

Менделеев



**ЖУРНАЛ
ВСЕСОЮЗНОГО
ХИМИЧЕСКОГО
ОБЩЕСТВА
ИМ. Д. И. МЕНДЕЛЕЕВА**

ТОМ
XXXI

6

1986

НОМЕР ПОСВЯЩЕН
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ И ПРИКЛАДНЫМ
ПРОБЛЕМАМ ФОТОСИНТЕЗА

Механизм образования кислорода при фотосинтезе*

Профессор ГОВИНДЖИ (США)



ГОВИНДЖИ — президент Американского фотобиологического общества, член Национальной Академии наук Индии, профессор кафедры биофизики и ботаники Университета штата Иллинойс в Урбане (США). Высшее образование получил в г. Аллахабаде (Индия). С 1956 г. работает в США. Специалист в области биохимии и биофизики фотосинтеза, физиологии растений, фотобиологии. Основные научные достижения относятся к абсорбционной и эмиссионной спектроскопии, кинетике фотосинтеза, исследованиям структуры и функции фотосинтетического аппарата, механизма разложения воды и образования молекулярного кислорода растениями.

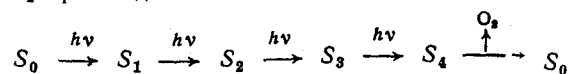
Возникновение механизма окисления воды с образованием O_2 путем фотосинтеза 2—3 млрд. лет назад — важнейшее событие биологической эволюции, сделавшее свет Солнца главным источником свободной энергии биосферы, а воду — неограниченным источником водорода для синтеза живого вещества. В результате образовалась атмосфера современного состава, кислород стал доступным для окисления пищи, и это позволило развиваться высокоорганизованным гетеротрофным организмам, к которым относимся и мы с вами. Отсюда интерес, который привлекает проблема расшифровки

* Перевод с английского Е. Ф. Литвин.

молекулярного механизма образования O_2 при фотосинтезе высших растений и водорослей.

Эту функцию выполняет так называемая фотосистема 2 (ФС 2), образующая на свету акцептор электрона, достаточно сильный для окисления воды ($E=0,8$ В), и восстановленный пластохинон (PqH_2). Это достигается путем первичного разделения зарядов между возбужденным светом донором электронов — хлорофиллом (Хл) a_{11} и первичным акцептором — феофитином. Одновременно с O_2 освобождаются 4 протона, и, поскольку это происходит на внутренней стороне тилакоидной мембраны хлоропласта (ХП), окисление воды сопровождается закислением внутритилакоидного пространства.

Долгое время ФС 2 вместе с комплексом выделения кислорода (КВК) представляла перед исследователями как черный ящик (рис. 1). Заглянуть в него позволило открытие Жюли и сотр.¹, которые обнаружили, что выход O_2 в ответ на возбуждение ХП серией коротких (5 мкс) вспышек света зависит от номера вспышки, причем эта зависимость описывается затухающей периодической функцией с периодом 4 вспышки и максимумом, как правило, на 3-ю вспышку. Периодичность показывает, что для образования O_2 надо 4 раза последовательно возбудить каждый отдельный реакционный центр (РЦ) ФС 3 (см.²). При этом ФС 2 вместе с КВК проходит через 5 состояний S_0 — S_4 , различающихся количеством накопленных окислительных эквивалентов, а выделение O_2 происходит только на заключительной, 4-й стадии:



Максимум на 3-ю вспышку обусловлен тем, что в темноте преобладает состояние S_1 .

Окислительные эквиваленты возникают в КВК в результате поглощения кванта света хлорофиллом в РЦ ФС 2. Именно этот пигмент, Хл a_{11} , в синглетно возбужденном состоянии является первичным донором электрона, превращаясь при этом в Хл a_{11}^+ с редокс-потенциалом $\approx 1,1$ В. Появление Хл a_{11}^+ сопровождается выцветанием с максимумом эффекта в дифференциальном спектре свет — минус — темнота при 680 нм (пигмент Р680) (см.³).

Пигмент Р680+ восполняет потерю электрона путем переноса его от промежуточного донора Z за время менее 20 нс, после первой вспышки света, соответствующей переходам КВК $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_1 \rightarrow S_2$ (см.⁴). При последующих переходах, т. е. при повторном возбуждении ФС 2, восстановление Р680+ замедляется до 250—300 нс (см.⁵). Это, вероятно, определяется возрастанием положительного заряда в КВК при его окислении. Протоны, освобождаемые при окисле-

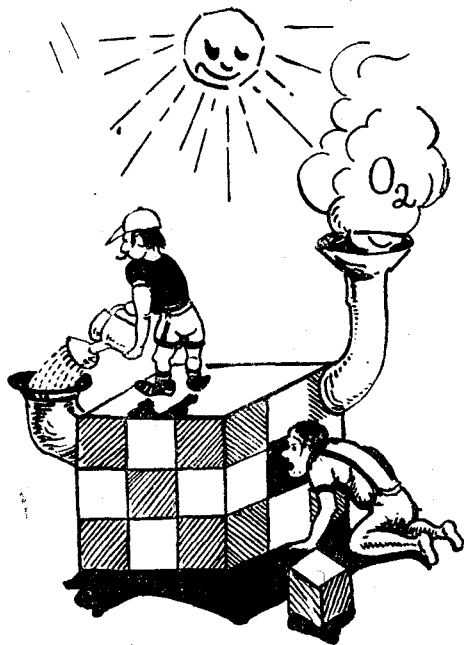


Рис. 1. «Всякий раз, когда кому-нибудь удается сдвинуть камень в стене, за которую нам всем так хочется заглянуть, к образовавшейся щелке бросаются толпы людей» (Б. Кок и А. Ягендорф, 1963).

нии воды, переходят внутрь тилакоида неравномерно, в количествах, пропорциональных 1 : 0 : 1 : 2 в ответ на 1—4-ю вспышки⁶.

Важным шагом в изучении первичных механизмов превращений в РЦ ФС 2 было установление природы первичного акцептора — феофитина, безмагниевого аналога Хл (см.^{7,8}), который затем передает электрон двум связанным пластохинонам Q_A и Q_B (см.⁹). Общая схема реакций и соответствующие характеристические времена представлены на рис. 2.

Донор электронов Z , по данным¹⁰, полученным методом ЭПР, представляет собой Pq , а центральную роль в окислительно-восстановительных переходах, обеспечивающих окисление воды, играют ионы марганца (см., например, обзор¹¹). Важное значение имело обнаружение корреляции между состояниями КВК и сигналом ЭПР марганцевого кластера из 16 линий¹². Получен также ряд результатов¹³, указывающих на связывание Cl^- в этом участке ЭТЦ. Следует подчеркнуть, что все эти компоненты связаны с полипептидами КВК, исследование которых в последнее время выдвинулось на первый план.

