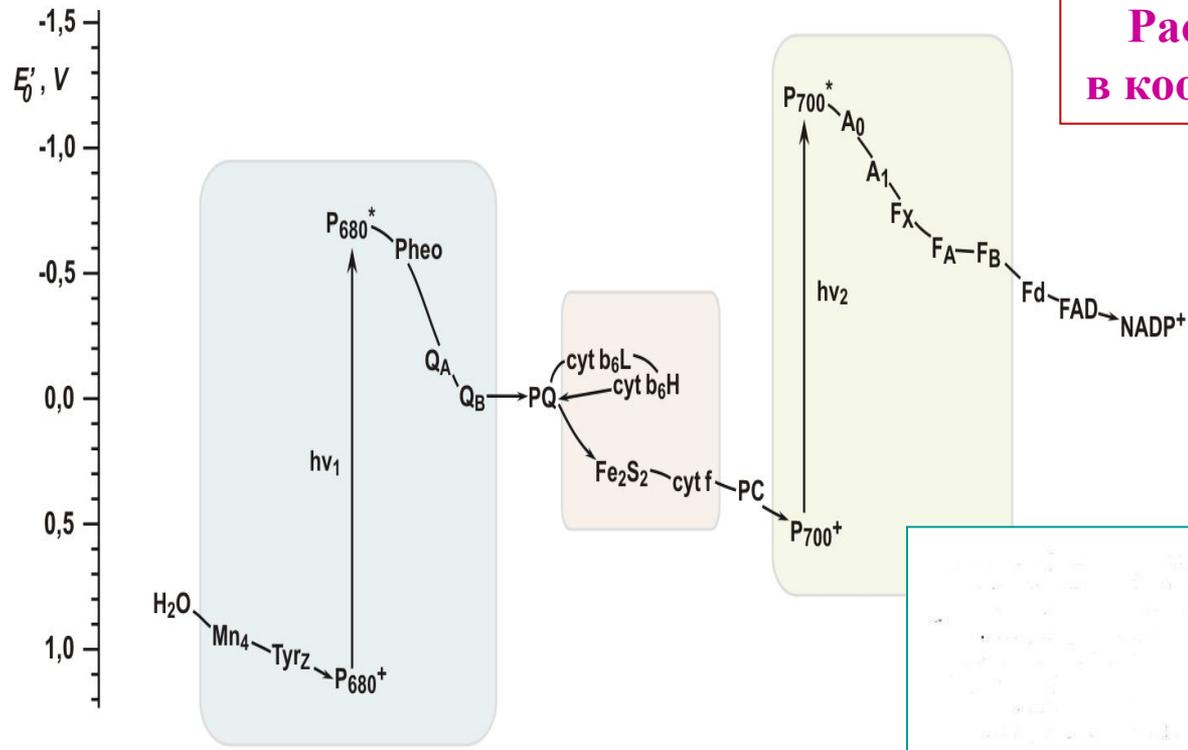
Цитохромы



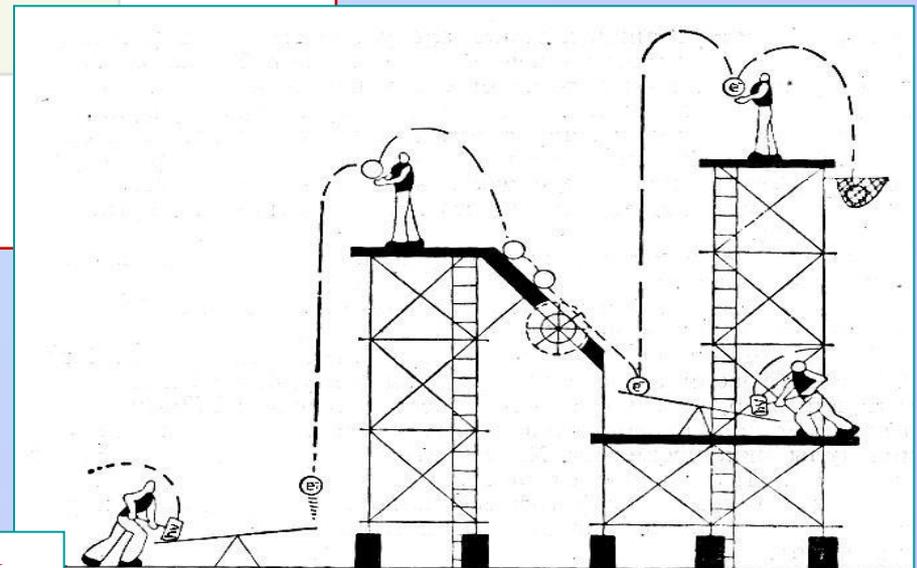
Филлохинон (в ФС I)



Z-схема фотосинтеза



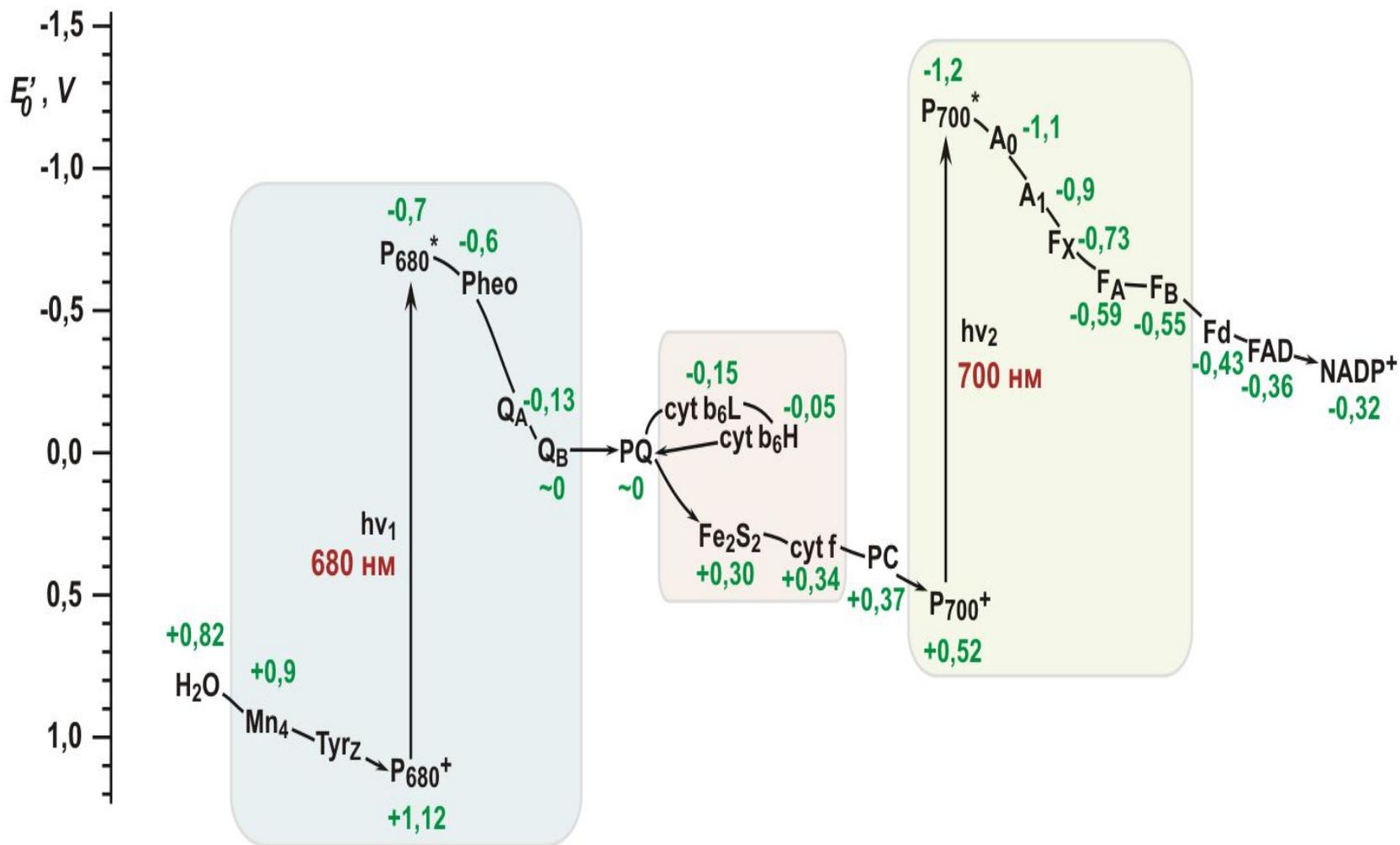
Расположение кофакторов
в координатах ОВ потенциала



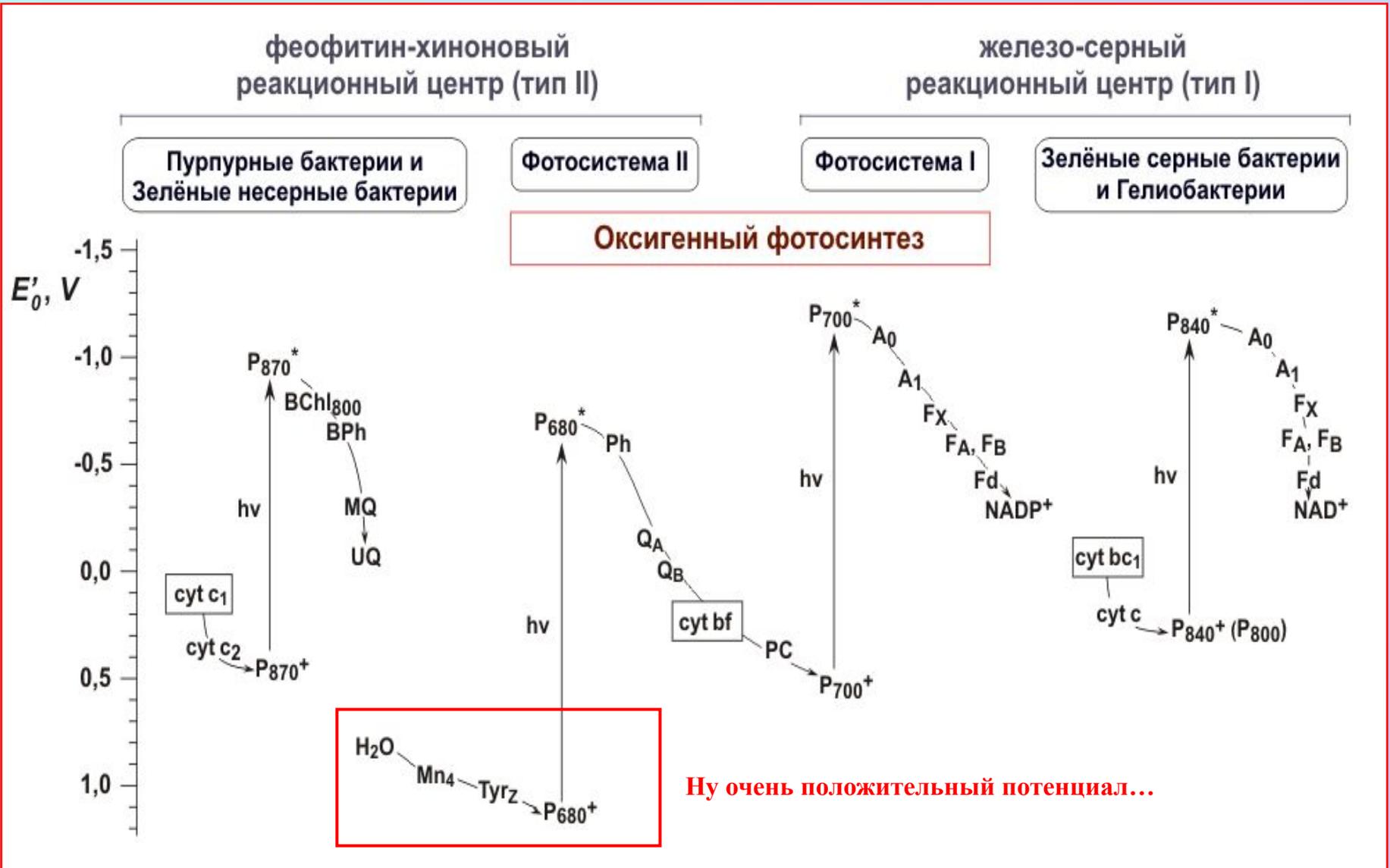
И «механический» аналог - для наглядности...

Аналогия Z-схемы.

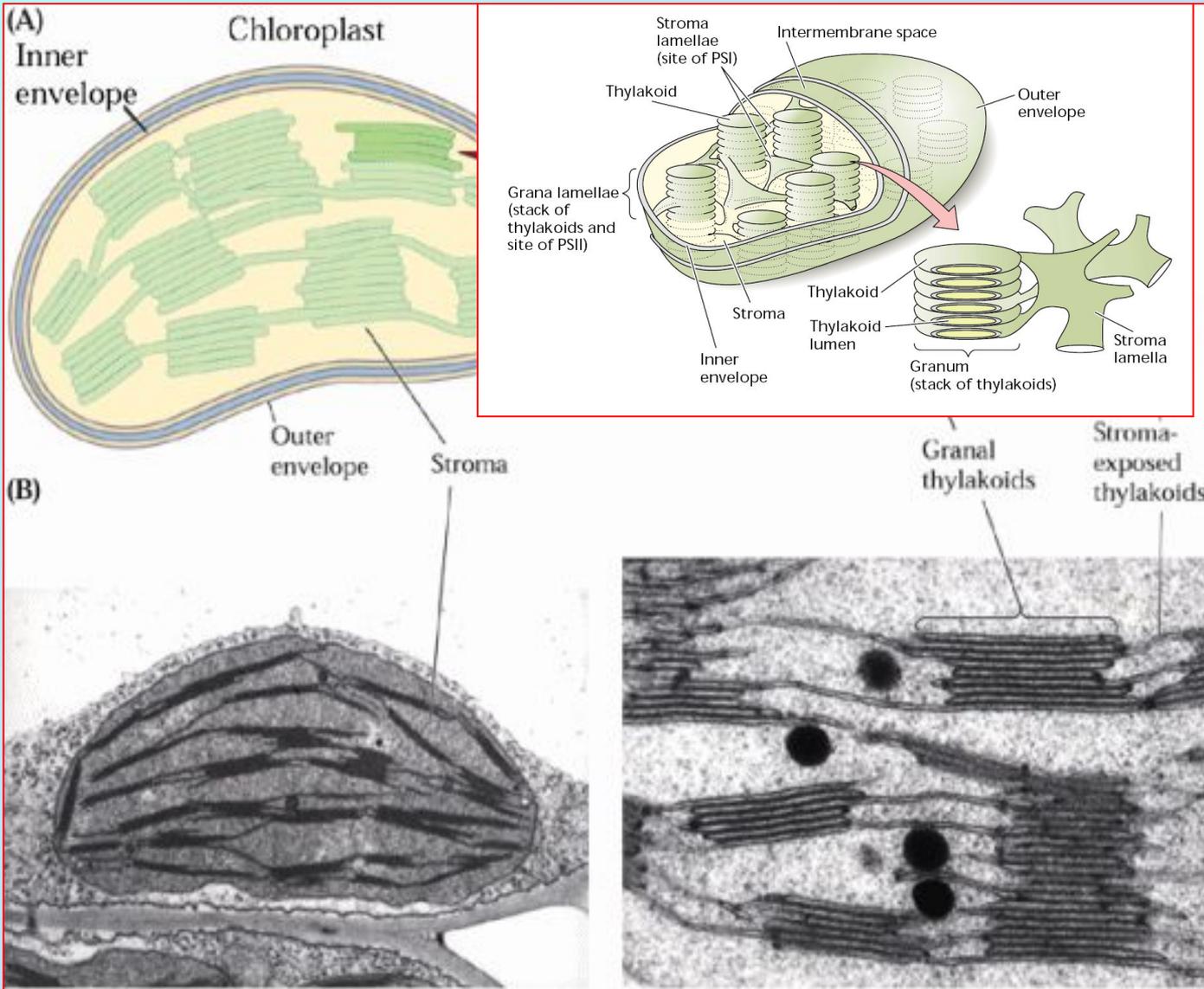
Z-схема фотосинтеза: RedOx потенциалы компонентов ЭТЦ хлоропластов