В 1979 г. впервые выделен¹⁴ полипептид 33—34 кДа, входящий в состав КВК. Показано^{15,16}, что он отсутствует у мутанта *S c e p e d e s t i u s*, не способного выделять O_2 и содержащего мало Mn . Это навело на мысль о связи трех свойств: наличия полипептида с мол. массой 34 кДа, наличия Mn и способности выделять O_2 . Позже при изучении препаратов с вывернутыми наизнанку тилакоидами было показано, что экстракция полипептидов 23 и 18 кДа солевыми растворами снижает активность, измеряемую по выделению O_2 . Последующее добавление полипептида 23 кДа восстанавливало эту активность¹⁷.

Путем обработки ХП дигитонином удалось¹⁸ физически разделить ФС 2 и ФС 1. Препараты ФС 2, сохраняющие способность выделять O_2 , получены¹⁹ с использованием детергента тритона X-100. Успехи в исследовании биохимии ФС 2 во многом определяются развитием методов получения высокоактивных и стабильных частиц ФС 2, выделяющих O_2 (см.²⁰⁻²⁸), и, в частности, тилакоидных везикул, вывернутых наизнанку^{17,29}, а также использованием более простых комплексов ФС 2, не выделяющих O_2 (см.³⁰⁻³⁴). С начала 1980-х гг. опубликован ряд обзоров³⁵⁻⁴⁶, посвященных ФС 2, в том числе природе акцепторов электрона РЦ ФС 2³⁹, переносу электронов, кинетике и механизму образования O_2 , роли Mn ⁴², процессу в целом.

Кислородвыделяющий комплекс состоит по крайней мере из 7 полипептидов: 1) полипептид РЦ (CP-47) мол. массы 47—51 кДа, который связывает Хл α , включая P680, первичный акцептор феофитин, донор электронов Z (пластохинон), акцептор Q_A (связанный пластохинон); 2) полипептид 32 кДа, содержащий вторичный пластохинонный акцептор Q_B ;

3) цитохром b_{559} с мол. массой 10 кДа; 4) внутренний полипептид 27—34 кДа, по-видимому, связывающий марганец; 5) 6) 7) периферические полипептиды с мол. массой 33 кДа (также связывающий Mn), 24 кДа и 18 кДа. Хотя связь Mn с полипептидом 33 кДа экспериментально обоснована, не исключено, что Mn просто находится в складке, защищенной этим белком и полипептидом РЦ. Кислород выделяется в ответ на импульс света за время < 2 мкс.

Химические стадии формирования O_2 не идентифицированы, но доказано, что реакция в целом осуществляется в каждом отдельном КВК через четыре последовательные стадии. Протоны начинают выделяться еще до завершения последней стадии (выделение O_2). Эти реакции идут с участием Mn (вероятно, четырех атомов) и неизвестного числа ионов Cl^- , которые могут быть заменены на Vg^- . В последнее время внимание привлекает возможная роль Ca^{2+} в реакциях на донорной стороне ФС 2. Роль Mn подтверждена исследованиями фотоиндуцированного 16-компонентного сигнала ЭПР, амплитуда которого зависит от количества вспышек света перед замораживанием объекта. Этот сигнал, по ряду признаков, принадлежит состоянию S_2 КВК. Под действием света Mn меняет валентность, причем в исходном состоянии имеется смесь Mn^{2+}/Mn^{3+} . Ионы Cl^- действуют как активатор КВК, стабилизируя в нем положительные заряды. Дефицит Cl^- влияет в основном на высокоокисленные состояния КВК. О взаимодействии Cl^- с Mn можно судить по влиянию Cl^- на сигнал ЭПР биядерного Mn -кластера⁴⁷, а также на сигнал ЭПР предполагаемого моноядерного его осколка⁴⁸.

Недавно обнаружен^{49,50} еще один интермедиат электронного транспорта на донорной стороне ФС 2, охарактеризованной сигналом ЭПР с $g \approx 4,1$, шириной 360 Гс, который, по-видимому, передает электрон от КВК к Z . Внутренний полипептид 34 кДа, обратимо связывающий Mn^{2+} , необходим для выделения O_2 . Вопрос об участии в этом процессе полипептидов 24 и 18 кДа еще не решен. Надо также выяснить значение взаимодействий между этими тремя белками в работе КВК. О важности межбелковых взаимодействий говорит изменение характера зависимости выделения O_2 от концентрации Cl^- при удалении белка 24 кДа, возможность функциональной замены некоторых из полипептидов ионами Ca^{2+} , наконец, тот факт, что при некоторых обработках удаление всех полипептидов не сопровождается потерей Mn .

Пространственная организация компонентов ФС 2. Многие факты говорят о том, что аппарат выделения O_2 и протонов из воды расположен на внутренней стороне тилакоидов: 1) выделение протонов, сопряженное с выделением O_2 , наблюдается в наружном объеме только тогда, когда мембрана становится проницаемой для H^+ , например, в присутствии грамицидина⁵¹; 2) антитела, специфически подавляющие активность КВК, слабо влияют на нормальные тилакоиды и гораздо сильнее — на частицы ФС 2 с вывернутыми мембранами⁵². О том же свидетельствуют результаты⁵³, полученные с помощью изотопа ^{17}O , и некоторые другие данные⁵⁴. Убедительные доказательства локализации полипептидов, участвующих в выделении O_2 , на внутренней стороне мембраны, получены в работе¹⁷. При отмывании солевыми растворами белков 24 и 18 кДа они удаляются только из вывернутых наизнанку тилакоидов. При реконструкции эти же белки связываются также только с вывернутыми тилакоидами.

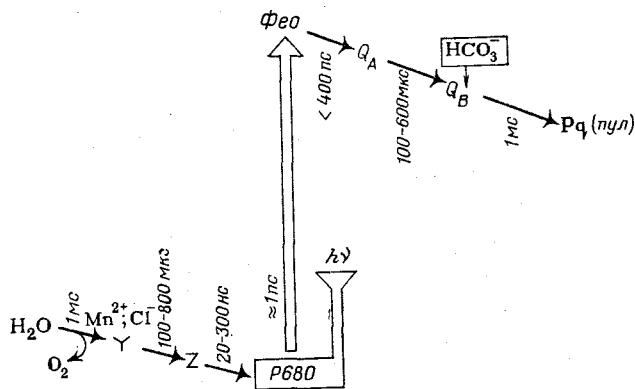


Рис. 2. Перенос электрона в ФС 2.

Электрон передается от воды через КВК (система фоторазложения воды Y), вторичный донор (или доноры) Z , первичный фоторазлагаемый донор Хл α (P680), первичный акцептор феофитин (Фео), связанные пластохинонные акцепторы Q_A и Q_B к пластохинону и далее к ФС 1.