Два типа реакционных центров: феофитин-хиноновый и железо-серный

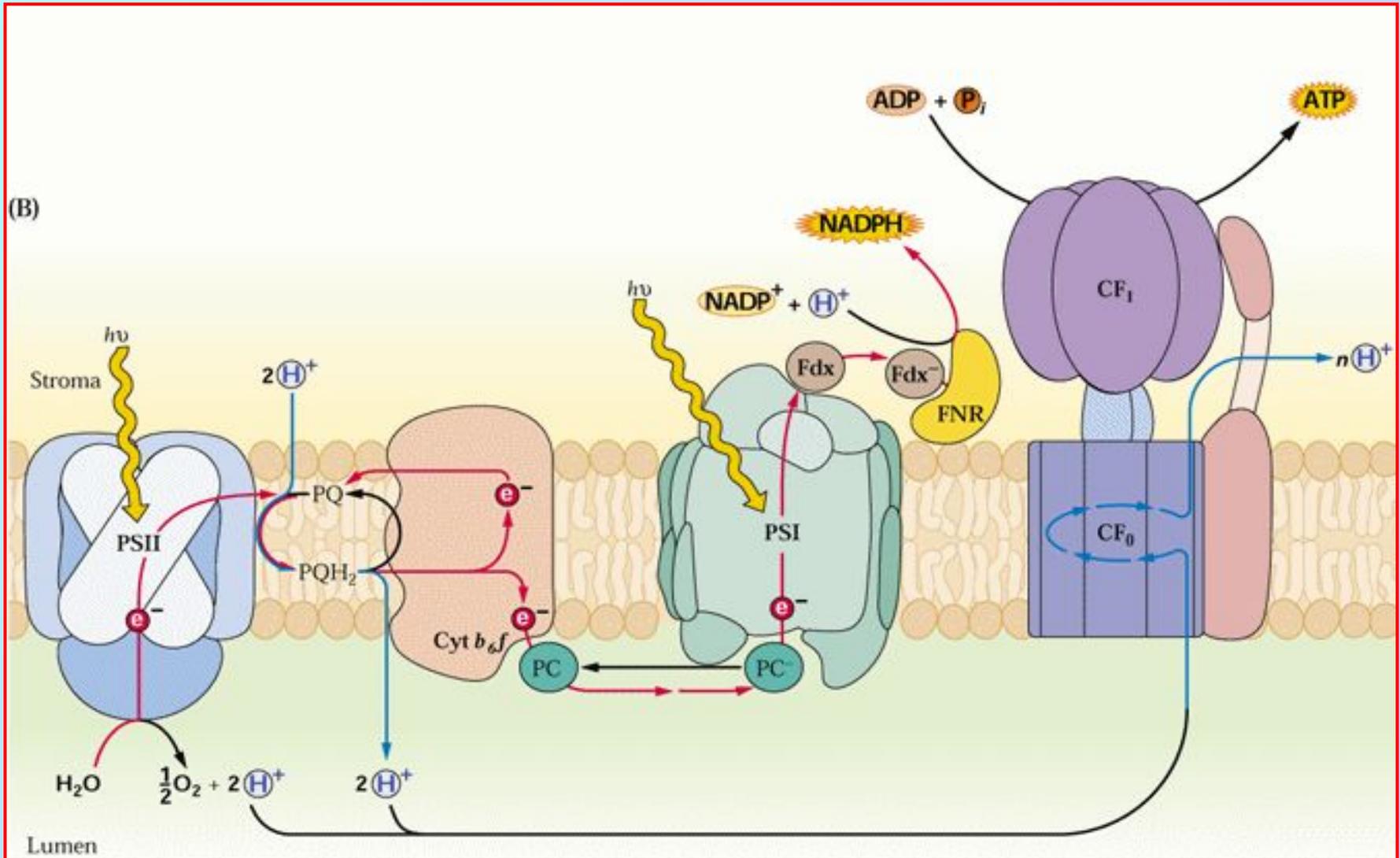


Организация фотосинтетического аппарата

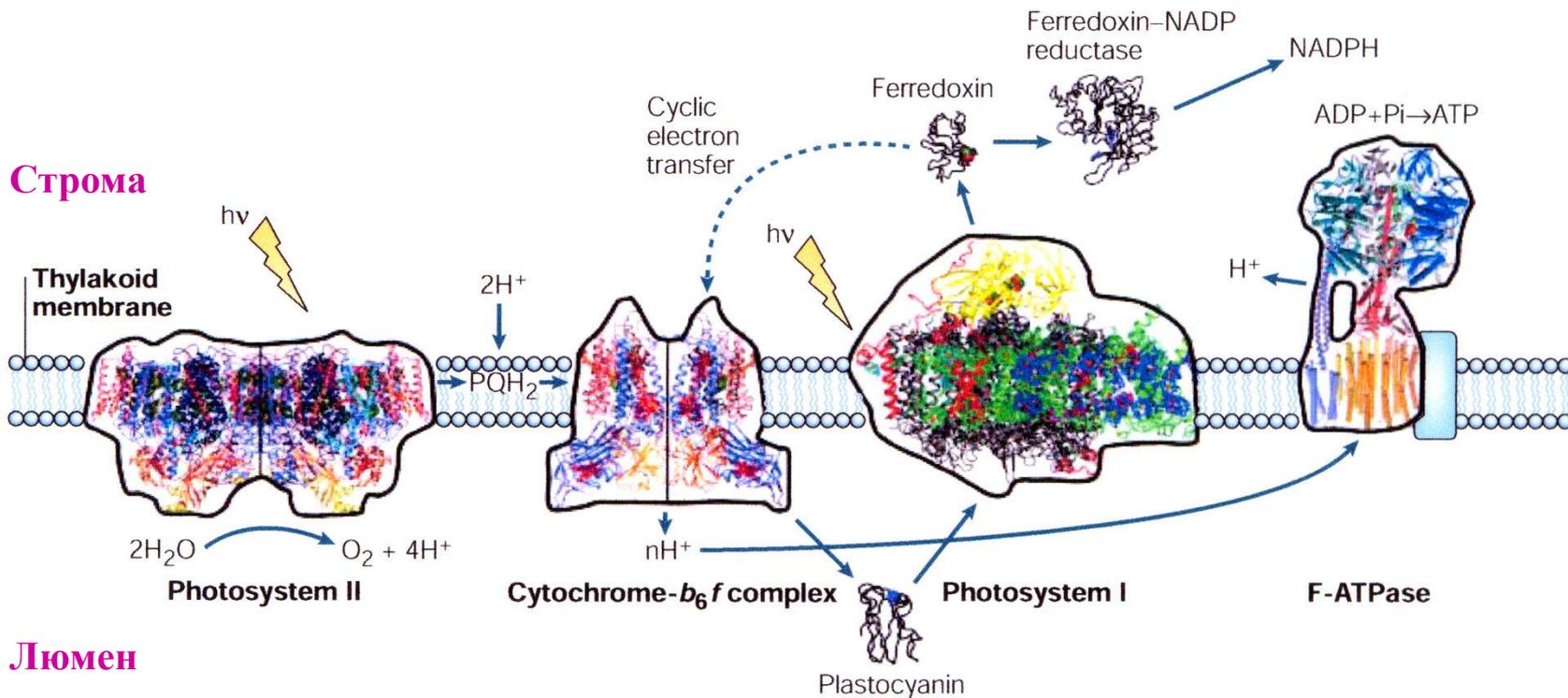


Тилакоиды образовались по-видимому, за счет инвагинации внутренней мембраны с последующим «отшнуровыванием». Таким образом, люмен топологически эквивалентен межмембранному пространству.

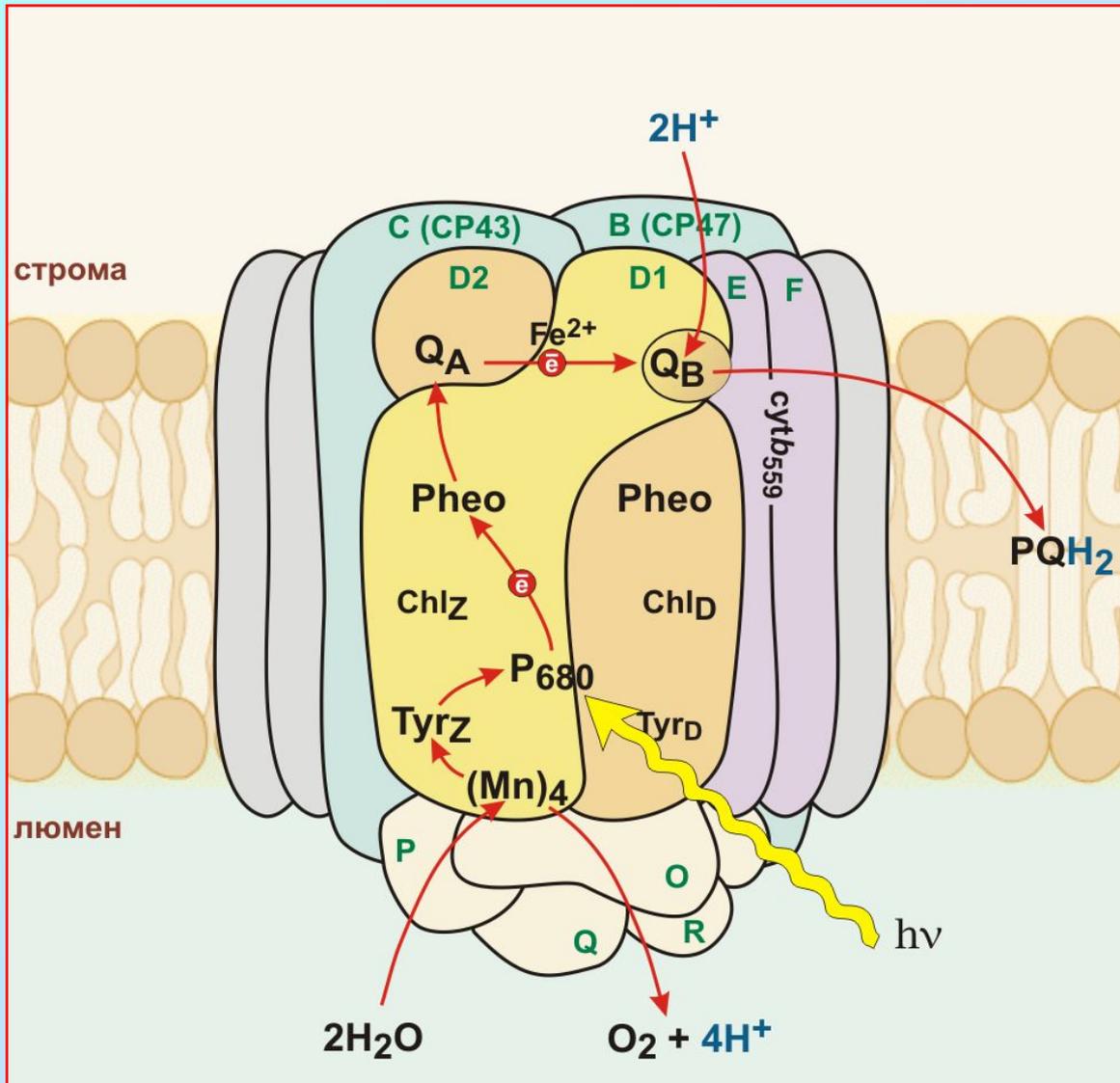
Организация фотосинтетического аппарата весьма похожа на ЭТЦ дыхания



Организация фотосинтетического аппарата, «реальная картинка».



Фотосистема II: схема реакционного центра (РЦ)



25 белков:

$D_1 + D_2$ – Гетеродимер, на нем:

P_{680} – димер Chla,

Pheo – феофитин,

$Chl_{Z,D}$ – дополнительные Chl,

Q_A – пластохинон
связанный,

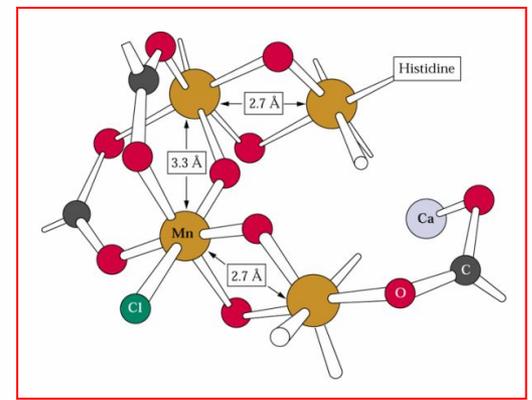
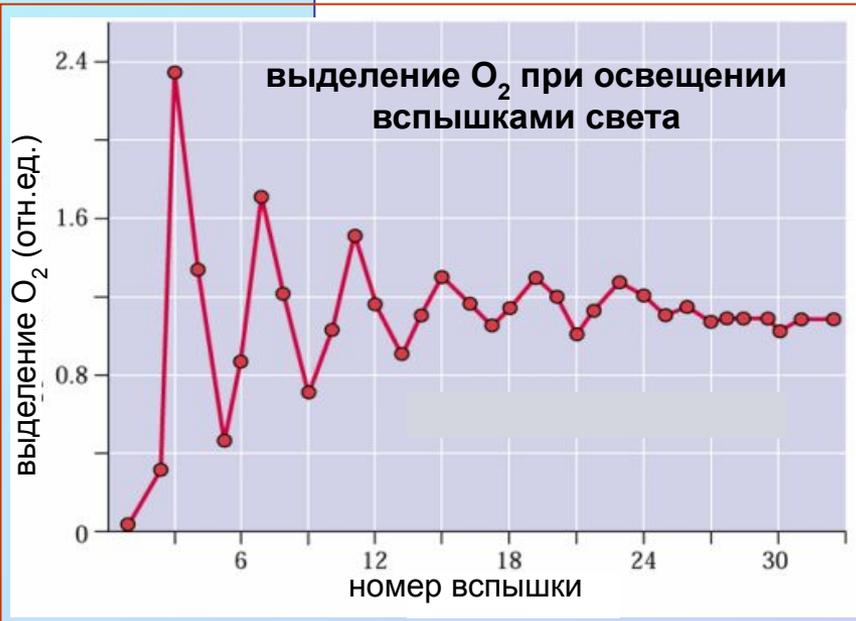
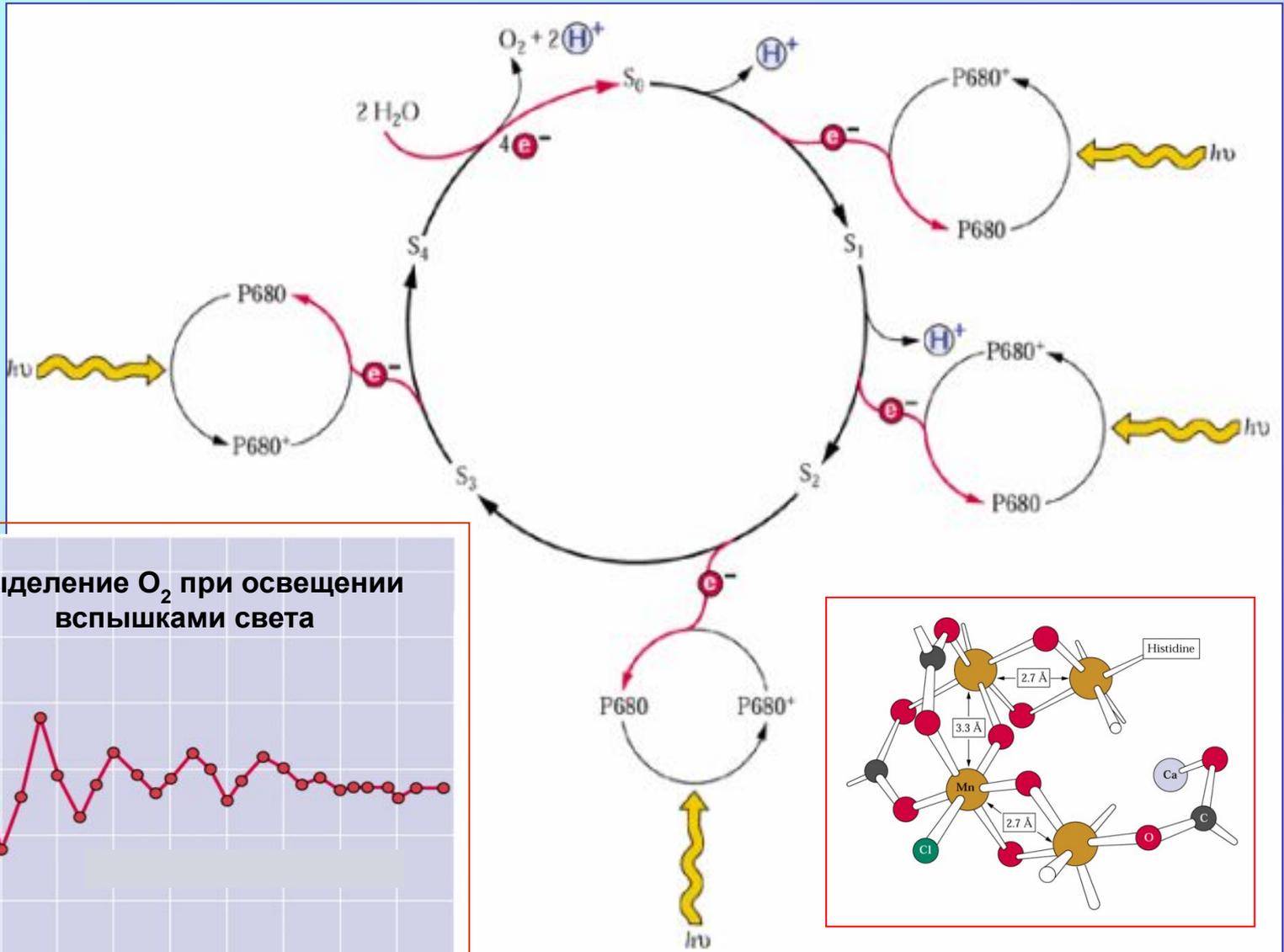
Q_B – сайт связывания
пластохинона из
мембранного пула

F, E – cyt b_{559}

O, P, Q – формируют
водоокисляющий
комплекс

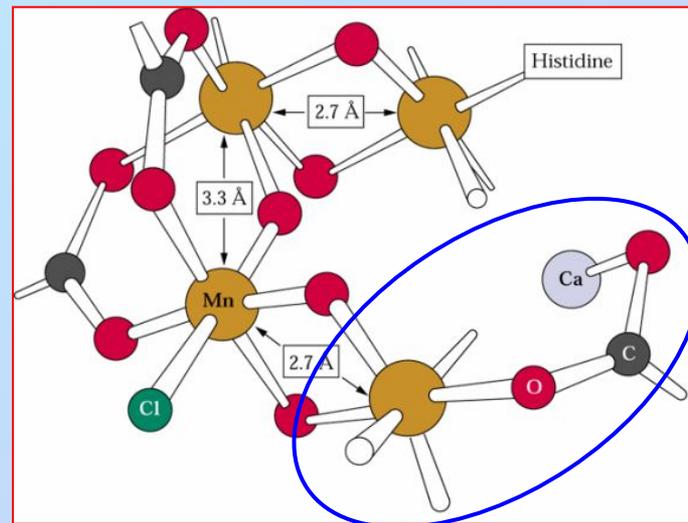
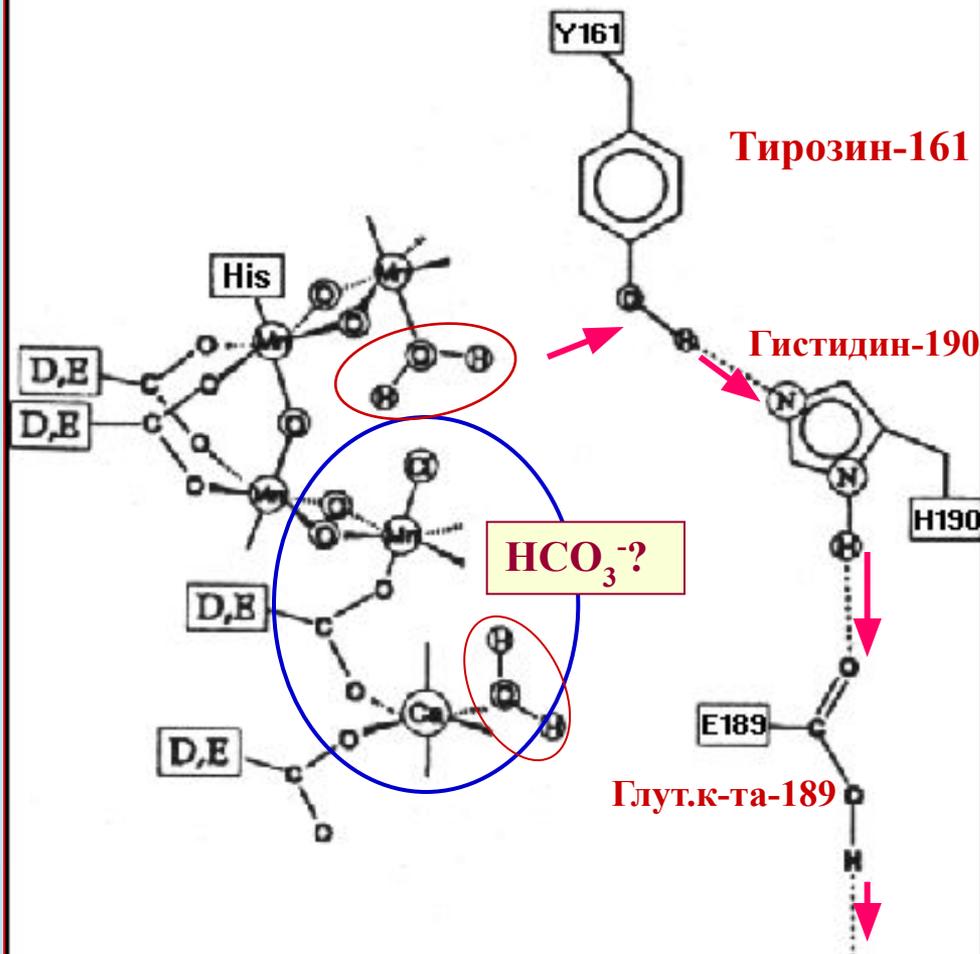
C (CP43), B (CP47) –
внутренние
фокусирующие антенны
(~ 30 Chla)

Кинетика работы водоокисляющего комплекса



Марганцевый кластер системы фотоокисления воды

THE OXYGEN-EVOLVING-COMPLEX S₀ STATE



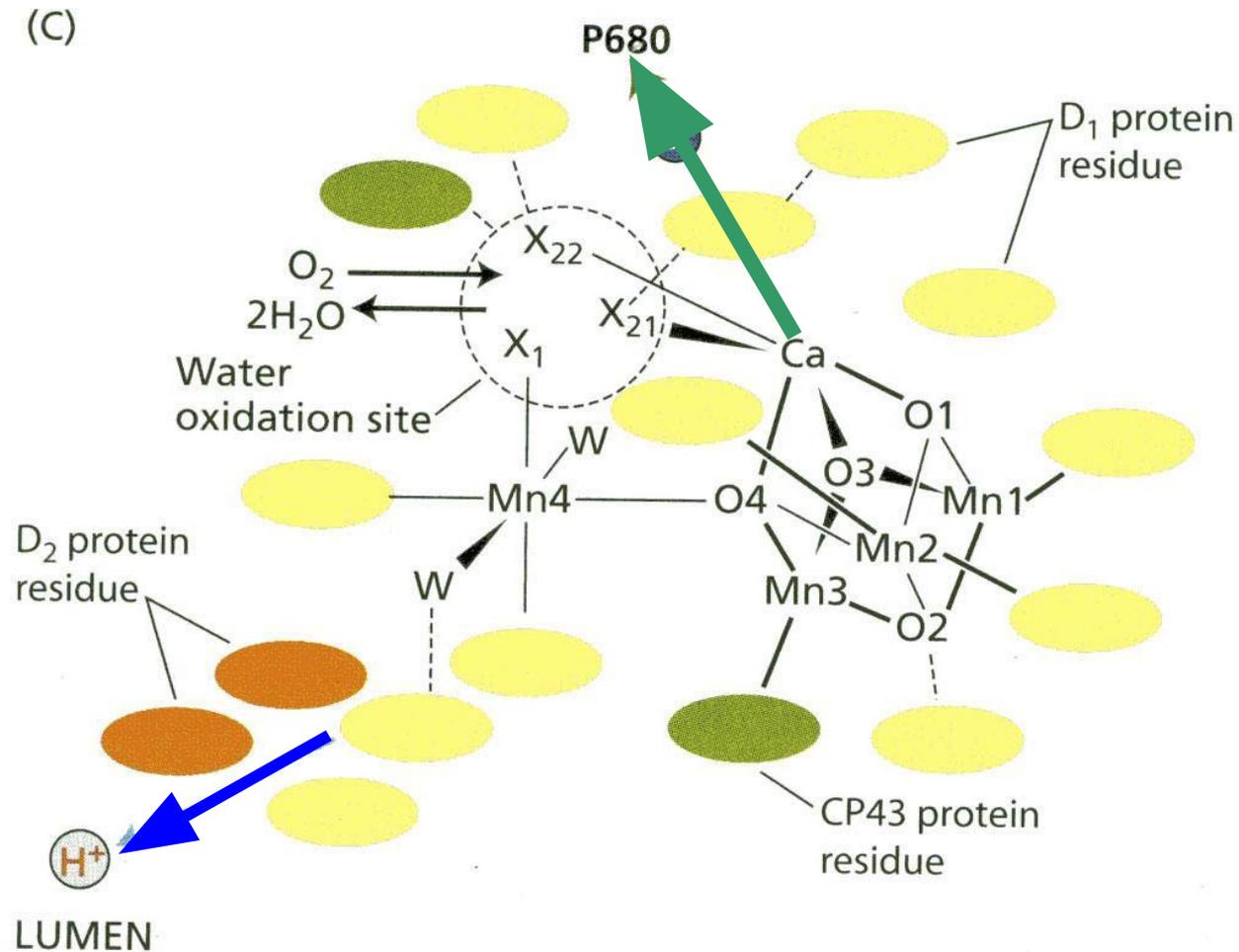
Только один из ионов марганца, а именно Mn⁴, связывает молекулу воды в качестве субстрата и забирают от нее электроны. Предполагается, что непосредственно перед формированием O=O связи, Mn⁴ переходит в состояние Mn⁵. В этом случае O=O связь может быть образована за счет нуклеофильной атаки на электрон-дефицитный комплекс Mn⁵=O второй молекулой воды, которая связана с с близлежащим ионом кальция.

Не все так просто и не все так ясно в системе водоокисления...

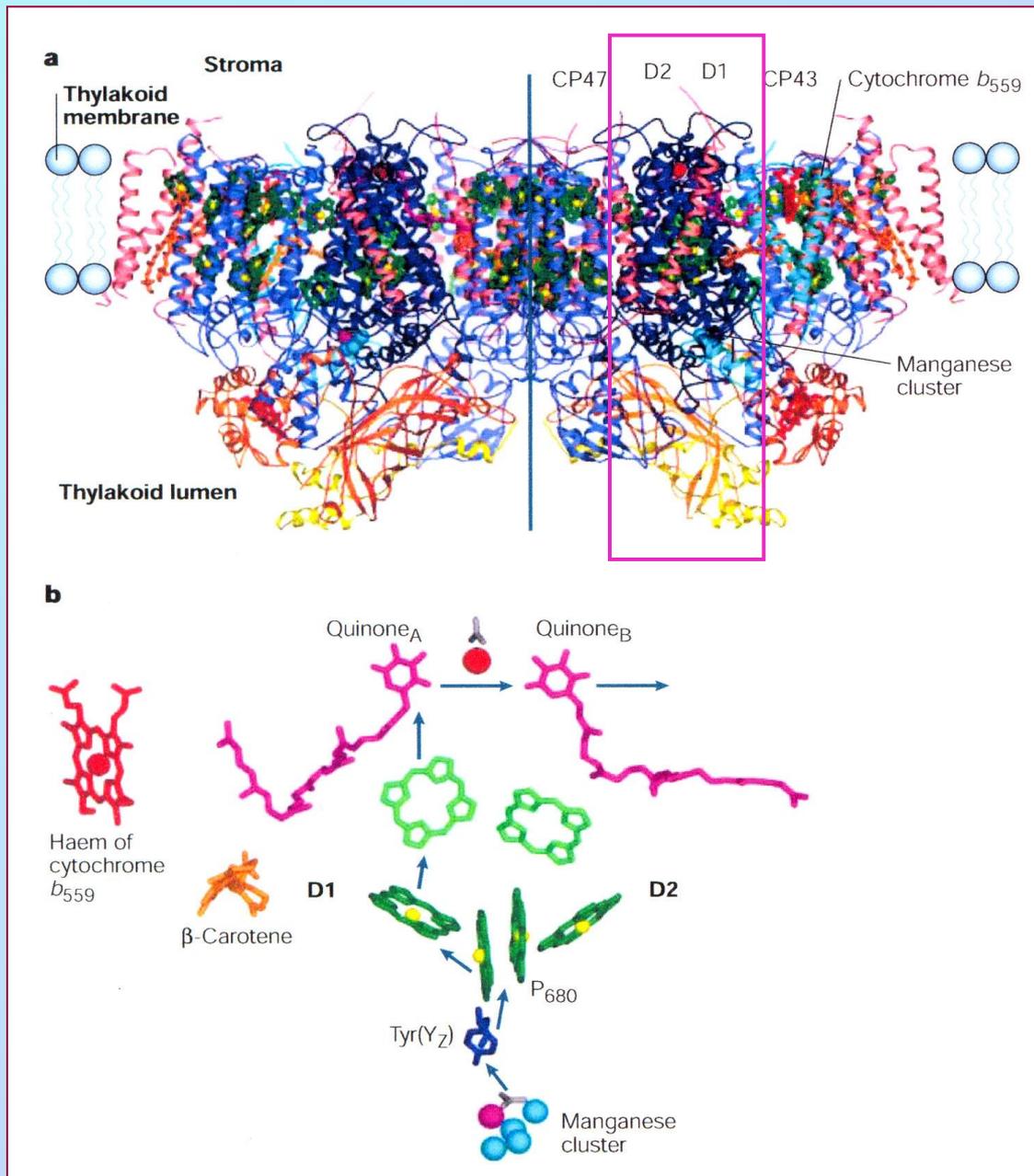
В организации системы, по-видимому, участвует не только D1 белок, но и D2 и CP43..

W – молекулы воды

X₁ X₂₁ X₂₂ – участки связывания молекул воды

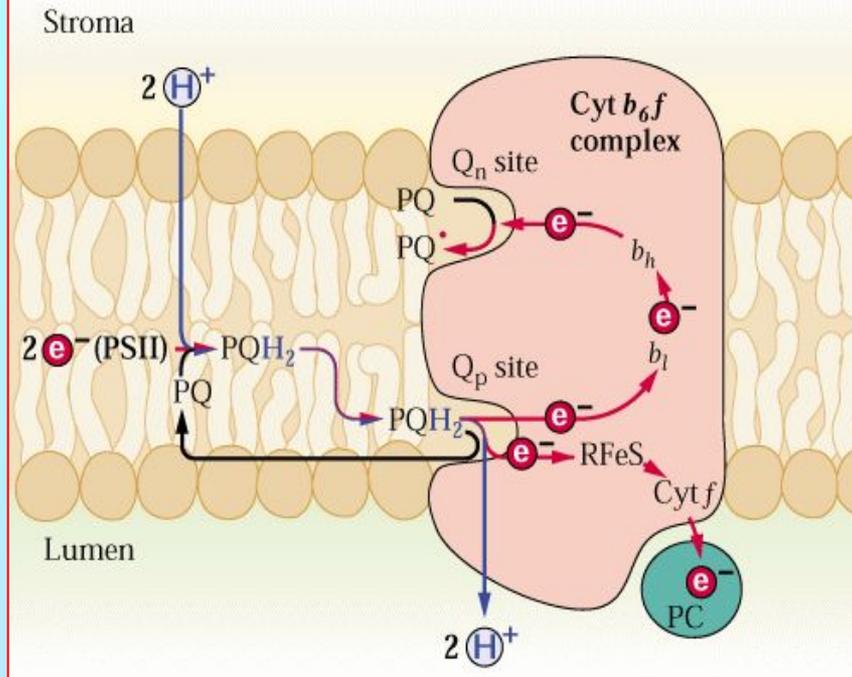


Фотосистема II в «реальном виде»

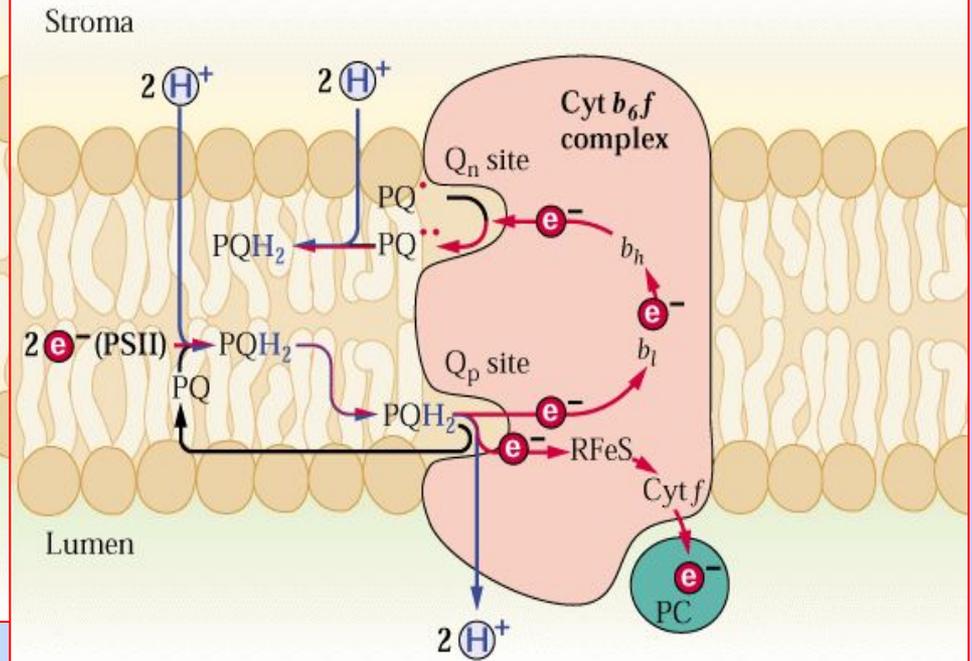


В₆f-комплекс: схема. Два такта работы Q-цикла. Как в митохондриях...

(A) First turnover



(B) Second turnover



PQH₂/PQ – восстановленный/окисленный пластохинон

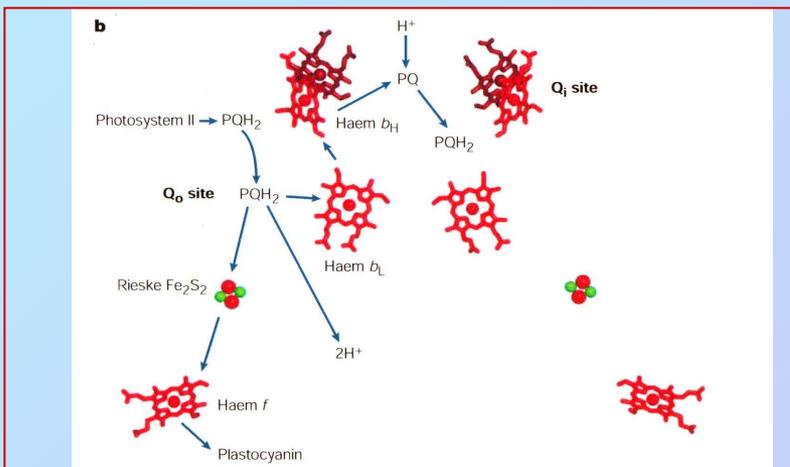
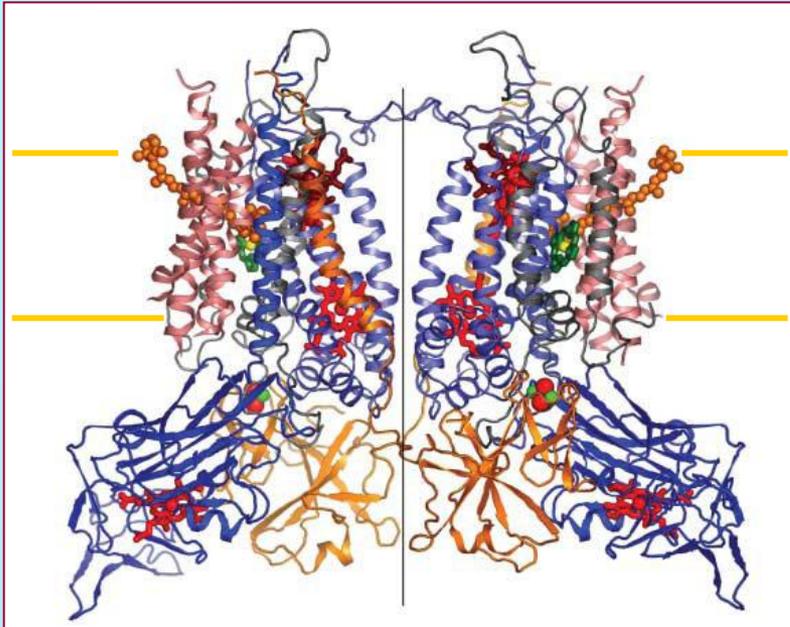
RFeS – белок Риске (содержит 2Fe2S-кластер)

PC – пластоцианин – *Cu*-содержащий водорастворимый белок в люмене

b_L – низкопотенциальный и **b_H** – высокопотенциальный гемы цитохрома *b₆*

} переносчики
1e⁻

B_6f -комплекс (димер) в «реальном виде»



Цитохромы-b6 – фиолетовые ленточки,

Субъединицы IV - серые,

Белок Риске - оранжевые

Цитохромы f - темно-синие

Малые субъединицы (PetG, PetL, PetM и PetN) - светло-розовые.

Гемы bH, bL f - красные

Дополнительный гем - темно-красный.

β - каротин - оранжевый,

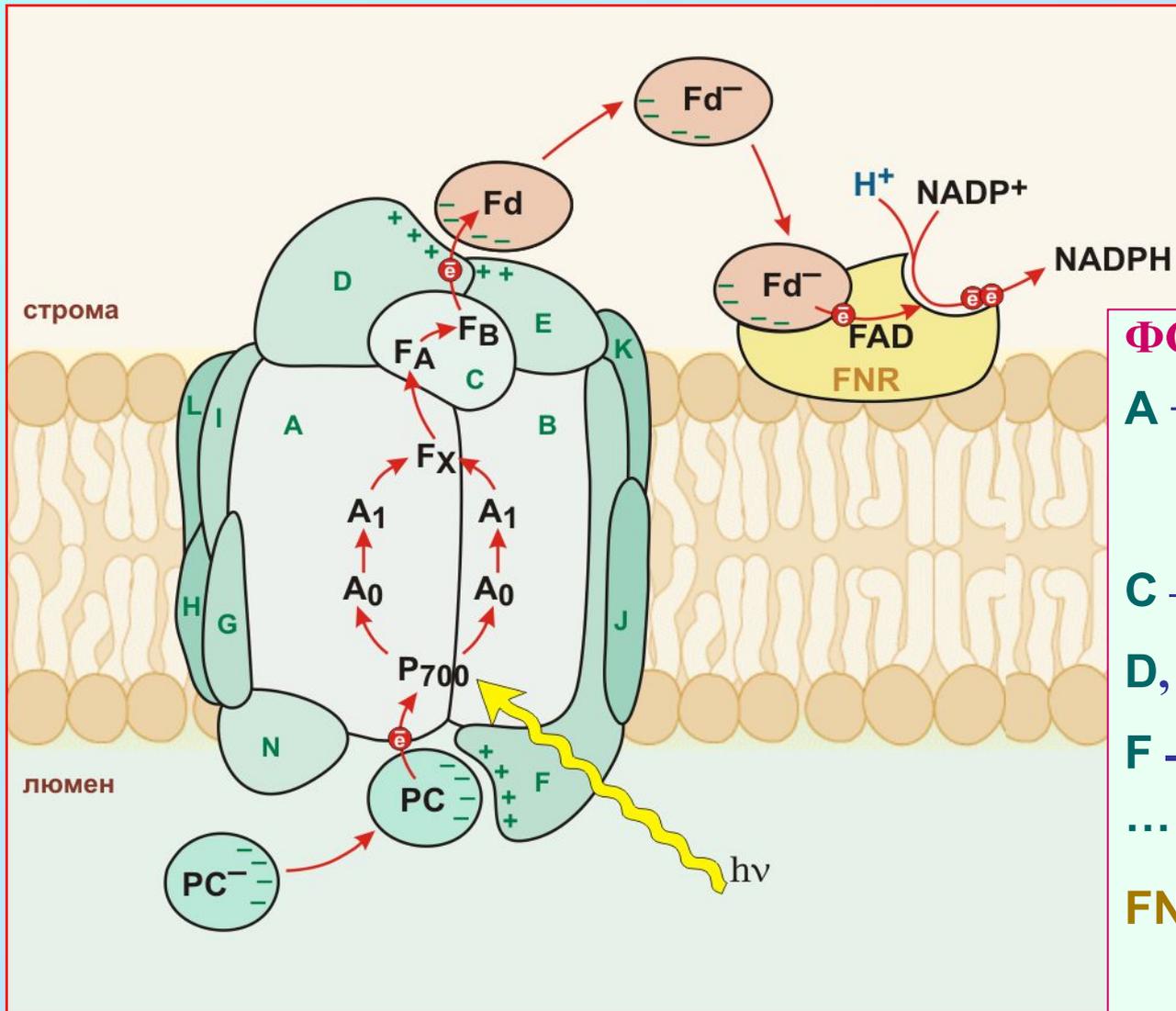
Хлорофилл - темно-зеленый

(центральный ион магния – желтый шарик),

Железо-серные кластеры - красные и зеленые шарики.

Дополнительные гемы в Q цикле не работают...