Специфическая агглютинация с антителами против этих двух белков наблюдалась только для вывернутых тилакоидов⁵⁵. Исследования связывания полипептида 18 кДа в зависимости от присутствия в мембранах других указанных полипептидов, аналогичные исследования белков 24 и 33 кДа, а также изучение последовательного и независимого связывания их частями ФС 2 с вывернутыми мембранами привели к картине, представленной на рис. 3.

В этой схеме предполагается наличие двух полипептидов 33—34 кДа. Один из них более гидрофильный (что соответствует аминокислотному составу, содержанию остатков с полярными боковыми цепями) и расположен на периферии мембраны (он легко экстрагируется солевыми растворами при осмотическом шоке). Кроме того, в препаратах мембран обнаружен еще один полипептид такой же мол. массы, но расположенный во внутреннем слое мембран. При этом произвольно допускается, что Мп-содержащий белок 34 кДа расположен в самой мембране и что именно он отсутствует у мутантов, не выделяющих O_2 .

Множественность полипептидов с мол. массой 33—34 кДа и различия в их экстрагируемости несомненны. Отмывание 250 мМ раствором NaCl частиц ФС 2 или «вывернутых наизнанку» везикул, сопровождаемое выделением полипептидов 18 и 23 кДа, не приводит к экстракции полипептидов 33 кДа. Однако при использовании очень высоких концентраций солей двухвалентных металлов наблюдается^{56—58} совместное выделение не только этих двух полипептидов, но и не содержащего Мп полипептида 33 кДа. Мочевина экстрагирует этот полипептид и лишь небольшую часть полипептидов 18 и 24 кДа (см.⁵⁸). Кроме того, установлено, что при осмотическом шоке может быть выделен белок 34 кДа из гранальных тилакоидов шпината или частиц ФС 2, выделяющих кислород⁵⁹. Оказалось, что этот белок содержит неотделяемый при диализе Мп, если выделение проводится в присутствии слабых окислителей. Из препаратов ФС 2 с использованием бутанола выделен Мп-содержащий белок (или белки) 34—31 кДа (см.⁶⁰).

Таким образом, в КВК, по-видимому, присутствуют по крайней мере два различных полипептида 33—34 кДа, один из которых содержит Мп. Альтернативное объяснение сводится к тому, что связь Мп — белок не очень прочна, и он экстрагируется вместе с белком только при определенных условиях. В частности, в ряде работ отмечено, что характер инактивации в процессе обработки детергентами, а также состав экстрагируемых продуктов, содержание в них Мп и возможность последующей реконструкции существенно зависят от адаптации ХП к свету или темноте, что авторы⁶¹ связывают с изменением структурного состояния мембран при освещении. Во всяком случае, различные факты в их совокупности позволяют с высокой степенью определенности утверждать, что в мембранах ХП на внутренней стороне тилакоидов имеется Мп-содержащий белок, участвующий в выделении O_2 .

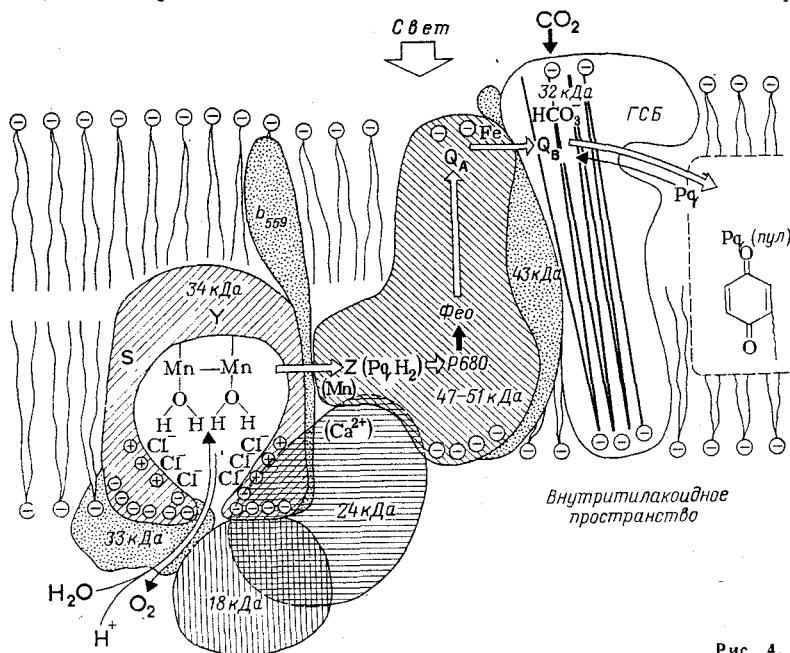


Рис. 3. Расположение компонентов ФС 2 в тилакоидной мембране. Указаны мол. массы полипептидов.

Если на каждый РЦ приходится по два полипептида 33 кД, то встает вопрос: сколько существует таких каждого полипептида? В работе⁴⁵ утверждается, что таких копий две. В модели этих авторов 4 атома Мп лежат в «расщелине», образованной двумя полипептидами 24 и 18 кДа и областью Z комплекса РЦ (СР-47). Это согласуется со стехиометрическим соотношением: 2 Мп на 1 полипептид 34 кДа (см.⁵⁹). Для модели, представленной на рис. 3, это не очень важно, но мы примем именно такое соотношение. Стехиометрия для других полипептидов (33 кДа: 24 кДа: 18 кДа) пока не известна. Авторы^{55,62} принимают соотношения 1:1:1, тогда как в другой работе⁵⁵ предполагается существование двух копий каждого полипептида на один РЦ. В то же время можно считать установленным⁶³, что большой комплекс, объединяющий полипептиды 33, 22 и 18 кДа, содержит гидрофобные полипептиды 27 и 22 кДа вместе с комплексом РЦ и антенным комплексом (47 и 43 кДа соответственно), а также цитохром b_{559} (10 кДа). На связь полипептида 23 кДа с этим цитохромом указывает и то, что на выделение и обратное связывание белка 23 кДа влияет высокопотенциальный цитохром b_{559} (см.⁵⁹). Как уже упоминалось⁶², полипептид 31 кДа экстрагируется вместе с полипептидом 34 кДа, причем неясно, с каким из них связан Мп.

Давно показано, что Cl^- имеет самое непосредственное отношение к процессу выделения кислорода^{64—65}. Можно утверждать, что Cl^- связан с тем же белком, что и Мп. Дефицит Cl^- оказывает сильное влияние на низкотемпературный сигнал ЭПР кластера Мп (см.^{47,66}). На модели⁶⁷ (см. рис. 2) ион Cl^- изображен находящимся в «кармане», где происходит окисление воды и выделение H^+ . Выделение H^+ и связывание Cl^- может происходить в одном и том же месте.