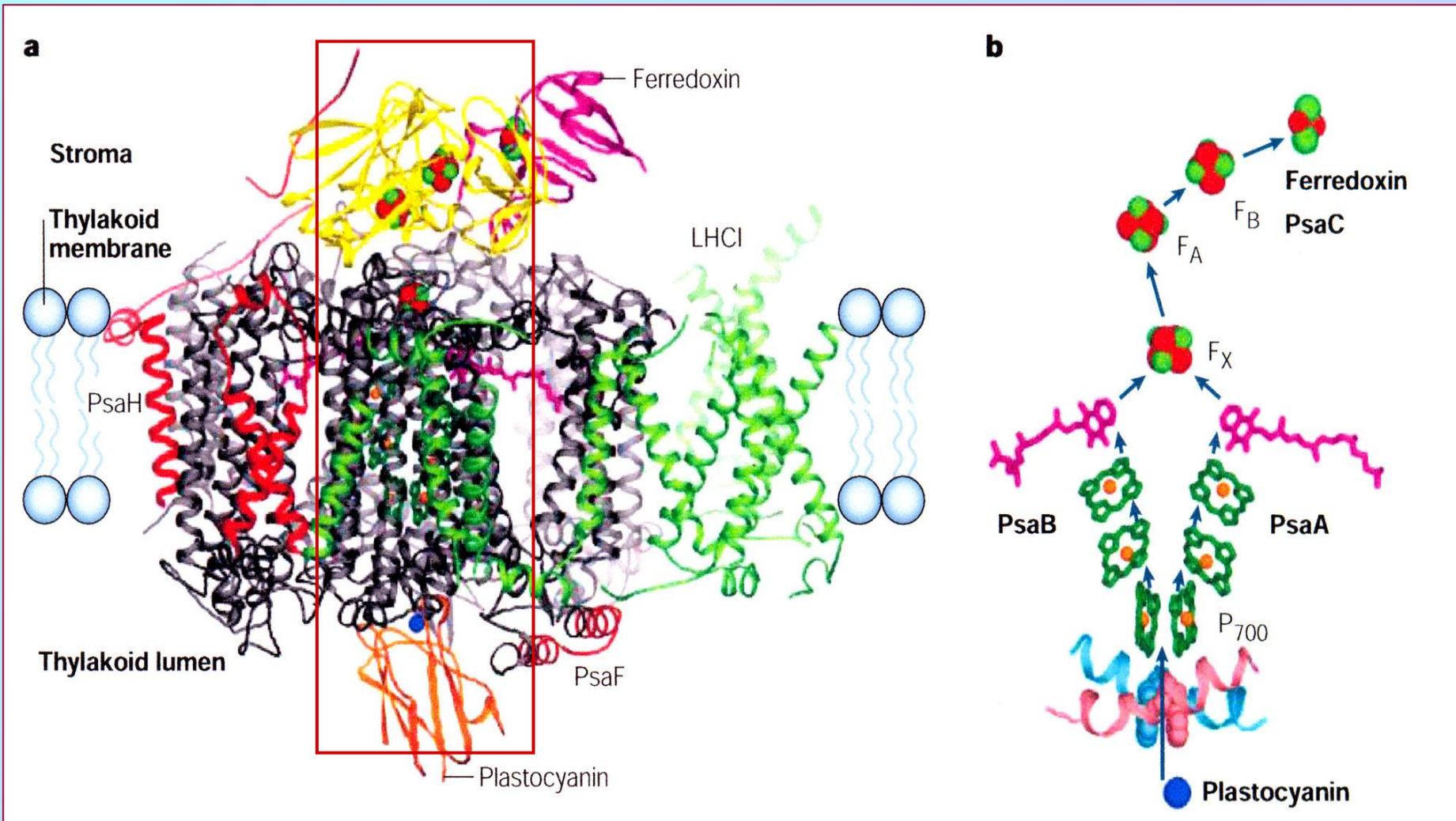
Фотосистема I: схема реакционного центра (РЦ)



ФСИ – 13 белков:

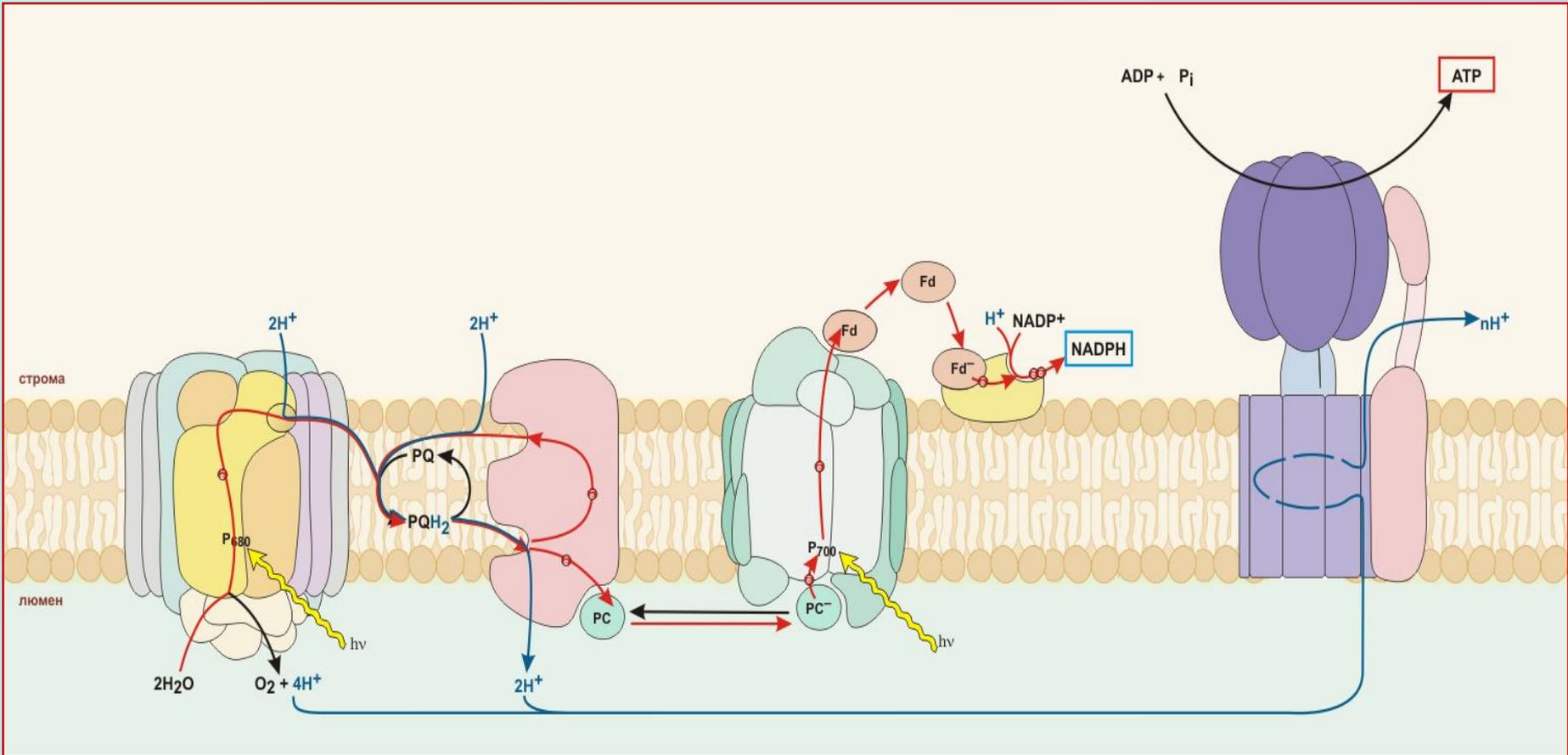
- A + B** – гетеродимер, на нем: P_{700}, A_0, A_1, F_x
- C** – на нем F_A, F_B
- D, E** – связь с Fd
- F** - связь с PC
- ...
- FNR** – Fd:NADP⁺-редуктаза (содержит FAD)

Фотосистема I в «реальном виде»



В отличие от бактериального РЦ, в ФСI скорее всего работают обе ветви транспорта электронов

ЭТЦ хлоропластов: образование NADPH и АТФ

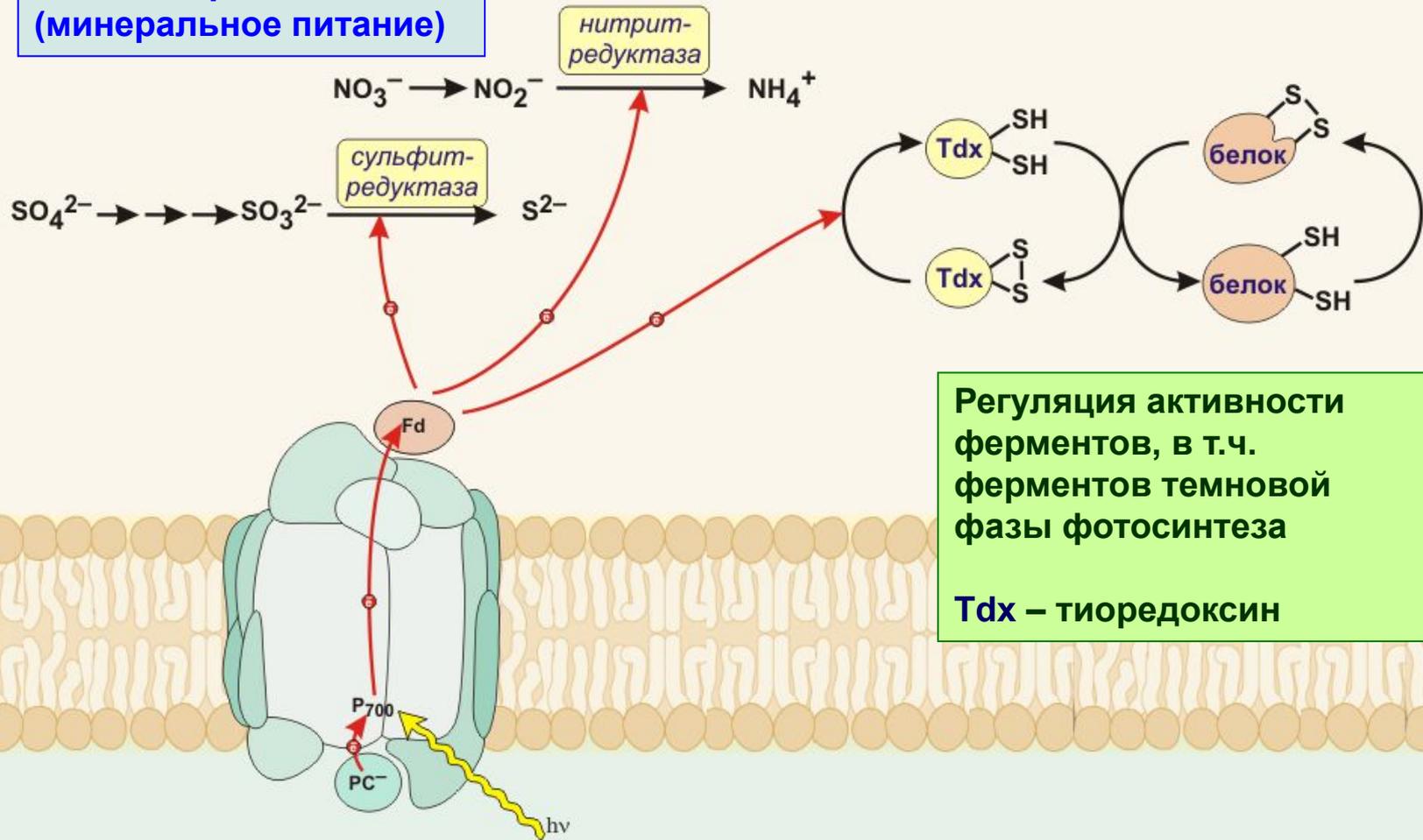


Количественное соотношение компонентов в ЭТЦ

ФС I	ФС II	cytb ₆ f	LHCII	PQ	PC	Fd
1	1,8-2	1,5	8	8-20	6-8	10

Другие варианты использования электронов с ферредоксина

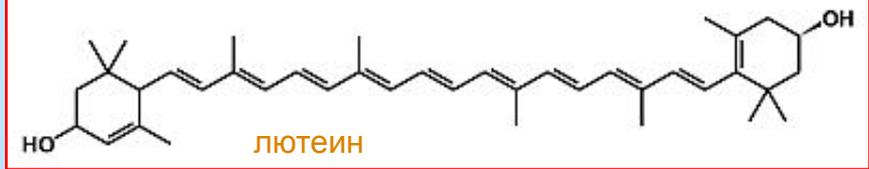
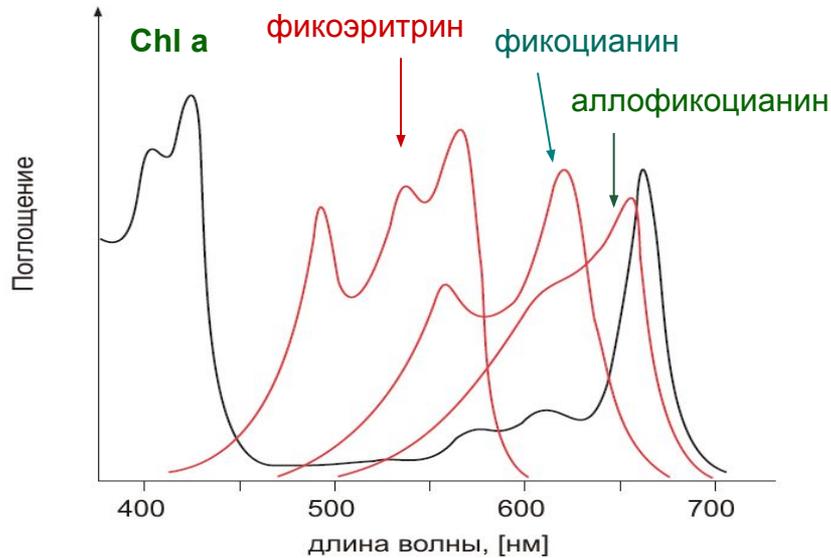
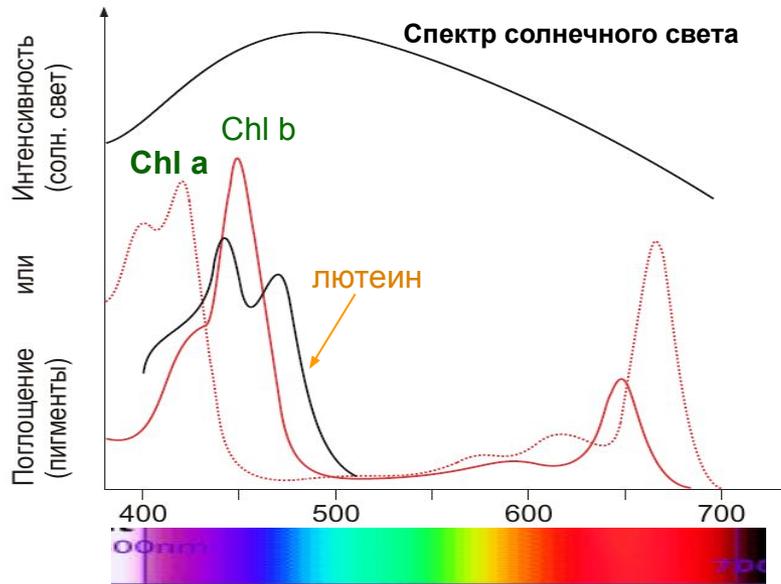
Восстановление азота и серы (минеральное питание)



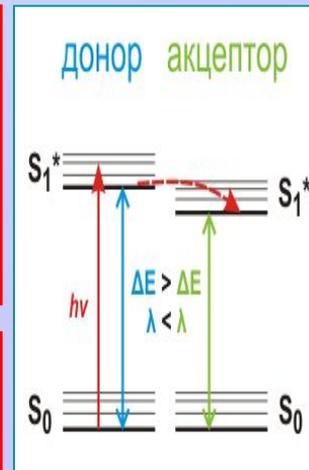
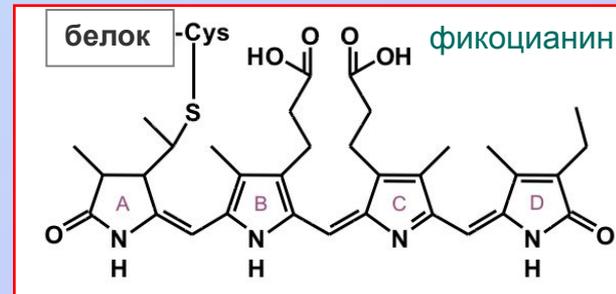
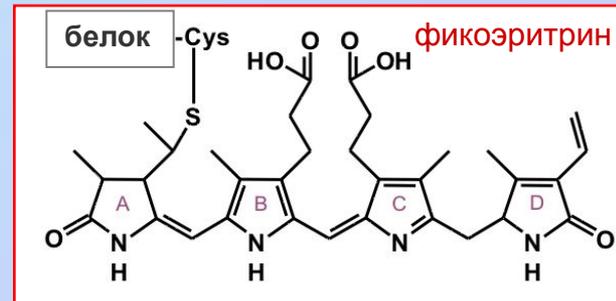
Регуляция активности ферментов, в т.ч. ферментов темновой фазы фотосинтеза

Tdx – тиоредаксин

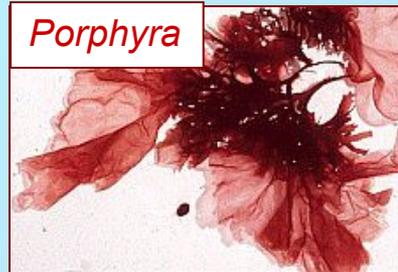
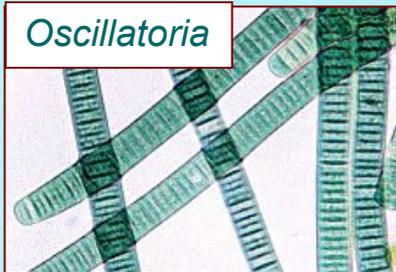
Антенны: дополнительные пигменты



	Внутренние антенны	Внешние антенны
Высшие растения	Chla + каротиноиды	Chla + Chlb + каротиноиды
Цианобактерии	Chla + каротиноиды	Chla + фикобилины



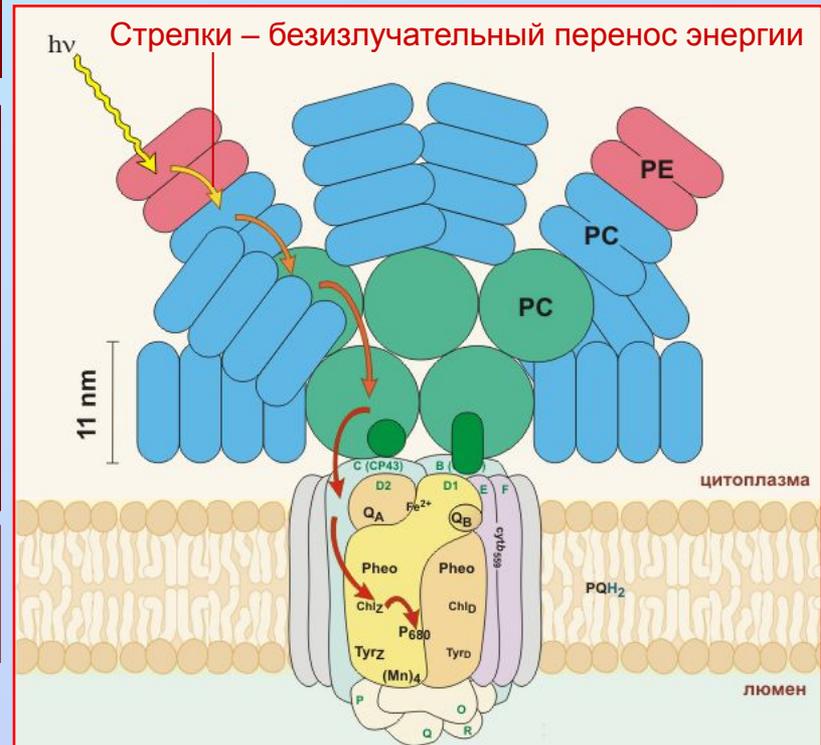
Антенны. Фикобилисомы – светособирающий комплекс цианобактерий и красных водорослей



ПИГМЕНТ	λ_{\max} ПОГЛОЩЕНИЯ
PE – фикоэритрины	570 нм
PC – фикоцианины	630 нм
AP – аллофикоцианины	650 нм
Chla	670 нм
Chla	678 нм
(Chla) ₂	680 нм

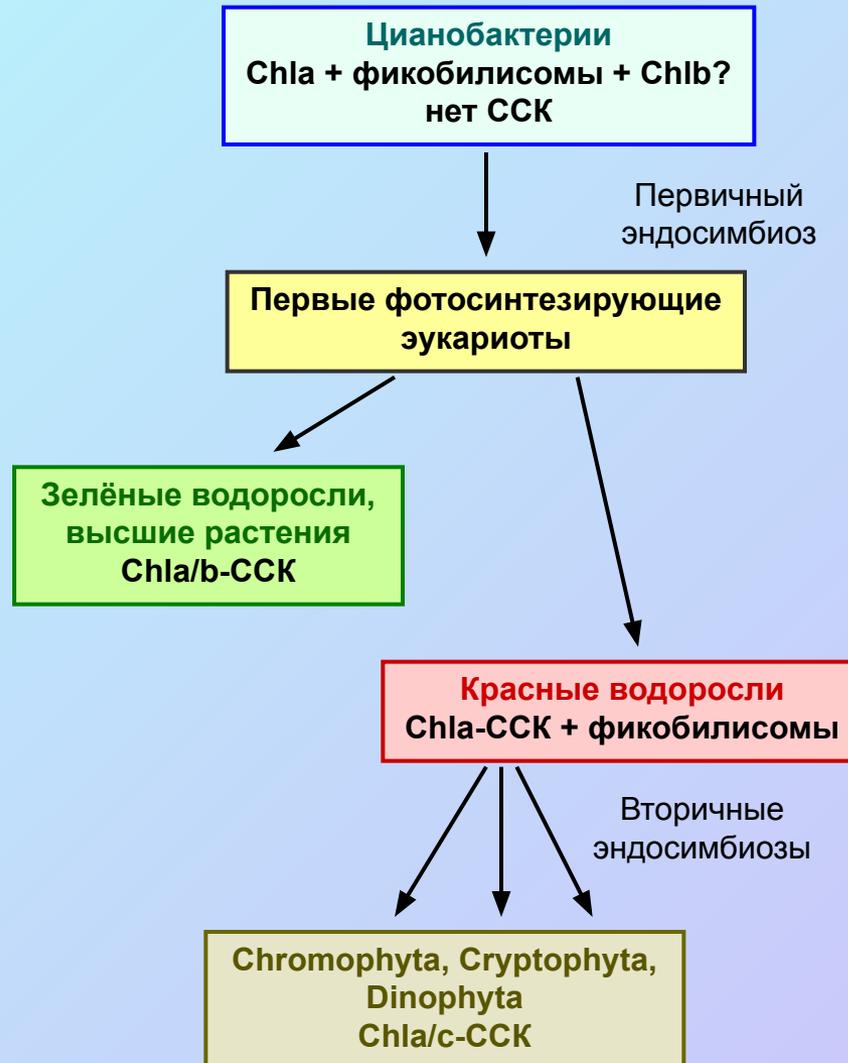
Фикобилисома

РЦ



После поглощения $h\nu$ РЦ «закрывается на фотохимию» – и надолго. Для эффективной работы РЦ после его «открытия» он должен сразу получить следующий квант. Квантами РЦ снабжают антенны: пигменты (хлорофиллы, каротиноиды), расположенные на специальных белках.