Исследование мембран, содержащих ФС 2, еще находится на стадии разработки способов выделения, очистки и изучения полипептидных компонентов КВК. Можно надеяться, однако, что в самое ближайшее время удастся приписать определенную функцию каждому из этих полипептидов и выяснить их взаимное расположение.

Цитохром b_{559} . Электронодонорная группа цитохрома b_{559} находится в непосредственной близости от РЦ Р680 (по крайней мере при 77 К). При этом он эффективно передает электроны центру Р680+ (см.⁶⁸). Более того, обсуждалась гипотеза⁶⁹, согласно которой цитохром b_{559} может служить временным резервуаром для H^+ , выделяющихся при переходах между состояниями S_2 . Если идея верна, то цитохром b_{559} должен быть расположен на внутренней стороне мембраны. Однако в этой модели тот же цитохром функционирует на акцепторной стороне системы. Приходится допустить, что он связан с наружной стороной мембраны, где расположен акцептор Q_A . На каждый РЦ приходятся две молекулы цитохрома b_{559} (см.⁷⁰) (на рис. 3 для простоты изображена одна из них). Обнаружена гетерогенность высокопотенциального цитохрома b_{559} по данным о его активности в реакции с экзо-

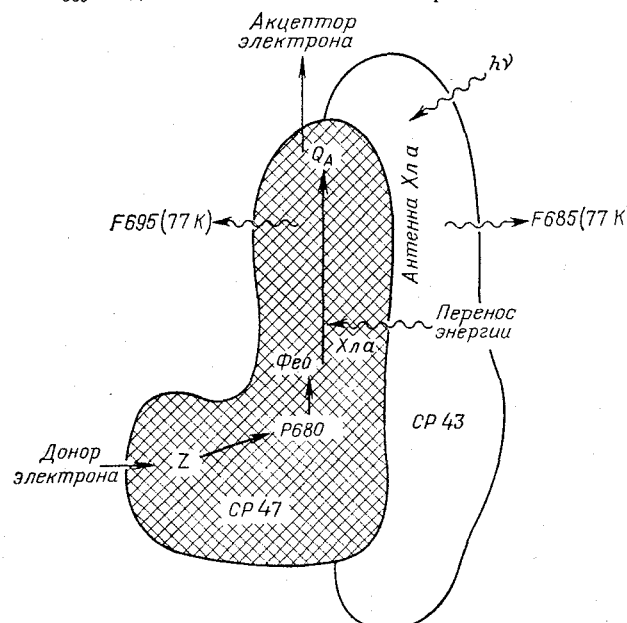


Рис. 4. Модель упаковки полипептидов РЦ ФС 2 (47 кДа, СР-47) и антенного комплекса (43 кДа, СР-43). Указаны характерные максимумы флуоресценции (77 К): F695, F685.

генным окислителем — феррицианидом^{71,72}. Отсюда можно заключить, что вторая молекула цитохрома находится в несколько ином микроокружении, чем первая.

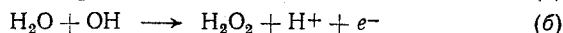
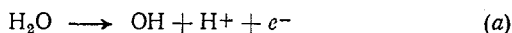
Итак, из современных теоретических представлений и экспериментальных фактов следует, что цитохром b_{559} принадлежит как к внешней, так и к внутренней стороне мембраны. Возможно, он пронизывает всю ее толщу.

Комплекс РЦ. Опыты с использованием кремниймолибдата в качестве акцептора электронов ФС 2 показали, что пластохинон Q_A доступен с внешней стороны мембраны⁷³. После обработки тилакоидов трипсином он становится доступным и для феррицианида. Учитывая, что разделение зарядов в ФС 2 векторно, следует предположить, что Р680 расположен вблизи внутренней стороны мембраны⁷⁴. Исходя из изменений флуоресценции Хл a под действием электрического поля, заключили⁴⁶, что реакцией, создающей трансмембранный электрический потенциал, является перенос электрона от Фео к Q_A . На этом основано расположение компонентов, показанное на рис. 3 (см.⁷⁵). Все они входят в состав комплекса РЦ с мол. массой 46—51 кДа (см.^{34,76,77}; на рис. 3 он изображен пронизывающим всю толщу мембраны). Расположение антенного комплекса не имеет строгого экспериментального обоснования, однако оно опирается на предположение, что указанный комплекс должен находиться в тесном контакте с комплексом РЦ, чтобы обеспечить эффективную (100 %-ную) передачу ему энергии (рис. 4). Комплексы антенны и РЦ отчетливо различаются по спектрам флуоресценции при 77 К (см.⁷⁶). Возможно, они соответствуют кодируемым в ХП полипептидам⁷⁸, содержащим 4—5 молекул Хл и 1 молекулу β -каротина.

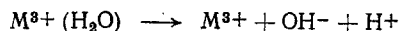
Q_B -Апопротеин. Этот белок с мол. массой 31—34 кДа связывает вторичный пластохиноновый акцептор Q_B (см.⁷⁹). Он же связывает некоторые гербициды (диурон, атразин) и поэтому иногда называется гербицидсвязывающим белком (ГСБ) (см.⁸⁰). Исходя из исследования взаимодействия апопротеина Q_B с азиодатразином, показано⁸¹, что область контакта с гербицидом охватывает аминокислотные остатки Pго-141 и Arg-225. Связывание гербицидов усиливается при формировании белка⁸². При добавлении $НСО_3^-$ к тилакоидам, обработанным $НСООН$, связывание атразина⁸³ и иоксинила⁸⁴ усиливается, поэтому можно полагать, что этот же белок связывает и указанные ионы. Из данных о первичной структуре белка (353 аминокислоты) следует, что белок 7 раз насквозь пронизывает мембрану^{85,86} (это схематически показано на рис. 3, г по аналогии с бактериородопсином).

КОМПОНЕНТЫ, РАСПОЛОЖЕННЫЕ НА ДОНОРНОЙ СТОРОНЕ И ИХ ФУНКЦИИ

Вода. При окислении воды в ХП на каждую одноэлектронную стадию в среднем затрачивается 0,81 эВ. Однако истинные изменения энергии для каждой стадии сильно различаются между собой. Для первой (а), на которой отщепляется один электрон с образованием $ОН$, требуется 2,3 эВ (см.⁸⁸). В то же время энергия для второй стадии (б) составляет лишь 0,37 эВ.



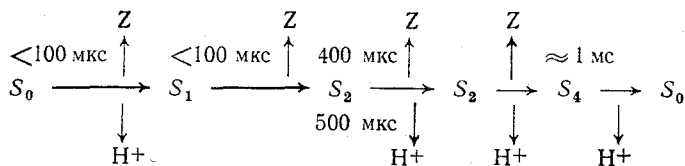
Таким образом, высокий энергетический барьер необходимо преодолеть на самой первой стадии процесса^{87,88}. Вероятно, именно поэтому при окислении воды в ХП используется Мп. Константа равновесия реакции



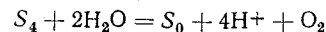
наиболее велика для случая, когда в качестве металла выступает марганец ($M=Mn$)⁸⁹. Пока неизвестно, связывается ли молекула воды в ХП непосредственно с Мп или нет. С целью изучения активного центра выделения O_2 в последнее время рассмотрено^{90,91} влияние на выход кислорода различных аналогов H_2O , таких, как NH_2OH и NH_2-NH_2 . Оказалось, что способность молекулы взаимодействовать с активным центром определяется скорее ее формой и величиной, чем химической активностью. С использованием молекул, отличающихся по форме и размерам, показано⁹⁰, что место связывания находится в «расщелине» шириной 4 Å и глубиной 2,5 Å. В ней могут поместиться две молекулы воды на расстоянии 1,47 Å друг от друга. Существование такого кармана может быть важным для предотвращения дезактивации состояний S_2 за счет взаимодействия промежуточных продуктов окисления воды с какими-либо иными молекулами. Вода выступает

в качестве единственного источника O_2 при фотосинтезе; им не может служить CO_2 (см.^{41,92}).

Состояние S_i и выделение протонов. На приводимой ниже схеме⁸³ даны кинетические характеристики переходов между состояниями (вверху — времена переноса электронов, внизу — выброса протонов)^{10,94}.



В общих чертах картина переходов между состояниями остается такой же, как и в первоначальной модели². Имеется лишь одно существенное изменение, относящееся к окислению воды. Ранее считалось, что окисление H_2O происходит на последнем этапе выделения кислорода:



Показано, однако, что в адаптированных к темноте тилакоидах выделение H^+ осуществляется на трех из четырех стадий в количествах, которые при переходах между различными парами относятся как 1 : 0 : 1 : 2 (см.^{6,94-97}). Таким образом, окисление воды начинается еще до заключительной стадии процесса (вне связи с данными по выделению H^+ эта идея независимо была высказана в работе⁹⁸). Все же вопрос о том, отражают ли эти соотношения собственно образование промежуточных продуктов окисления воды, нельзя считать решенным.

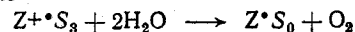
В адаптированных к темноте ХП присутствуют лишь состояния S_0 и S_1 , поскольку состояния S_2 и S_3 дезактивируются в темноте до S_1 (см.⁹⁹); дезактивация длится от 5 с в интактной системе до 60 с в изолированных тилакоидах. Интересно, что состояния S_2 очень чувствительны к щелочным средам и высоким концентрациям трис-буфера^{100,101}. Последний экстрагирует полипептиды 33, 24, 18 кДа, а в щелочных растворах легче освобождаются ионы Cl^- .

Существует еще одна проблема при анализе переходов между S_i : это так называемые промахи. Часто принимают, что вероятность промахов одинакова для всех состояний⁴⁰. Это, однако, не доказано¹⁰².

Имеются другие трудности и противоречия: у водорослей, несмотря на характерный для них высокий квантовый выход выделения O_2 , промахи регистрируются чаще, чем в ХП (см.¹⁰³). Интересно, что при вспышках ненасыщающей интенсивности состояние S_2 преобладает, в то время как доля состояний S_1 и S_3 более или менее постоянна¹⁰⁴.

Для объяснения квантового выхода выделения кислорода при низкой интенсивности света и высокого содержания S_2 выдвигается предположение о существовании дополнительного переносчика зарядов C : при дезактивации состояния S_3 в S_1 заряд не теряется, а накапливается на C ; он может быть возвращен обратно при переходе S_0 в S_2 . Природа C пока неизвестна; возможно, эту функцию выполняют два полипептида (24 и 18 кДа). Во многих публикациях рассматривается вопрос о распределении состояний S_i в ХП. В некоторых случаях в темноте все КВК переходят в состояние S_1 (см.¹⁰⁵), в других — в S_0 (см.¹⁰⁶).

Молекулярный состав КВК точно не известен; он, по-видимому, включает в себя связанную воду, Мп, Cl^- и несколько пептидов. Кроме того, комплекс содержит хромофор, поглощающий в УФ-области спектра¹⁰⁷. В обработанных трипсином ХП, у которых не наблюдается двичных колебаний на акцепторной стороне, определяемых пластохинонным двухэлектронным затвором, изменения поглощения с характерным временем релаксации 1 мс, индуцируемые УФ-облучением, осциллируют синхронно с колебаниями выхода кислорода. Эти изменения поглощения, по-видимому, отражают реакцию



Вейль и Ренгер (частное сообщение) рассчитали дифференциальный спектр поглощения S_2 минус S_0 путем вычитания спектра Z^+ из спектра Z . В полученном спектре широкая полоса с максимумом вблизи 320 нм может отражать переход $Mn^{IV} \rightarrow Mn^{III}$ или принадлежать комплексу Мп-семихинон¹⁰⁸. В последнее время сделаны попытки проследить за состоянием Мп в ХП и его редокс-превращениями методами УФ-спектроскопии¹⁰⁹ и комбинационного рассеяния¹¹⁰. Уже сравнительно давно были получены данные^{111,112}, свидетельствующие об участии пластохинона в реакциях на донорной стороне ФС 2.

После открытия¹¹³ в опытах с импульсным освещением колебаний с периодом, равным 4, термоллюминесценция стала одним из мощных средств исследования состояний S_1 . Этим методом дезактивацию состояний S_1 стало возможным наблюдать непосредственно в листьях растений. Было установлено, что время ($\tau_{1/2}$), за которое дезактивируются состояния S_2 в центре, содержащем Q_B , равно 20—30 с, а в центре с Q_{B^-} — 150 с. Таким образом, дезактивация S_1 — процесс, зависящий от состояния акцепторной стороны ФС 2. Оказалось, что во многих случаях промежуточные состояния КВК имеют очень длительные времена жизни. Например, в термофильных бактериях (*Sulphobosoccus vulcanus*) времена дезактивации состояний S_3 и S_2 составляют 200 и 75 с соответственно¹¹⁴. Подробно результаты исследований термоллюминесценции изложены в обзоре¹¹⁵.