Фикобилипротеиды. По набору пигментов в антенных комплексах можно заключить, что симбиоз фототрофов происходил неоднократно..



Антенны. Светособирающие комплексы различных организмов

А – хлорозома зеленых серных бактерий (*Chlorobium*)

ССК расположен на цитоплазматической стороне мембраны, содержит более 10000 м-л BChl c (B750) связанного с белками, окружен мембраной. В основании – белки с BChl a (B790). В мембране – интегральный ССК с BChl a (B804) и РЦ с BChl a (пара P840)

В – фикобилисома цианобактерий и красных водорослей (*Rhodophyta*)

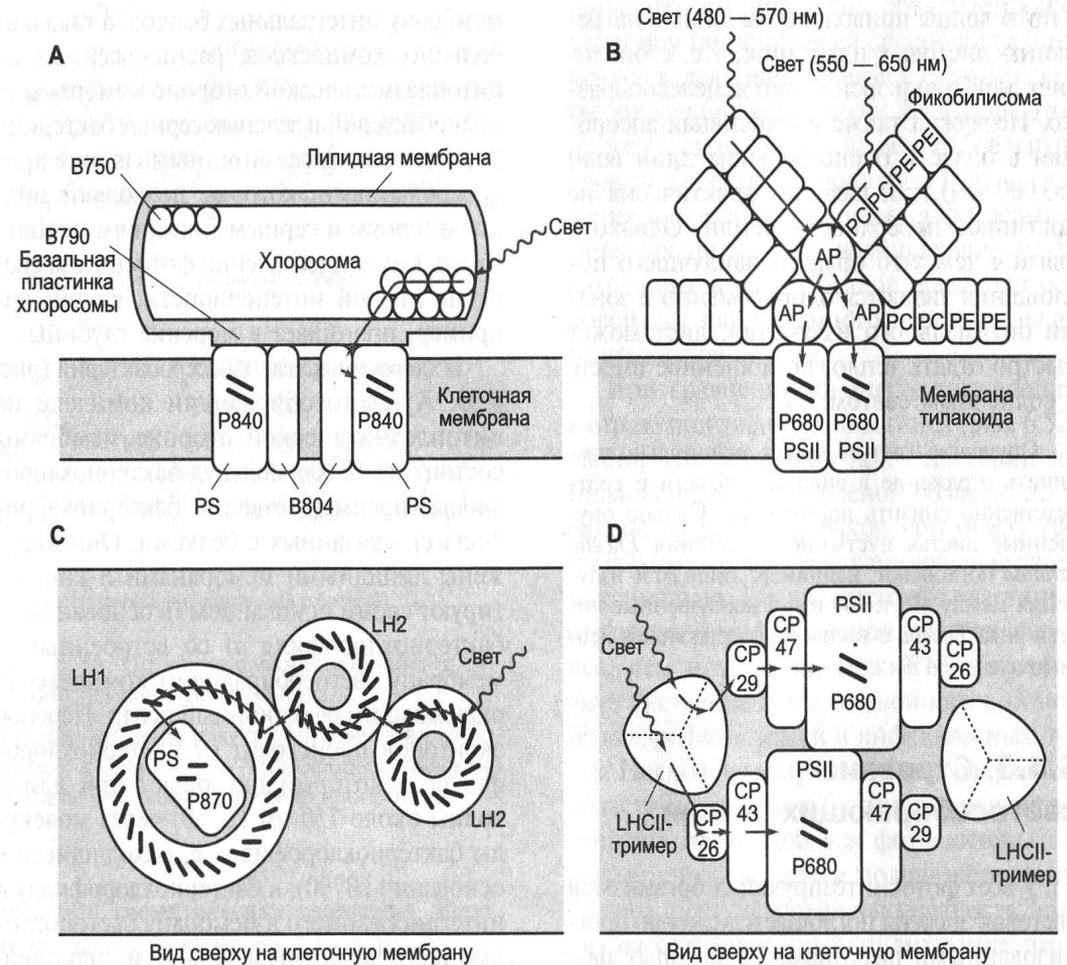
~ 400 фикобилисом на мкм²

С – антенны пурпурных бактерий

Встроены в цитоплазматическую мембрану. LH1 кольцом окружает РЦ, содержит каротиноиды и 32 молекулы BChl a . К LH1 у ряда видов присоединены 8-10 LH2 с 27 мол-ми BChl a , расположенных в два слоя.

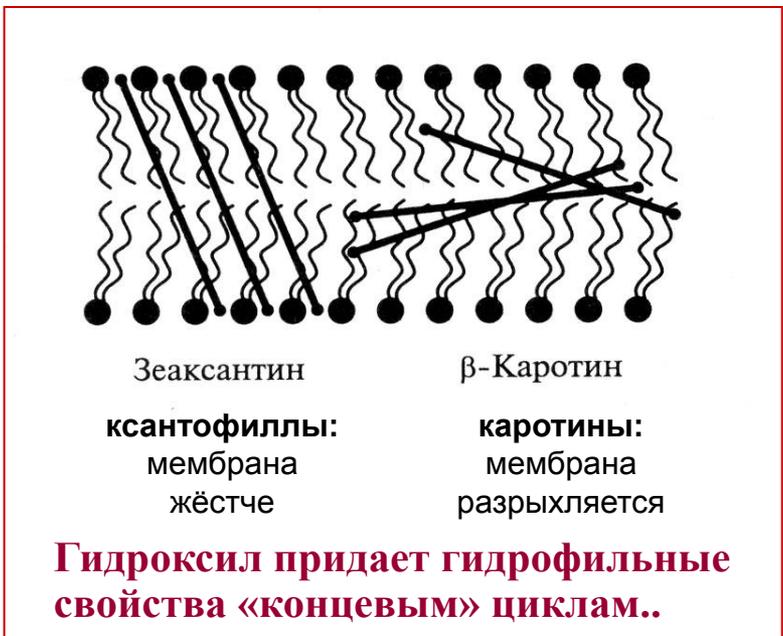
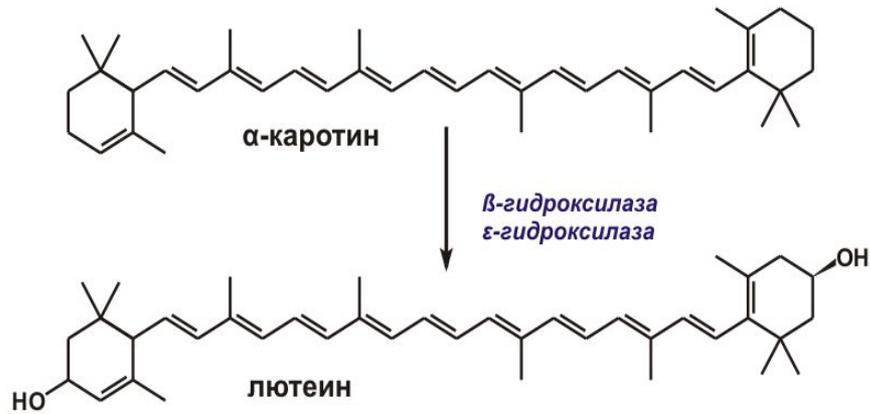
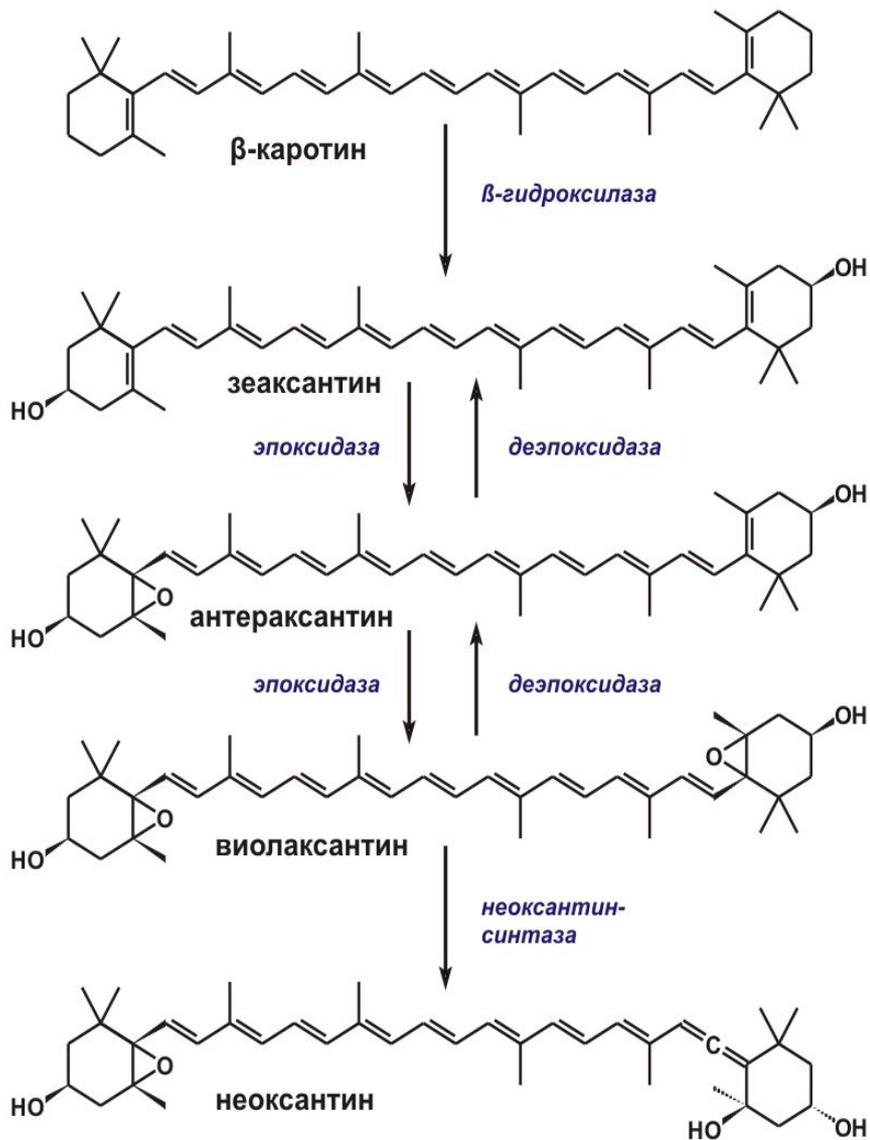
Т.о. РЦ обслуживают 250–300 BChl a .

Д – антенны высших растений.



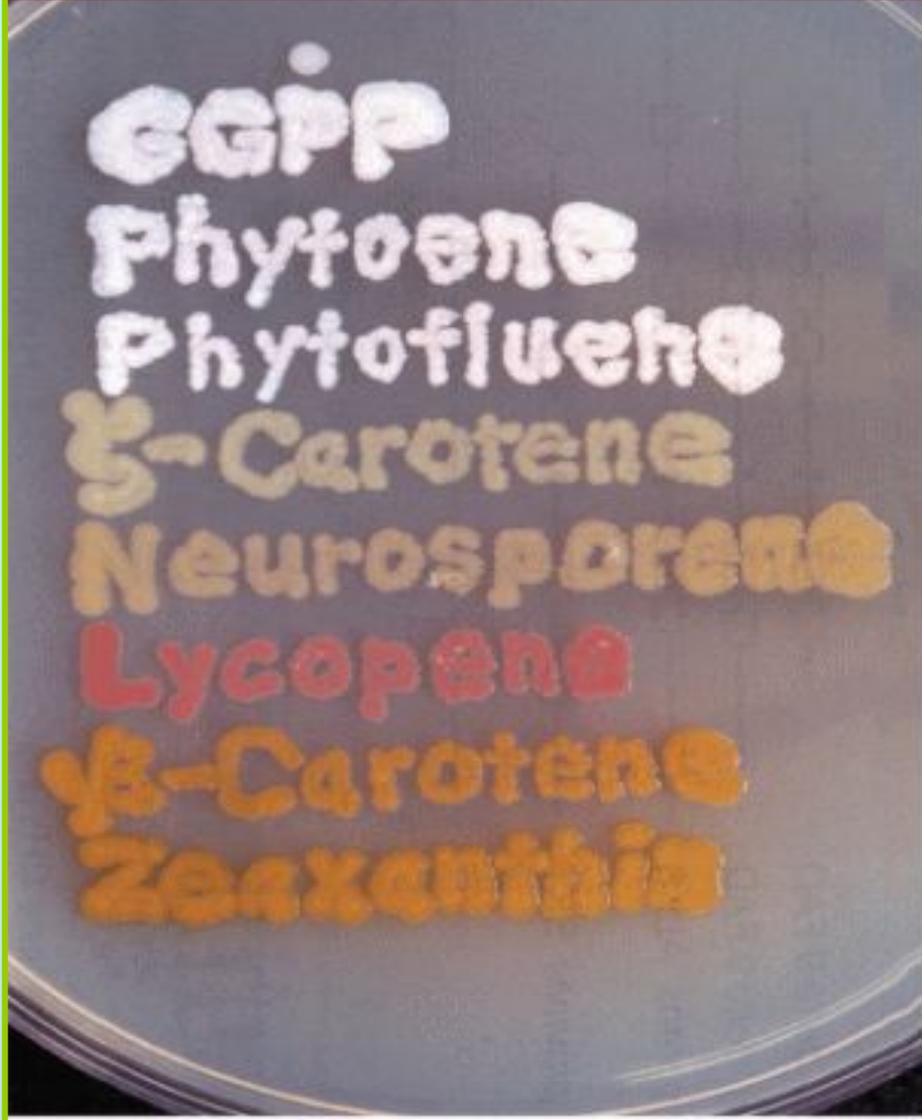
Каротиноиды: каротины и ксантофиллы – тетратерпены (C₄₀)

Различия по концевым группам, содержанию кислорода, изомерии, числу двойных связей.



Развлечения господ инженеров. Генных...

Колонии *E.coli*, экспрессирующие гены биосинтеза соответствующих каротиноидов.



λ_{max} ,
nm

286

347

400

439

472

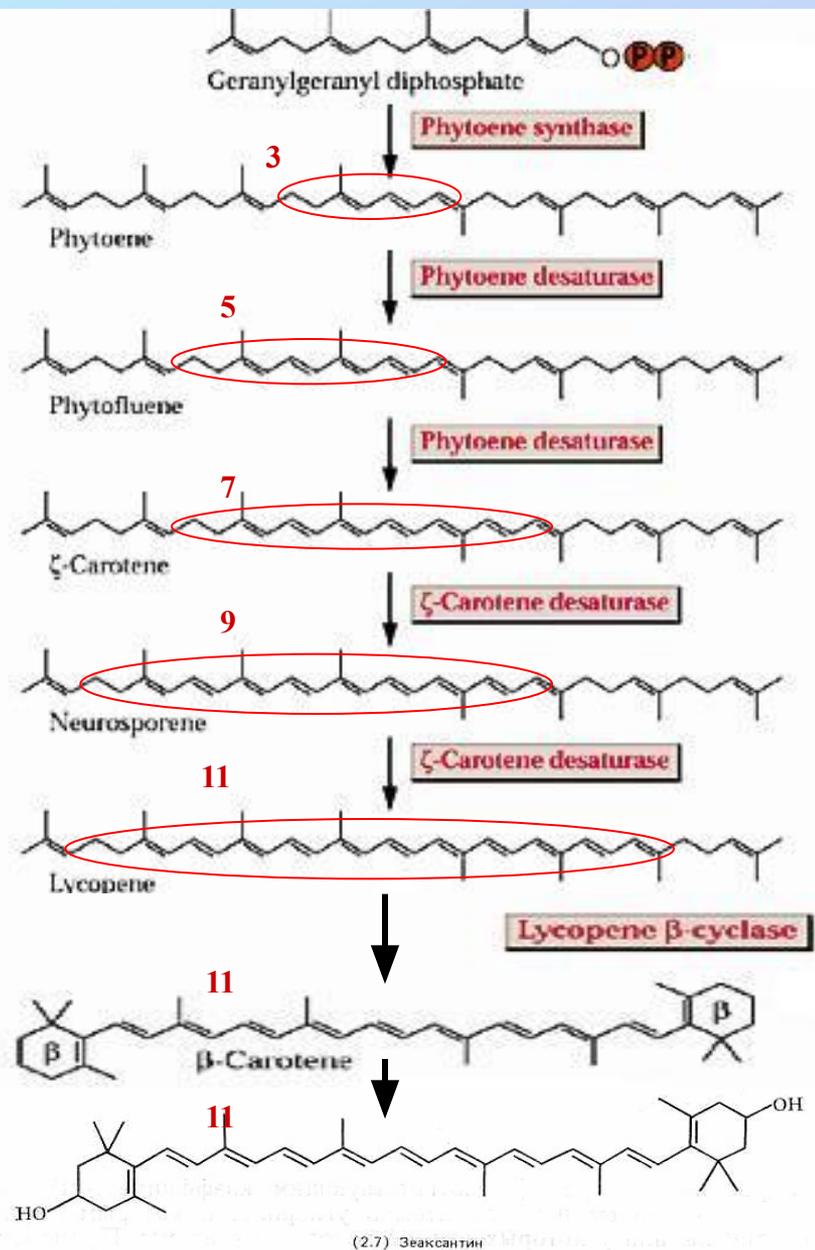
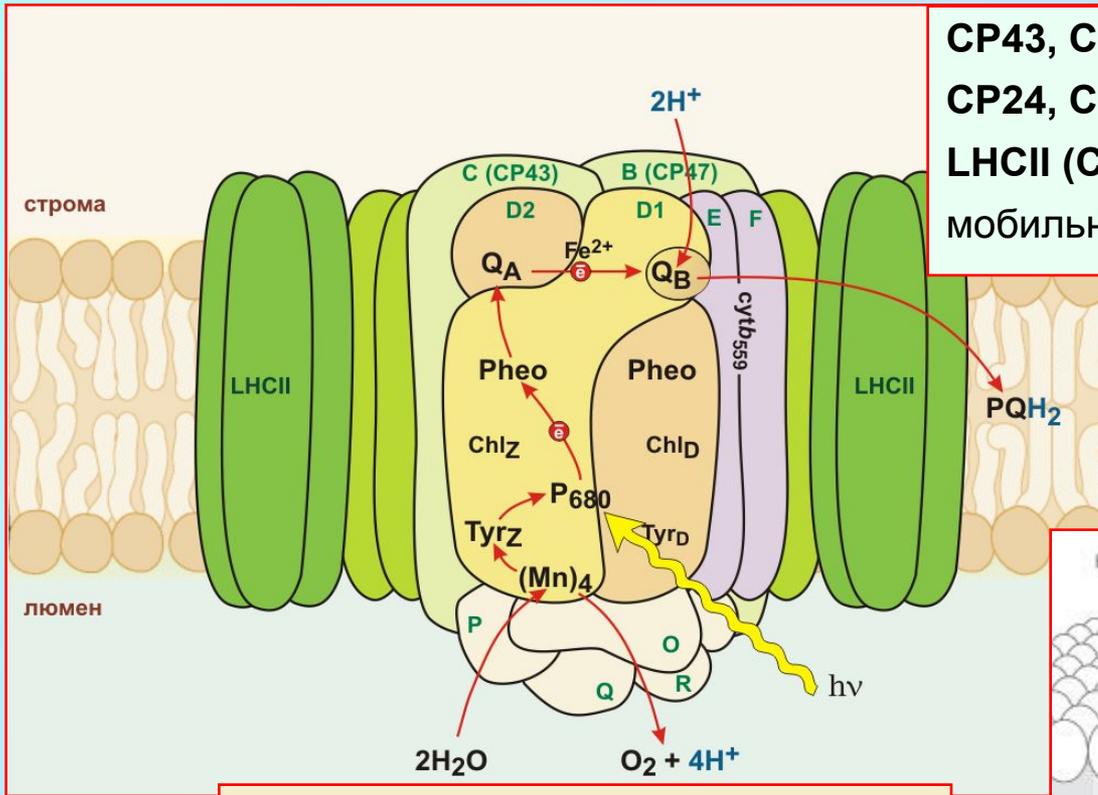
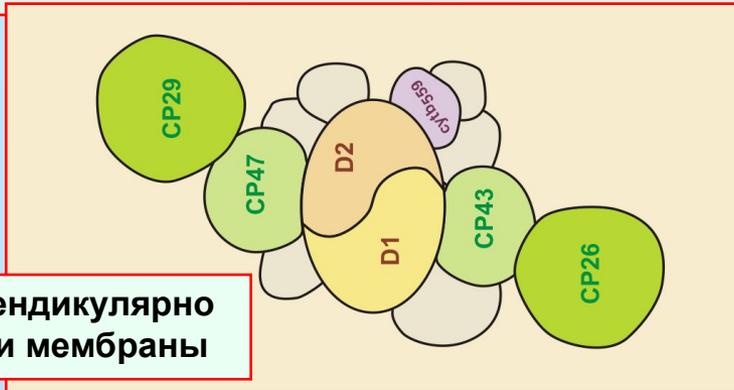