Полипептиды КВК. Три наиболее изученных полипептида имеют мол. массы 32—34, 23—24 и 15—18 кДа (см. 27, 56, 62, 116—119), для удобства они будут обозначаться (как и ранее) полипептидами 33, 24 и 18 кДа. Все они гидрофильны, но это не означает, что они не могут иметь гидрофобных участков. Определение изoeлектрических точек показало, что полипептид 33 кД относится к кислым и, возможно, связан с мембраной водородными связями. Полипептид 24 кДа — нейтральный (ближе к кислым), а полипептид 18 кДа — основной. Ни один из полипептидов не содержит ионов металлов и не поглощает в видимой области спектра. Все они мономерны и расположены на внутренней стороне мембраны. Во всех полипептидах содержится лизин, у полипептида 33 кДа нет гистидина, а у полипептида 18 кДа — метионина. Полипептид 33 кДа имеет 29 лизиновых остатков, в отличие от апопротеина Q_B с массой 33 кДа, у которого они отсутствуют.

Общепризнано⁵⁸, что полипептид 33 кДа наиболее важен для выделения кислорода: его удаление приводит к полной потере способности системы выделять O_2 . После удаления полипептидов 18 и 24 кДа мембранные структуры, содержащие полипептид 33 кДа, сохраняют в значительной мере эту способность, если в системе присутствуют Ca^{2+} и Cl^- (см. 119).

Наблюдалась¹²⁰ корреляция между повторным связыванием этого полипептида и реконструкцией выделения O_2 . Судя по некоторым сообщениям, полипептид 33 кДа связывает два атома Mn, но этот вывод нуждается в прямых доказательствах. Используя солевые растворы с высокой концентрацией двухвалентных ионов, удалось выделить¹²¹ этот полипептид из мембран без заметной потери Mn. Учитывая возможность существования двух полипептидов 33 кДа — гидрофобного и гидрофильного, нужно с особой осторожностью подходить к интерпретации этих данных. Результаты измерений термоллюминесценции показали¹²², что удаление полипептида 33 кДа подавляет переход $S_3 \rightarrow S_4$.

Существуют два противоположных мнения о роли полипептида 24 кДа. Согласно одному из них, этот полипептид необходим для выделения O_2 , так как его удаление приводит к полному подавлению процесса⁵⁵. Повторное его связывание сопровождается восстановлением активности по окислению воды. Исходя из измерений выделения O_2 в ответ на вспышку в мембранах из вывернутых наизнанку тилакоидов, обработанных соевыми растворами, было показано¹⁷, что удаление полипептида 24 кДа сопровождается подавлением перехода $S_2 \rightarrow S_3$, но не влияет на переходы $S_0 \rightarrow S_1$ и $S_1 \rightarrow S_2$. Эти заключения требуют экспериментального подтверждения, особенно в связи с эффектом Cl^- .

Добавление полипептида 24 кДа к мембранам, из которых удален этот белок, понижает концентрацию Cl^- , необходимую для оптимального выделения O_2 (см. 123). При дефиците Cl^- специфически блокируются переходы между наивысшими состояниями S_i (см. 124, 125). Таким образом, весьма вероятно, что полипептид 24 кДа необходим для того, чтобы удерживать Cl^- на предназначенном для него месте.

Недавние эксперименты¹²⁶ привели к получению гомогенного комплекса с мол. массой 300—500 кДа, активно выделяющего O_2 на свету в присутствии искусственного акцептора электронов и содержащего субъединицы РЦ ФС 2 с мол. массами 47, 33, 30 и 10 кДа. Комплекс содержит также периферийные полипептиды 22 и 33 кДа. Белки 18 и 24 кДа не оказались необходимыми для выделения O_2 , равно как и наличие замкнутых мембранных образований.

Марганец. Об участии марганца в выделении O_2 говорят многие факты^{11, 27}. В ХП чаще всего выделяют три типа Mn-содержащих центров^{128, 130}.

1. Пул лабильного, слабо связанного Mn, не участвующего в выделении O_2 . Этот Mn легко удаляется при обработке ЭДТА и концентрированными растворами солей^{87, 130, 131}.

2. Пул прочно связанного марганца. Этот Mn может быть удален при обработке гидроксидом аммония, концентрированным раствором трис-буфера, при нагревании. По-видимому, он участвует в образовании O_2 (см. 87, 131, 132).

3. Пул очень прочно удерживаемого Mn, который удаляется при более жесткой обработке такого же характера, как для Mn типа (2). Его функция не ясна. Возможно¹³⁰, что он обеспечивает компактность и целостность ХП и, кроме того, участвует в реакциях промежуточного донора пластонинной природы (Z) на донорной стороне ФС 2.

Предполагается, что КВК включает в свой состав Mn-содержащий белок, причем Mn удерживается в нем специфическими координационными связями. Эти центры претерпевают редокс-превращения в процессе окисления воды⁷⁵.

Главное, что делает Mn пригодным для окисления воды, — это его способность образовывать высокоокисленные состояния Mn^{3+} , Mn^{4+} . Кроме того, существенно, что координационное число Mn переменное^{133, 134}. Марганцевый комплекс играет роль интермедиата, накапливающего заряды в ходе окисления воды⁸⁷, а роль координационной оболочки вокруг иона Mn состоит в стабилизации высокоактивных промежуточных продуктов⁸⁸.

Спиновое состояние молекулярного O_2 — триплетное, тогда как у H_2O — синглетное. Чтобы реакция окисления протекала гладко, должно соблюдаться правило сохранения спина, что и обеспечивается включением в реакцию иона переходного металла с неспаренными спинами¹³⁵. Кроме того, известно¹³⁶, что биметаллические ядра многих комплексов переходных металлов могут связывать молекулы O_2 . Это как раз то, что необходимо для окисления воды, так как благодаря образованию биметаллического комплекса сложные двух-электронные процессы с участием двух молекул воды в качестве восстановителя могут протекать, минуя образование термодинамически невыгодных интермедиатов⁸⁷. Хотя пока не удалось выяснить, как именно ионы Mn участвуют в окислении H_2O , многие факты с очевидностью показывают, что вышеупомянутые свойства Mn несомненно используются в этом процессе, протекающем в ХП.

Измерения количества ионов Mn, выделяющихся при обработке ХП гидроксидом аммония или при отмывании трис-буфером, показывают¹³¹, что для выделения O_2 необходимы 4 атома Mn на одну ФС 2. Однако сообщалось²⁵, что наличия даже двух атомов Mn на ФС 2 достаточно для полного восстановления реакционной способности. Вопрос о минимальном числе атомов Mn в каждом КВК долго и активно обсуждался⁴⁹. Одни авторы^{25, 62, 137—140} склоняются к тому, что количество атомов Mn в расчете на РЦ ФС 2 равно двум, другие полагают, что четырем (см. 48, 75, 41). Причина разногласий может заключаться в том, что некоторые данные^{56, 139} относятся к числу атомов Mn, приходящихся на один полипептид 33 кДа, тогда как в расчете на КВК его надо удвоить. Хотя необходимость Mn для осуществления четырех актов окисления двух молекул воды с образованием O_2 надежно установлена, остается неясным, в какой форме (с химической точки зрения) участвует Mn в каждом из этих актов, главным образом потому, что функционально активный Mn никак не проявляет себя в спектрах ЭПР *in situ*, по крайней мере при физиологических температурах. Поэтому трудно что-нибудь узнать об электронной структуре Mn-комплекса.

В принципе, существует несколько способов идентификации электронных состояний комплекса, соответствующих каждому из состояний S_i (см. обзор⁴²). Например, функционально активный Mn может быть экстрагирован из фермента, окисляющего воду, путем нагревания. Его спектр ЭПР при этом совпадает со спектром $Mn(H_2O)_6^{2+}$ (см. 142, 143). Если перед нагреванием образцы освещаются серией вспышек, то количество экстрагируемого Mn изменяется в зависимости от номера вспышки, с периодом, равным 4. Это свидетельствует¹⁴⁴ о циклических изменениях состояния Mn при формировании O_2 .

Прямые доказательства участия Mn в этом процессе получены методом ЭПР с регистрацией спектров при 4—20 К. В фотоиндуцированном спектре ЭПР обнаружен сигнал из 16 компонент сверхтонкой структуры, который при импульсном освещении ХП коррелирует с содержанием состояний S_2 (см. 12, 47, 59, 145). Сигнал рассматривается^{146, 147} как результат частичного окисления кластера из 2-х или 4-х магнитно-взаимодействующих атомов Mn, например, $Mn^{III}-Mn^{IV}$ или $Mn_3^{III}-Mn^{IV}$. Сопоставление с результатами измерений рентгеновских спектров поглощения ХП и ряда модельных марганцевых кластеров показало¹⁴⁸, что в мембранах ХП, адаптированных к темноте, имеется пара $Mn^{2+}-Mn^{3+}$, удаленных друг от друга примерно на 2,7 Å. Это расстояние

соответствует включению молекулы воды между атомами Mn. Вывод о наличии в ХП марганца в состояниях Mn^{II} и Mn^{III} согласуется с данными исследований методом магнитной релаксации протонов воды^{149, 150}.

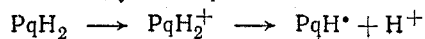
Есть и некоторые другие соображения о природе Mn в системе фоторазложения воды. Так, в связи с этой проблемой изучались комплексы Mn с семихинонными радикалами, в которых легко идет внутримолекулярный перенос заряда. Высказано предположение о существовании такого рода комплексов в фотосинтетических мембранах^{111, 112}.

Хлорид-ионы. По крайней мере в двух местах цепи анионы могут влиять на поток электронов в ФС 2: вблизи вторичного хинонного акцептора Q₂, где проявляется эффект бикарбоната и формиата⁶⁴, и в КВК. Ионы Cl⁻ необходимы для поддержания стационарного выделения O₂ на свету^{64, 65, 151, 152}, причем их действие не строго специфично: возможна замена другими анионами. Эффективность анионов снижается в ряду Cl⁻ > Br₂⁻ > NO₃⁻ > I⁻; такие анионы, как PO₄³⁻ и SO₄²⁻, не влияют на выделение O₂, а F⁻ его подавляет^{13, 151, 152}. Дефицит Cl⁻ оказывает разнообразное влияние на выделение O₂: КВК становится более чувствительным к гидроксиламину¹⁵², трис-буферу⁶⁵, к нагреванию¹⁵³. Недостаток Cl⁻ подавляет переход S₂ → S₃ (см. 145, 146). Если при недостатке Cl⁻ к тилакоидам добавить около 0,6 мм Cl⁻, то этого оказывается достаточно, чтобы восстановить выделение O₂ примерно наполовину¹⁵²⁻¹⁵⁵. Действие Cl⁻, по-видимому, обусловлено его связыванием с мембранами^{13, 154}, которое зависит от pH. В тилакоидах, изолированных из солеустойчивых растений, такое связывание было обнаружено^{13, 155} методом ЯМР ³⁵Cl; оно имеет слабо выраженный электростатический характер с энергией связи ≈ 3 ккал/моль и константой связывания K_b = 7 M⁻¹ при 25 °C (см. 155). Относительная специфичность действия Cl⁻ приписывается эффекту электрического поля иона и стерическим факторам, влияющим на связывание¹³. Для тилакоидов галофильных растений также обнаружена¹⁵⁶ сильная зависимость активации электронного транспорта от pH. О полипептидах, участвующих в связывании Cl⁻, известно мало. Добавление полипептида 24 кДа, полученного из ХП шпината, к везикулам тилакоидов из галофитов при недостатке Cl⁻ резко повышает сродство КВК к Cl⁻ (см. 123, 157). Однако сообщалось также, что полное удаление полипептида 24 кДа из частиц ФС 2 не устраняет стимулирующего влияния ионов Cl⁻ на перенос электрона¹¹⁹.

Для понимания роли Cl⁻ необходимо подробнее изучить способность КВК связывать эти ионы, а также идентифицировать функциональные группы, ответственные за стимуляцию выделения O₂ ионами Cl⁻. Рабочая гипотеза, выдвинутая В. Коулменом и Говинджи (неопубликованные данные) будет обсуждаться ниже.

Донор электронов, взаимодействующий с P680⁺, включает компонент, который идентифицируется по так называемому очень быстрому сигналу ЭПР II (SII_{bf}) (см. 10). Этот донор, по-видимому, эквивалентен донору D₁, проявляющемуся по изменению оптического поглощения в ходе восстановления P680⁺ до P680 (см. 158). Такое заключение основано^{161, 162} на совпадении кинетики затухания P680⁺ и кинетики нарастания Z⁺ в обработанных трис-буфером ХП^{159, 160}, на подобии этих кинетик для нормальных тилакоидов (τ_{1/2} ≈ 20 нс — 3 мс).