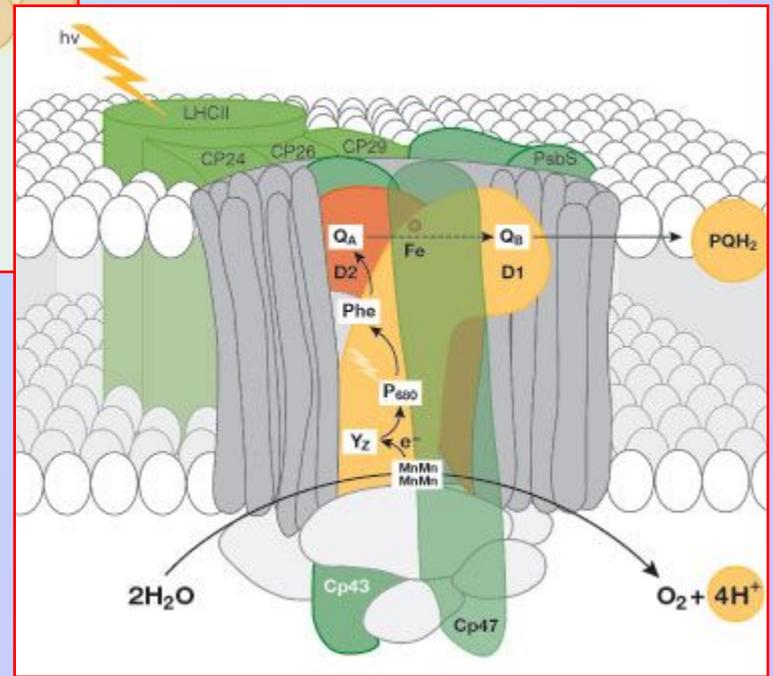
Схема мономера фотосистемы II с антенными комплексами



CP43, CP47 – внутренние антенны ФСII
 CP24, CP26, CP29 – внешние антенны ФСII
 LHCII (ССКII) – светособирающий комплекс II –
 мобильная антенна (тример)



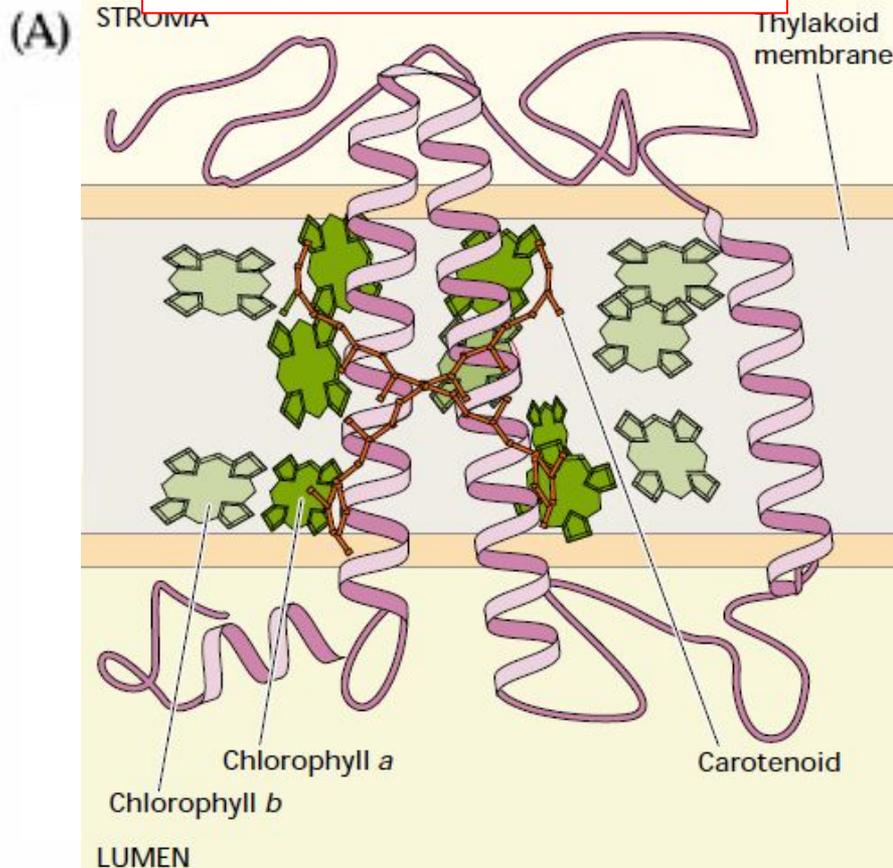
вид перпендикулярно
 плоскости мембраны



Светособирающий комплекс ЛНС II (Lhcb 1+2+3) : мономер и тример

Каждый белок содержит 7 молекул хлорофилла а, 5 молекул хлорофилла b и 2 молекулы лютеина. Молекулы хлорофилла b находятся на периферии белка, хлорофилла а – в центре белка. Расстояние между хлорофиллами – 0,5 – 3 нм.

мономер ССКII: вид «сбоку»



тример ССКII: вид «сверху»

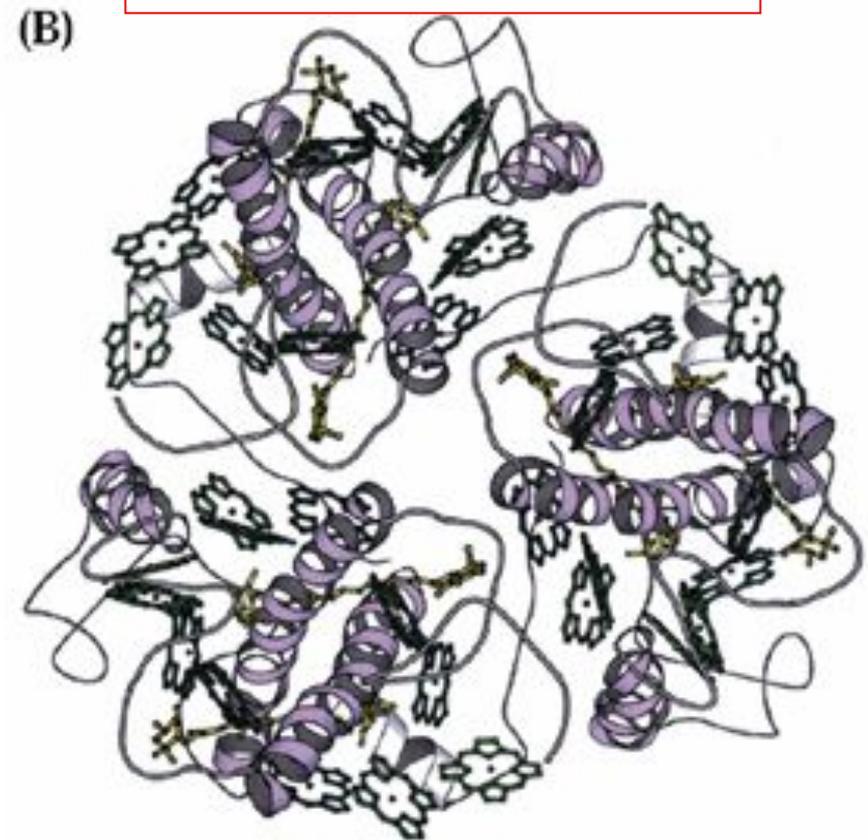
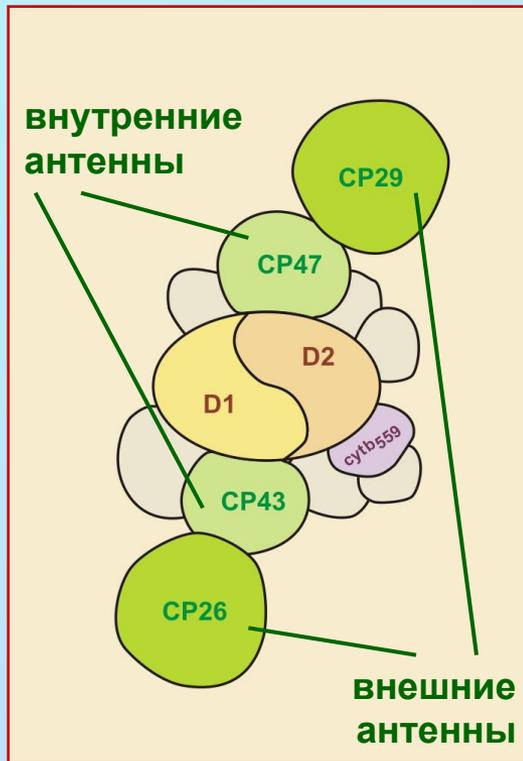


Схема мономера и димера фотосистемы II с антенными комплексами

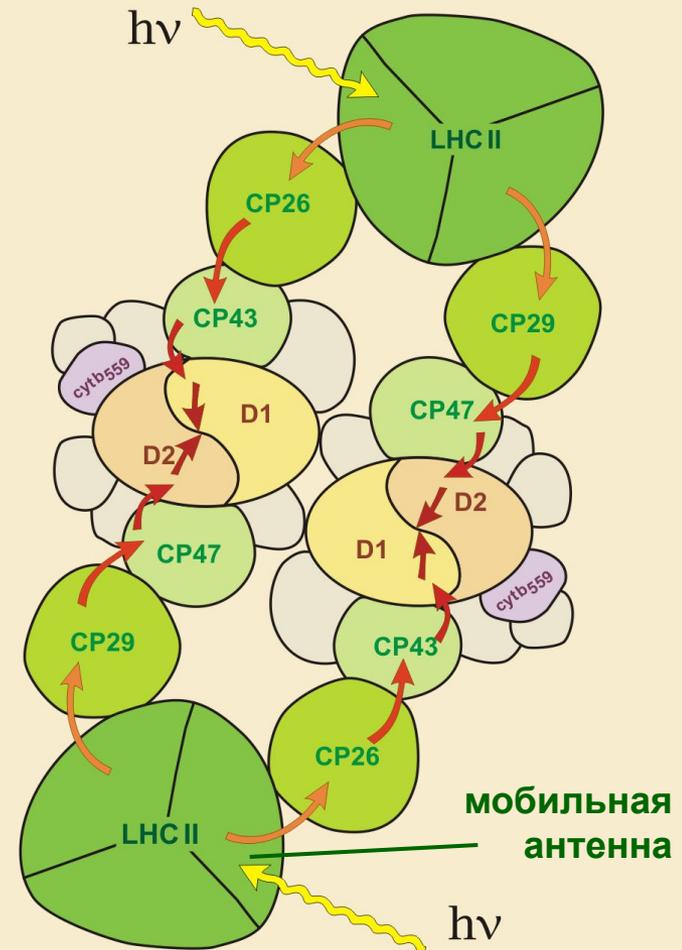
мономер ФСII:

РЦ, внутренние и внешние антенны



димер ФСII:

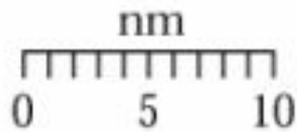
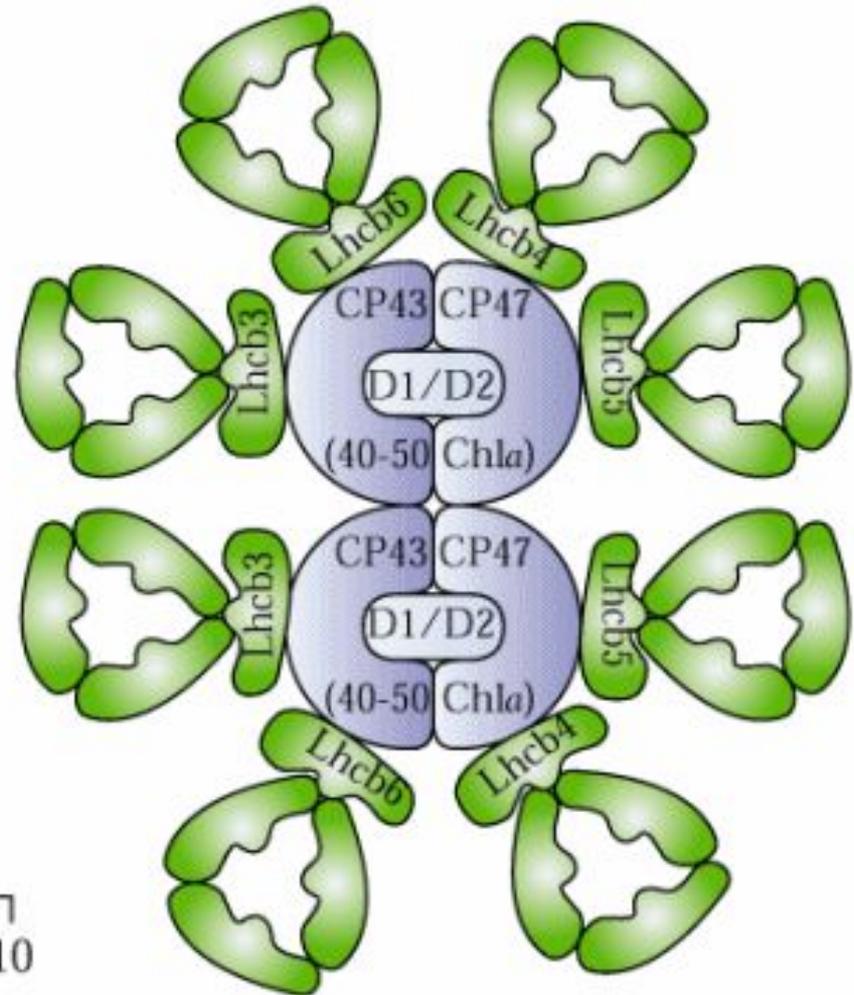
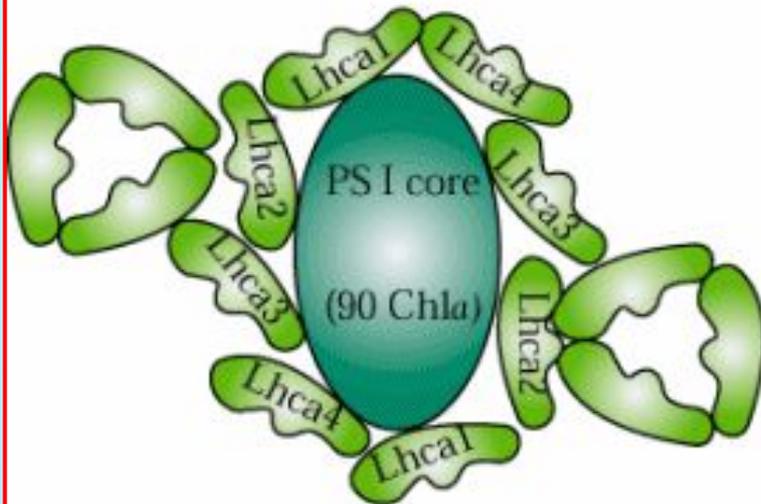
РЦ, внутренние, внешние антенны
мобильные антенны (LHCII=ССКII)



Светособирающие комплексы фотосистем I и II



ССКII (тример)



Photosystem I

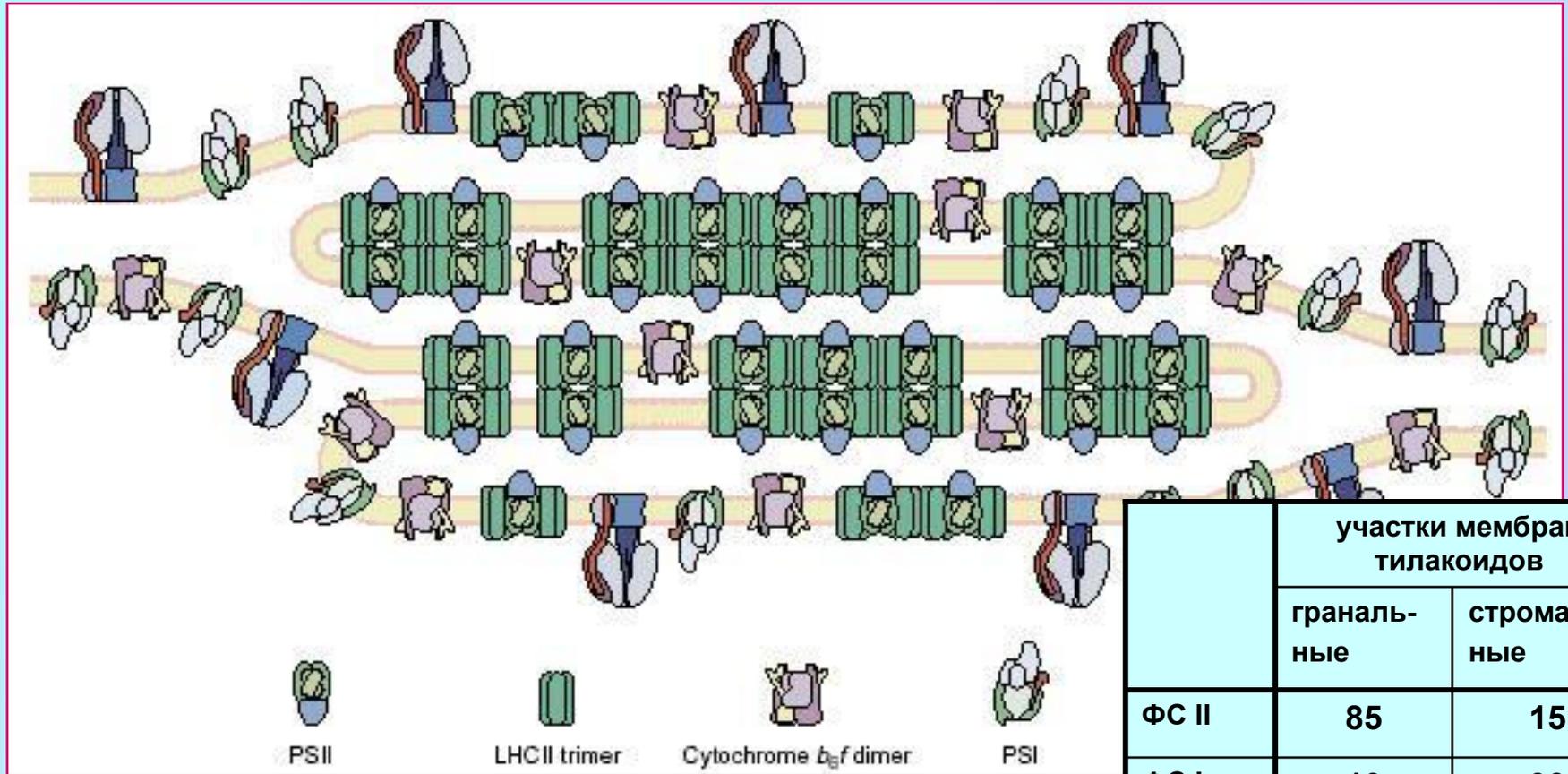
Photosystem II

Состав хлорофилл-белковых комплексов ФСІ и ФСІІ

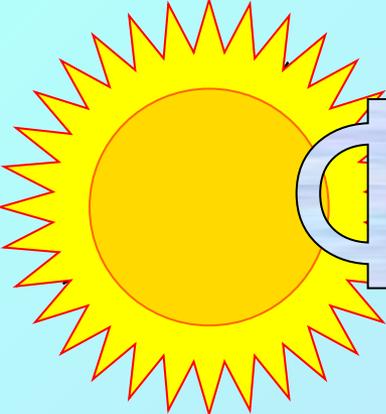
Фото система	Реакционный центр	Внутренние антенны (фокусирующие)	Внешние антенны	Мобильная антенна ССКІІ
ФСІІ	D ₁ , D ₂ , cytb ₅₅₉ 6 Chla, 2 β-car	CP43, CP47 30-40 Chla, 8 β-car	CP24, CP26, CP29 и др. (=Lhcb6,5,4) По 50-60 Chla+Chlb на каждом белке (a/b=1,5), ксантофиллы	Lhcb1,2,3 7 Chla + 5 Chlb + 2 Lut на каждом белке
ФСІ	A, B 6 Chla, 2 β-car	те же A, B ~90 Chla, ~15 β-car	Lhca1,2,3,4 (ССК I) Chla+Chlb (a/b=2,5), ксантофиллы	

Одна «фотосинтетическая единица» – т.е. одна ЭТЦ (от ФСІІ до ФСІ) – «обслуживается» порядка 500 молекулами пигментов: хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды.

Гетерогенность тилакоидных мембран



	участки мембран тилакоидов	
	граналь-ные	стромаль-ные
ФС II	85	15
ФС I	10	90
cyt b_6f	50	50
LHCII	90	10
PQ	40	60
АТФ-синтаза	0	100



ФОТОВЫЦВЕТАН



Hosta
'Golden Haze'



Hosta
'Piedmont Gold'



Hosta sieboldiana
'Elegans'

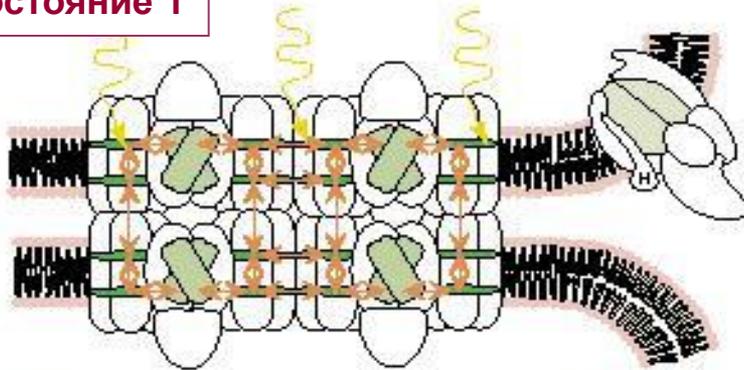


Механизмы регулирования и защиты ФСII от фотодеструкции

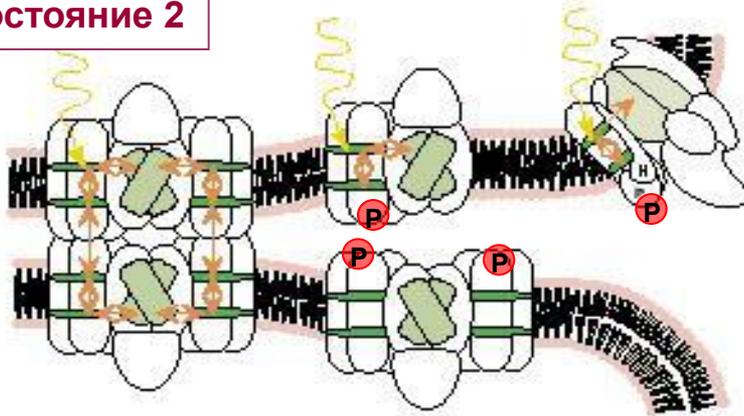
- *нециклический поток*, регулирование мобильными антеннами;
- *циклические потоки* вокруг каждой фотосистемы;
- *псевдоциклический транспорт* электронов
- *Хлоропластное дыхание - ?*
- *виолоксантиновый цикл*
- *«тушение» триплетного состояния хлорофилла каротиноидами*
- *«обезвреживание» активных форм кислорода каротиноидами*
- *каротиноиды «на заклатие»*
- *замена D1-белка*

Регулирование поглощения света мобильными антеннами

Состояние 1



Состояние 2



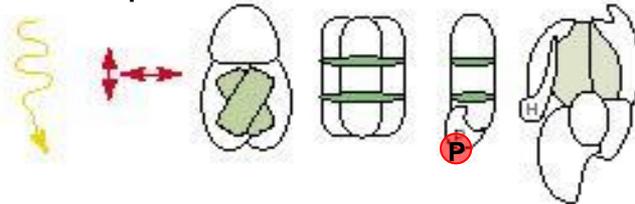
поглощ.
света

перенос
энергии

ФСII

ССКII

ФСI



Состояние 1 при низкой освещённости:
ССКII у ФСII

При повышении освещённости
состояние 1 \square состояние 2:

перевосстановление пула PQ
активация протеинкиназы
фосфорилирование ССКII

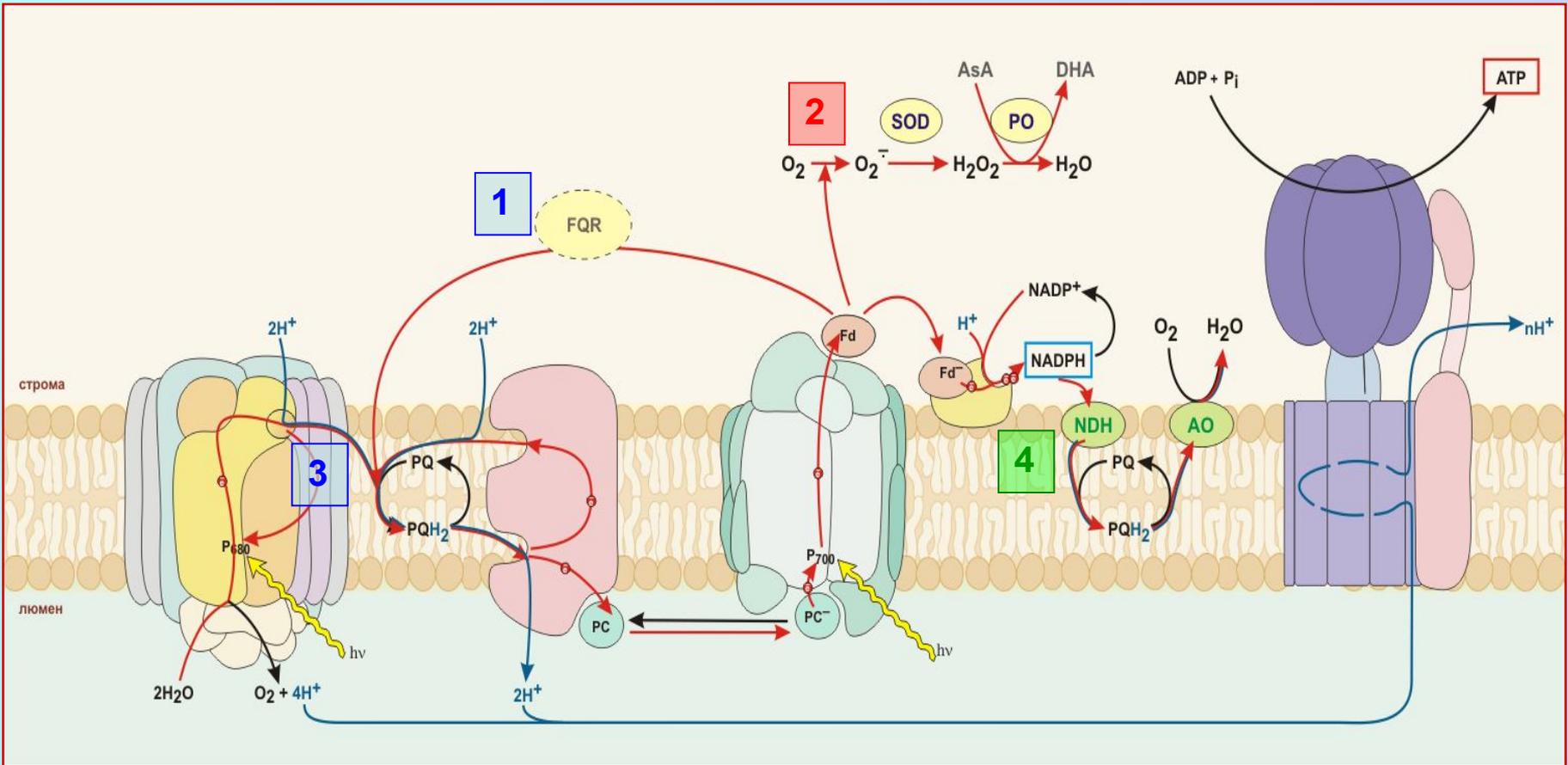
- Ⓟ-ССКII отходит от ФСII, грани частично распадаются
- Ⓟ-ССКII пристыковывается к ФСI

Состояние 2 при высокой освещённости:
ССКII у ФСI

При снижении освещённости
состояние 2 \square состояние 1:

окисление пула PQ
активация протеинфосфатазы
дефосфорилирование ССКII
ССКII отходит от ФСI
ССКII пристыковывается к ФСII
грани снова слипаются

Варианты электронного транспорта в ЭТЦ хлоропластов



Варианты транспорта e^- :

0 – Нециклический транспорт e^- (основной путь)

1 – Циклический транспорт e^- у фотосистемы I

2 – Псевдоциклический транспорт электронов (р-ция Мелера – сброс e^- на O_2)

3 – Циклический транспорт e^- у фотосистемы II

4 – Хлоропластное дыхание (= хлородыхание)

Продукты:

ATP, NADPH

ATP

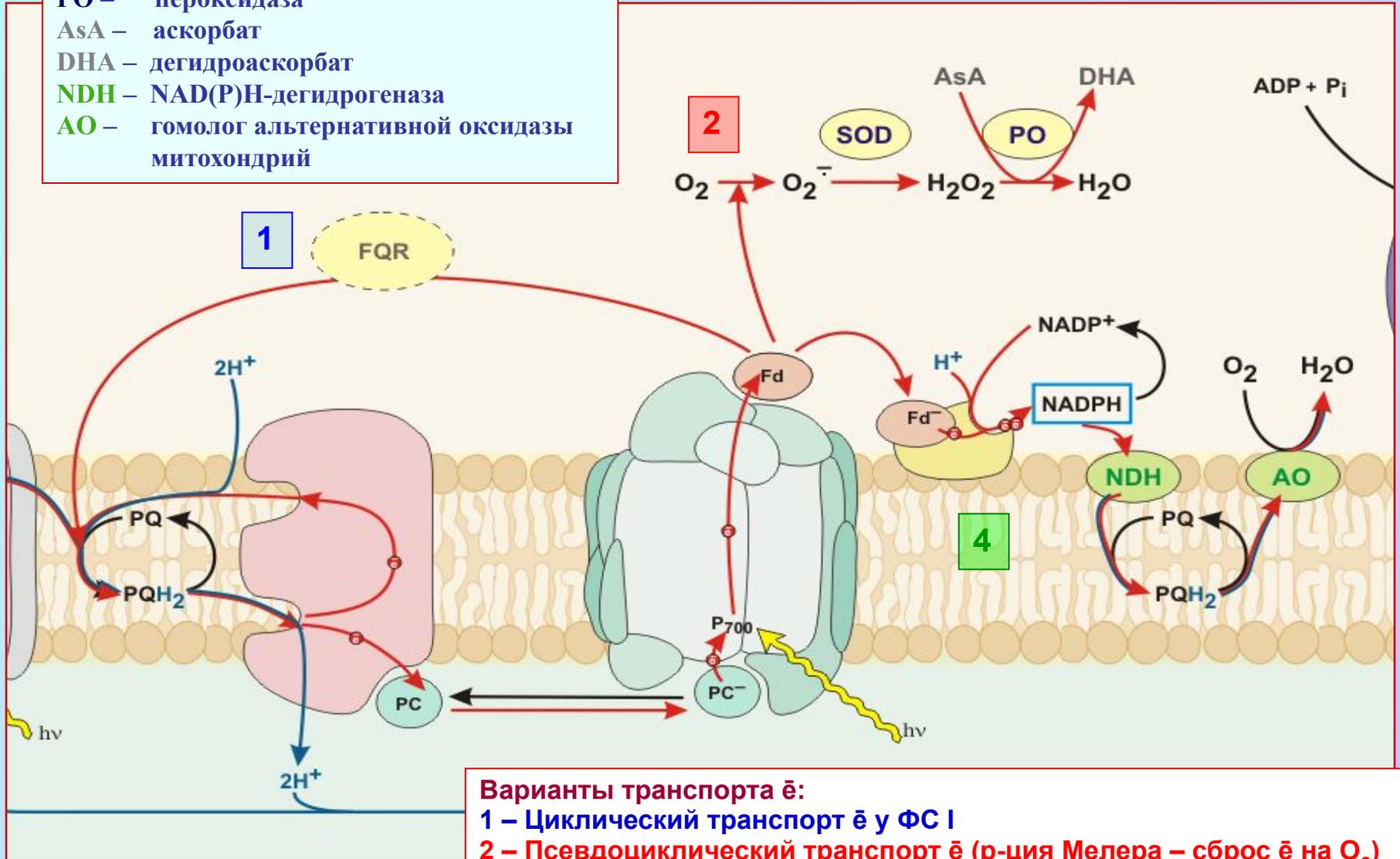
ATP

—

ATP

Варианты электронного транспорта в ЭТЦ хлоропластов, чуть подробнее...

FQR – Fd:PQ-оксидоредуктаза
SOD – супероксиддисмутаза
PO – пероксидаза
AsA – аскорбат
DHA – дегидроаскорбат
NDH – NAD(P)H-дегидрогеназа
AO – гомолог альтернативной оксидазы митохондрий



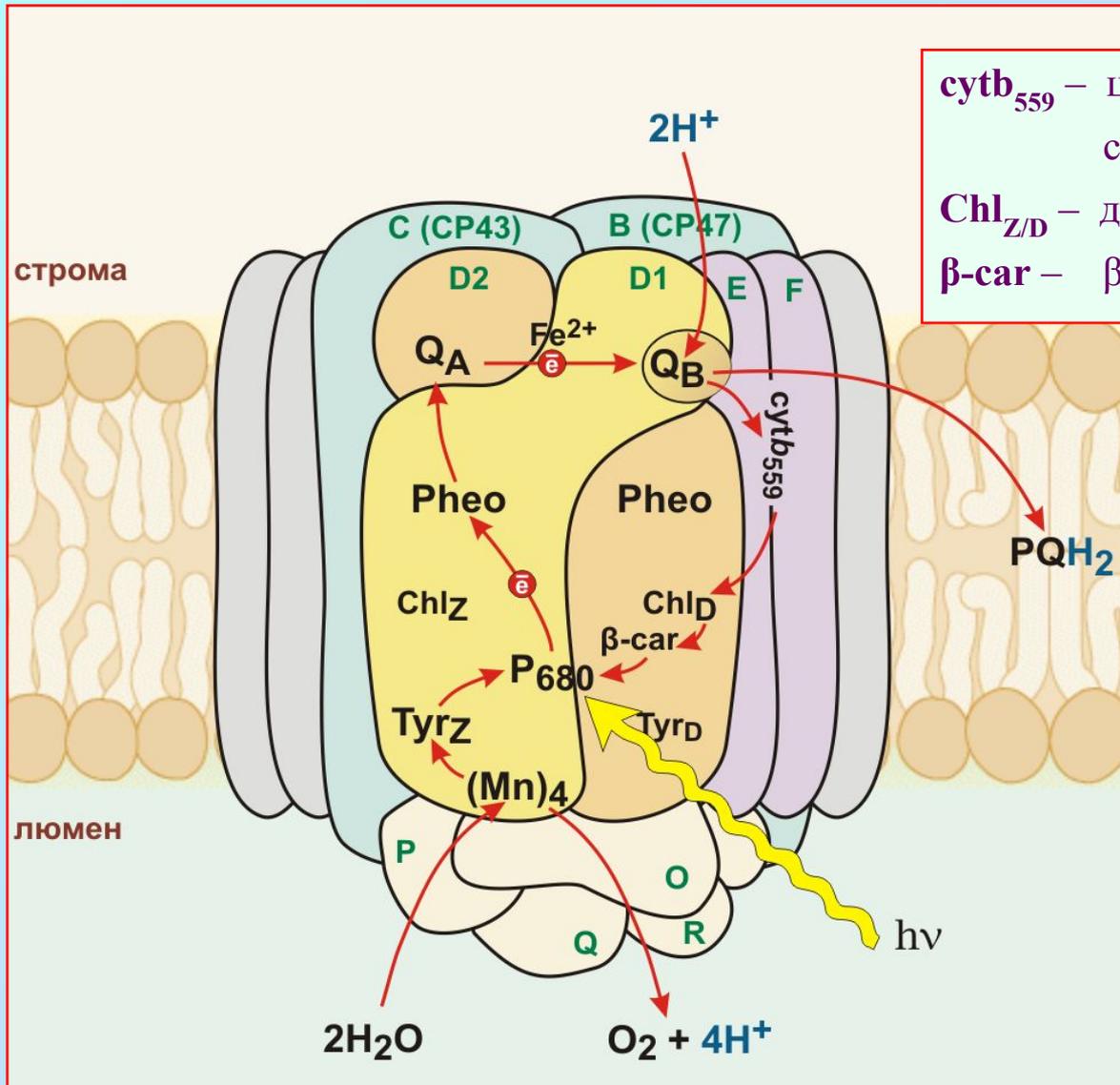
Варианты транспорта e⁻:

1 – Циклический транспорт e⁻ у ФС I

2 – Псевдоциклический транспорт e⁻ (р-ция Мелера – сброс e⁻ на O₂)

4 – Хлоропластное дыхание (= хлородыхание)

Циклический поток электронов вокруг фотосистемы II



cytb₅₅₉ – цитохром b₅₅₉ – периферические субъединицы ФСII

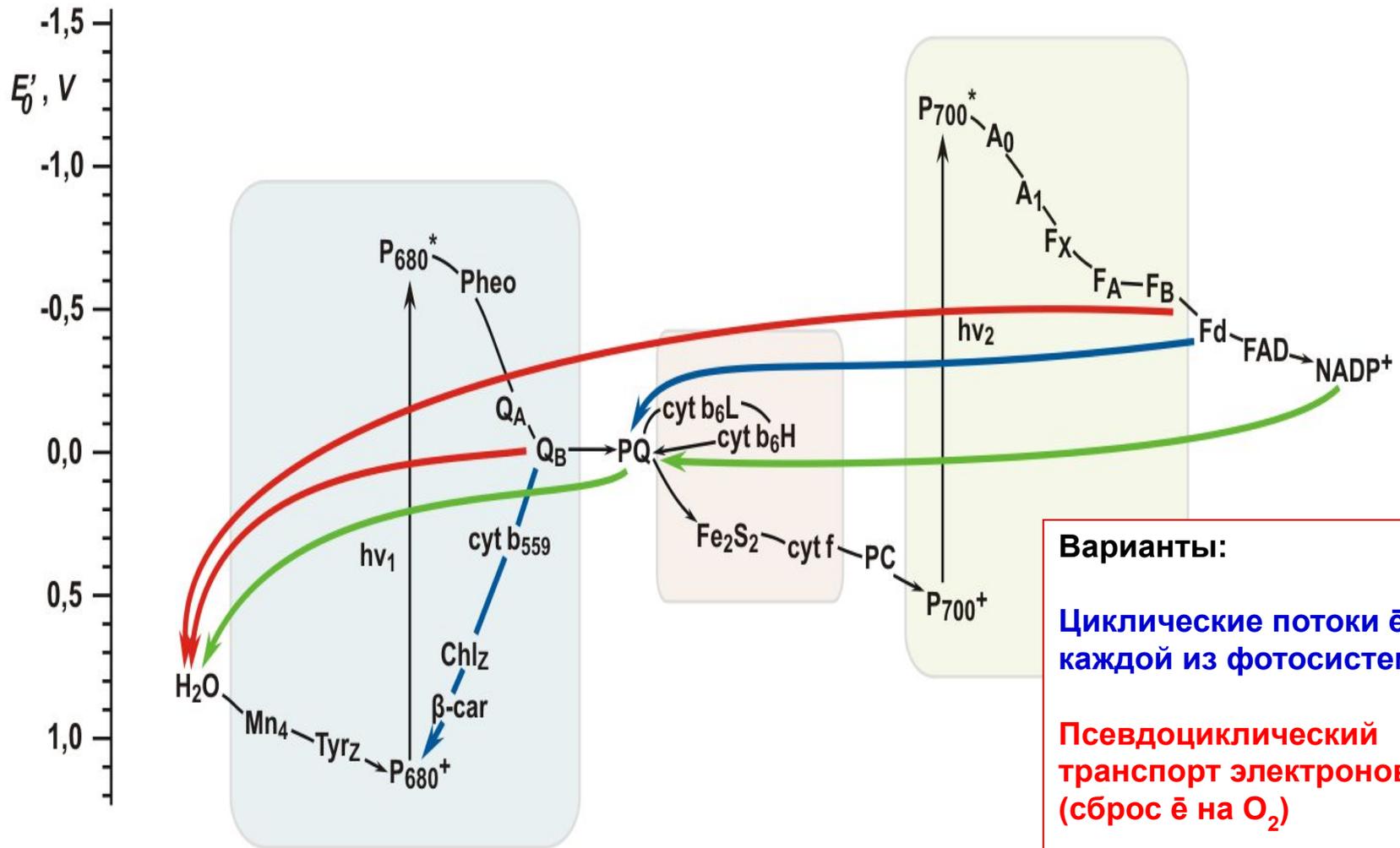
Chl_{Z/D} – дополнительные хлорофиллы

β -car – β -каротин

Работает при нарушении донорной части ФСII (водоокисляющего комплекса и его окрестностей)

или при перевосстановлении пула PQ

Варианты работы ЭТЦ фотосинтеза: Z-схема



Варианты:

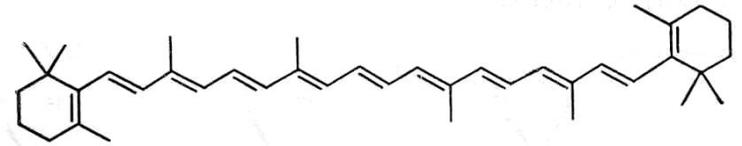
Циклические потоки e^- у каждой из фотосистем

Псевдоциклический транспорт электронов (сброс e^- на O_2)

Хлоропластное дыхание

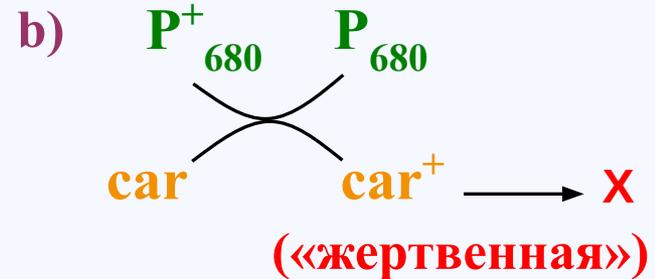
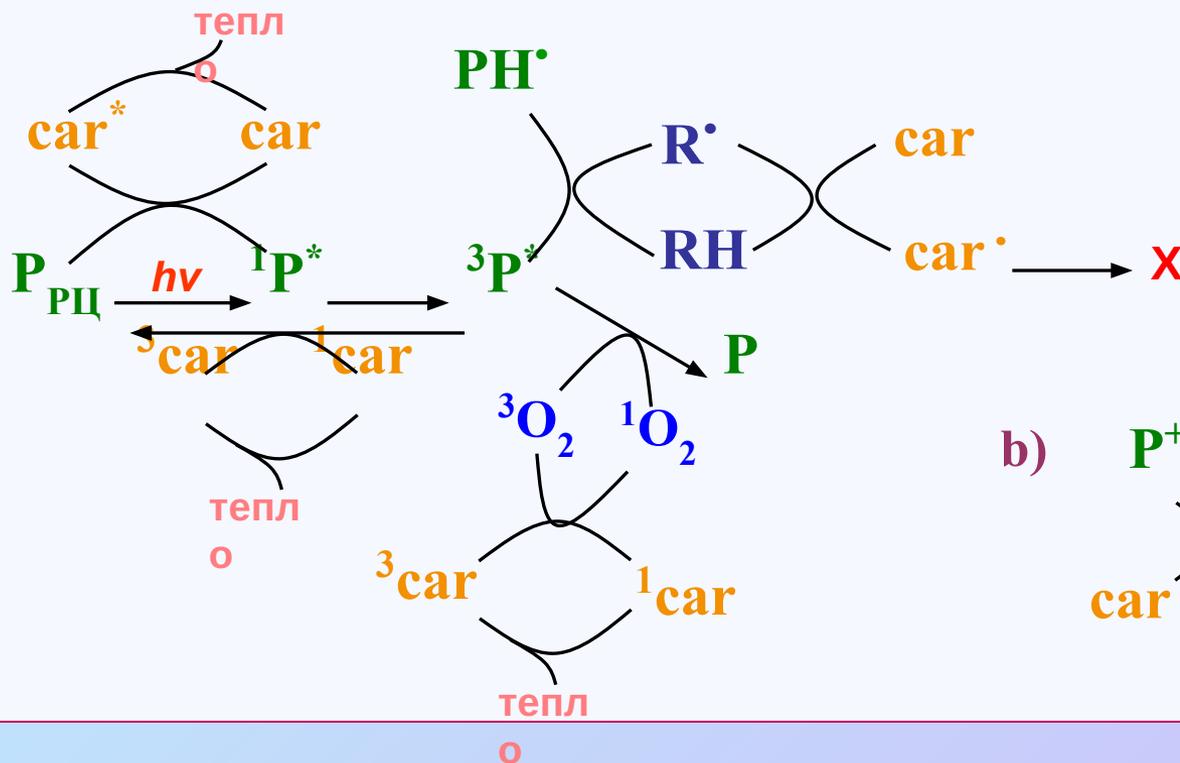
Функции каротиноидов

1. Антенны (400 – 500 нм)
2. Структурная (организация ССК)
3. Фотопротекторная (виолаксантиновый цикл)
4. Защита от УФ и высоких интенсивностей света

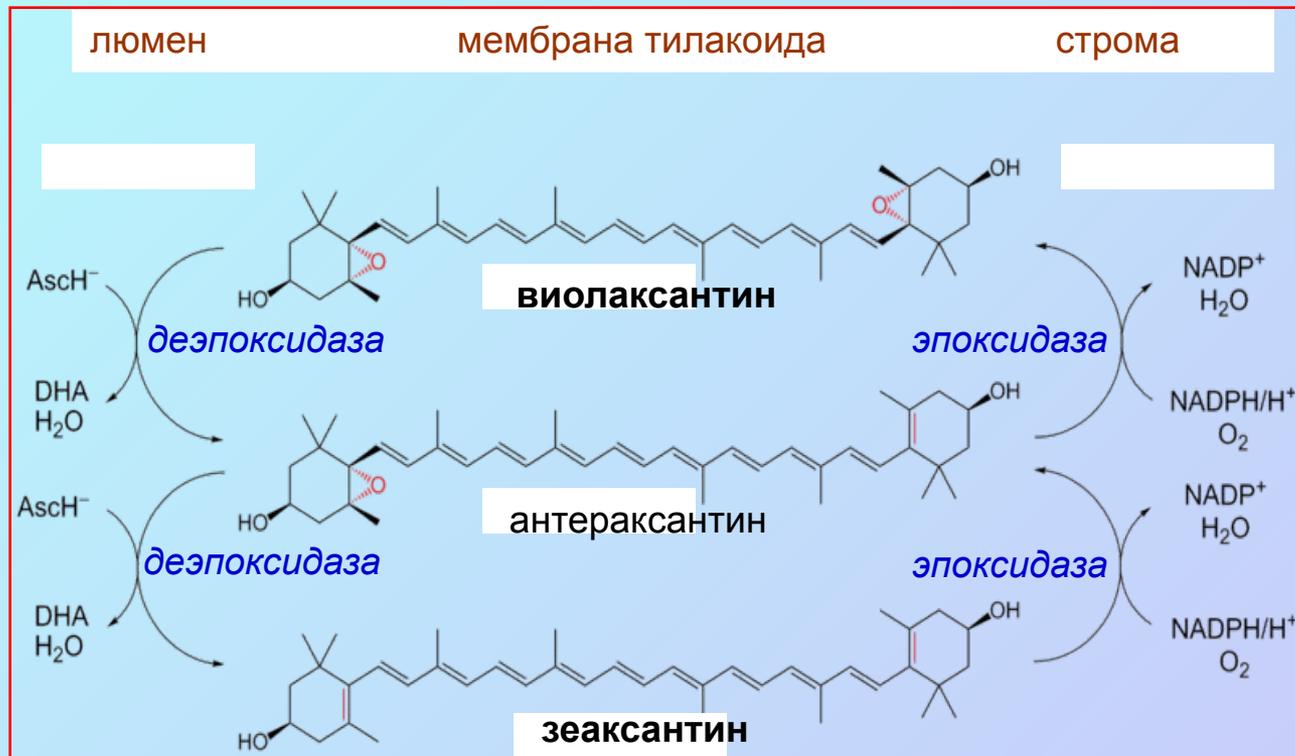


β -каротин

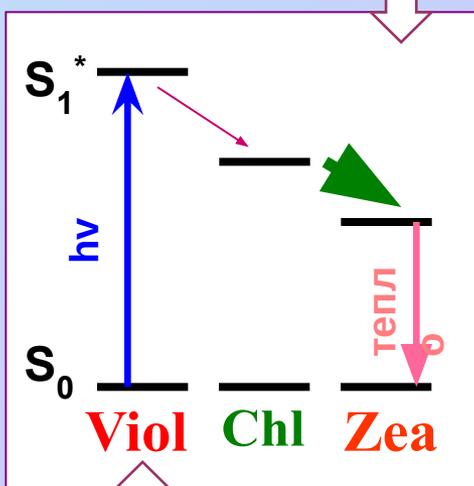
а)



Виолоксантиновый цикл – основа «нефотохимического тушения»



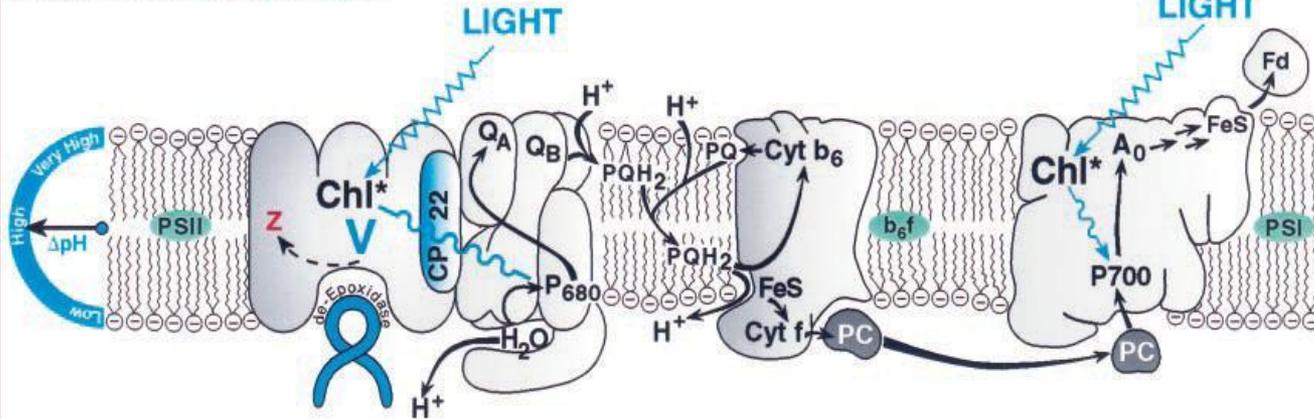
Энергия S_1 ниже S_1 хлорофилла



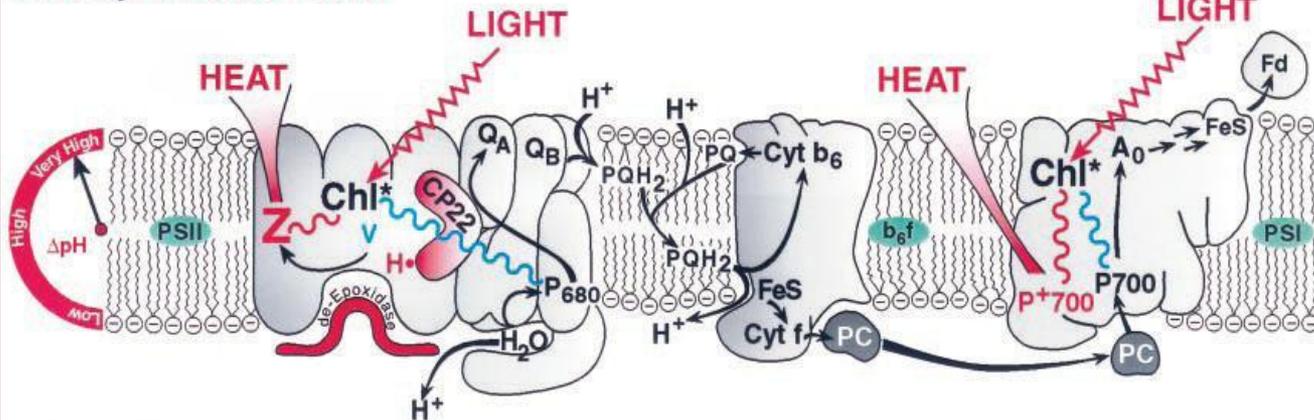
Энергия S_1 выше S_1 хлорофилла

Фотозащита

High Efficiency State



Photoprotected State

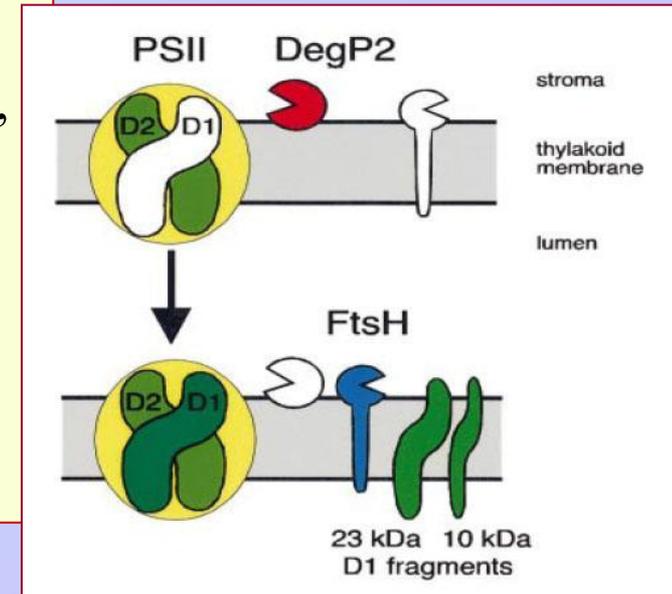


Виолоксантин-эпоксидаза, 43 kDa, тример рН 7 – неактивна, рН 5 – активна. Т.к. находится со стороны люмена, то может «обслуживать» только одно кольцо виолоксантина. Для изменения двух сторон каротиноидов нужен поворот – флип-флоп, что редко. Этому способствует MGDG – моногалактозил-диглицериды. При повышении их доли в мембране с 5% до 30% реакция эпексидации увеличивается с 0 о 100%. Они формируют гексагональные кластеры в мембране.

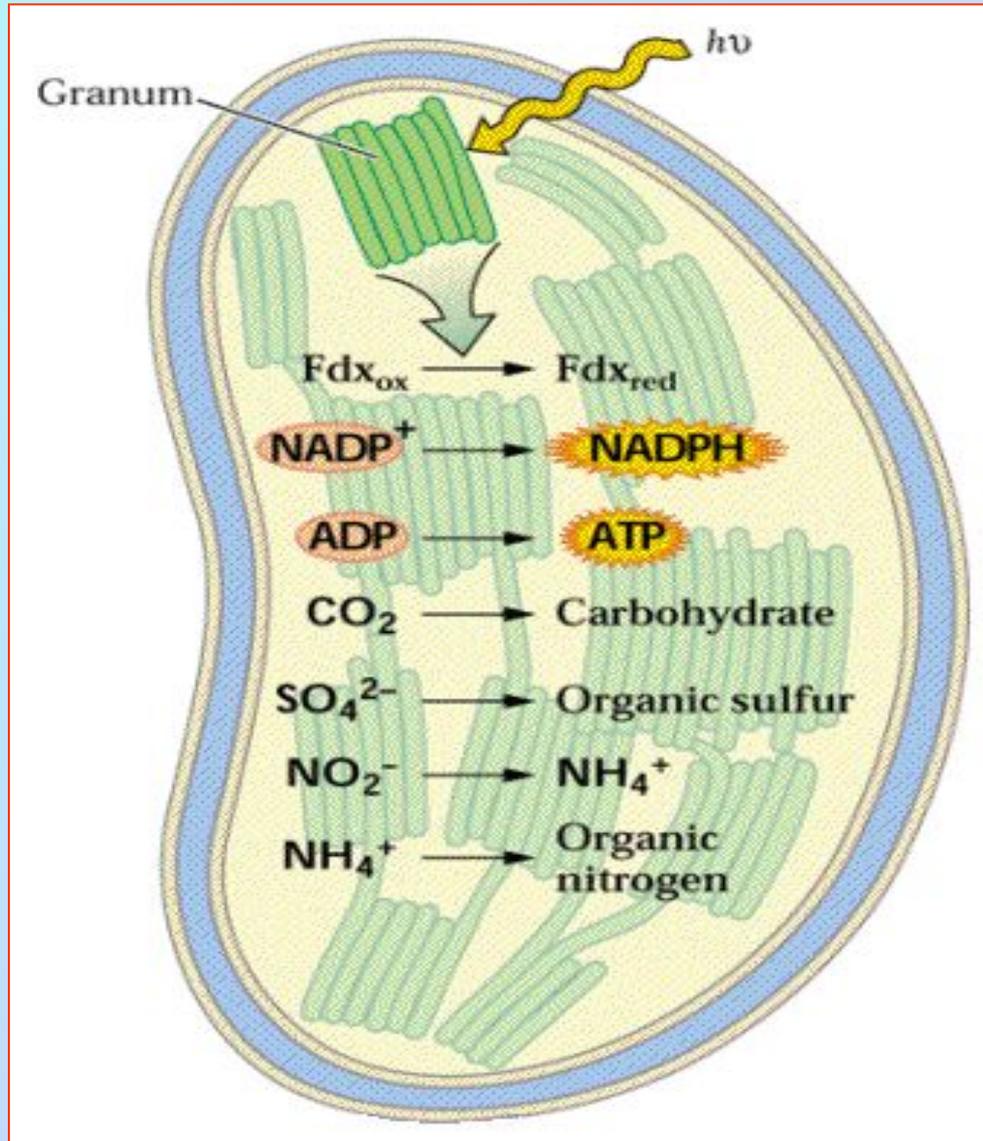
D1 белок – «камикадзе» растительной клетки

Интенсивность синтеза D1 белка – 50% от всех синтезируемых в хлоропласте белков, тогда как его доля – 0,1% от белков хлоропласта

- **Разборка ФС II:** уходят белки ОЕС, снимаются атомы Mn, отсоединяются CP43, CP47
- **Удаление «испорченного» белка:** «отгрызаются» выступающие из мембраны участки D1 белка (работает специальная протеаза degP2), специальный белок «выталкивает» его остатки из мембраны
- **Синтез нового D1 белка:** синтез идет в ламеллах, процессинг (удаляется N-концевой метионин, оставшийся треонин ацетилируется, этот треонин может обратимо фосфорилироваться).
- **Миграция D1 белка в граны:** белок пальмитинируется и в таком виде мигрирует в граны.
- **Обратная сборка ФС II**
Время «полужизни» D1 белка – 30 минут



Темновая фаза фотосинтеза – образование «основных фондов» из НАДФН и АТФ



Восстановительный пентозо-фосфатный цикл (ВПЦ)