Сопоставление короткоживущего сигнала ЭПР II и сигнала ЭПР катион-радикала 2,5-диметилсемихинона привело к выводу, что Z⁺ — это катион-радикал восстановленной формы пластогидрохинона PqH₂⁺, связанного с белком^{163, 164}. В этом случае превращение Z в Z⁺ должно сопровождаться характерными изменениями оптического спектра. Три группы исследователей независимо друг от друга попытались измерить соответствующие дифференциальные спектры. С учетом поправок на вклад других компонентов ЭПЦ в измеряемые дифференциальные спектры и путем сопоставления со спектрами ряда хинонов в ходе их редокс-реакций в растворах получены данные, которые в целом согласуются с выводом, что Z⁺ представляет собой протонированный катион-радикал пластохинона PqH₂⁺ (см. 165-167). Тем не менее собственный дифференциальный спектр Z⁺ минус Z, по-видимому, нельзя считать надежно измеренным, его получение в чистом виде затруднено необходимостью введения ряда поправок, включая электрохромные сдвиги полос поглощения. отождествление Z⁺ с PqH₂⁺ осложняется необходимостью согласования с результатами исследования выделения протонов в ХП¹⁶⁸. Предполагается следующая реакция:



Однако это затруднение можно обойти, предположив, что источник протонов — апопротейн^{164, 168}. Кроме того, не исключено, что Z⁺ представляет собой смесь PqH₂⁺ и PqH⁻. Для установления химической природы Z⁺ и Z будут весьма полезны исследования кинетики изменений дифференциальных спектров поглощения для прямого и обратного превращения: Z ↔ Z⁺. Дополнительным аргументом в пользу того, что Z⁺ идентичен PqH₂⁺, служит величина окислительно-восстановительного потенциала катион-радикала хинона (+950 мВ)¹⁶⁹, которая соответствует его положению на окислительно-восстановительной шкале между парами H₂O/O₂ (±800 мВ) и P680/P680⁺ (≈ +1,1 мВ) (см. 3, 170).

Не раз высказывалось предположение, что существуют несколько доноров между КВК и P680; в качестве одного из них можно рассматривать¹⁷¹ цитохром b₅₅₉ (см. ниже). Предложены схемы с последовательно¹⁷² и параллельно⁶⁵ соединенными донорами:



Данные об участии двух доноров приведены в работе¹⁷³; при pH 8,5 функционируют оба, а при pH 6,0 — только один из них. Однако второй дополнительный донор здесь может быть только побочным, не связанным с состояниями S_i. Недавно был обнаружен сигнал ЭПР нового типа с g-фактором 4,1 и полушириной 360 Гс, возникающий на свету только при низкой (200 К) температуре^{49, 50}. Возможно, он принадлежит тому же состоянию S₂, что и 16-компонентный сигнал ЭПР¹⁷⁴.

Цитохром b₅₅₉. Химические свойства Cyt b₅₅₉ хорошо изучены, чего нельзя сказать о его функции¹⁷⁵. Белок выделен в чистом виде, установлена его первичная структура, содержание гема и т. д.¹⁷⁶. Много наблюдений свидетельствуют о его важной роли в реакциях ФС 2. У мутантов, не содержащих этого цитохрома, нет и активности ФС 2 (см. 177). При исследовании мутанта S c e n e d e s t u s, у которого нет Cyt b₅₅₉, но полностью сохранены Mn, Cyt f₅₆₃ и полипептид 34 кДа, оказалось, что он обладает вполне активной ФС 2 (о чем можно судить по окислению дифенилкарбазида) и активной ФС 1. В то же время вода этим мутантом не окисляется¹⁷¹. Отсюда можно заключить, что Cyt b₅₅₉ играет роль интермедиата между КВК и Z. Это предположение, конечно, требует проверки.

О другом интересном наблюдении⁶⁵ уже упоминалось: высокопотенциальный цитохром b₅₅₉ обратимо влияет на связывание полипептида 23 кДа. Однако к выводам, основанным на антибатной корреляции между высокопотенциальным цитохромом b₅₅₉ и выделением O₂, необходимо подходить с осторожностью, поскольку возможна неоднозначность определения высоких потенциалов у протонированных и непротонированных форм. Рабочую гипотезу о роли цитохрома b₅₅₉, выдвинутую В. Батлером, иллюстрирует рис. 5; более подробно она изложена в работе⁶⁹.

Медь, кальций и другие компоненты. О роли меди в процессе выделения O₂ пока говорить трудно. Содержание меди в растениях ≈ 6 %. Она входит в состав пластоцианина и супероксиддисмутазы¹⁷⁸. Обработка трис-буфером частиц ФС 2 приводит к потере не только Mn, но и меди¹⁷⁹; уровень Cu в расчете на молекулу Хл снижается от 2,1/400 до 1/400. Таким образом, корреляция между содержанием Cu и выделением O₂ отчетливо выражена, как и соответствующая корреляция для Mn, так что роль Cu в выделении O₂ требует рассмотрения. В этой связи следует упомянуть о присутствии Cu в белковом комплексе, выделенном из бурых водорослей¹⁸⁰, а также и в выводе, сделанном в работе¹⁸¹ с зеленеющими клубнями картофеля о возможном участии Cu в реакциях ФС 2.

В последние годы изучается роль Ca²⁺ в реакциях на донорной стороне ФС 2. Для препаратов цианобактерий P h o g m i d i u m l u r i d u m показано¹⁸²⁻¹⁸⁴, что дефицит кальция блокирует выделение O₂, а введение Ca²⁺ стимулирует реакции ФС 2. Для выделения частиц ФС 2, сохраняющих способность к выделению O₂, из A p a c y s t i s также нужен Ca²⁺ (см. 185). Однако другие авторы¹⁸⁶ не нашли такой зависимости, возможно, потому, что их препараты в процессе выделения не теряли слабосвязанный кальций. На специфич-

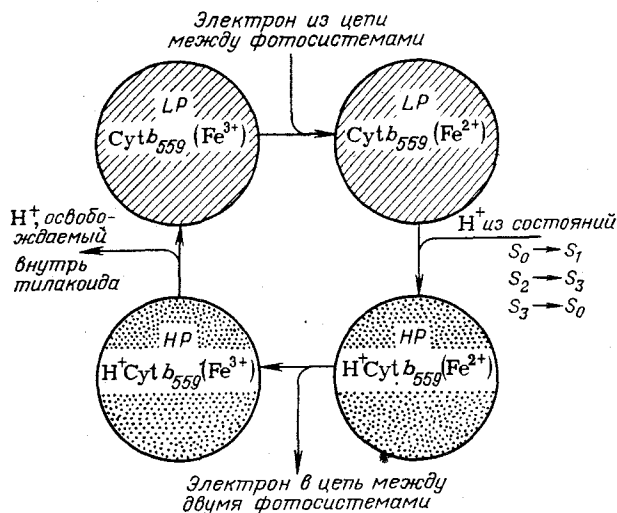


Рис. 5. Рабочая гипотеза о функциях цитохрома b_{559} .

Формы Cyt: LP — низкопотенциальная; HP — высокопотенциальная; Fe^{3+} — окисленная; Fe^{2+} — восстановленная; H^+ Cyt b_{559} — протонированная.

ческую функцию роли Ca^{2+} в ФС 2 указывают исследования тилакоидов из растений галофитов¹³: добавление $CaCl_2$ сопровождается гораздо более сильной реактивацией выделения O_2 , чем при добавлении $MnCl_2$.

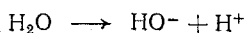
Антагонисты кальмодулина, такие, как хлорпромазин, фенотиазин и трифторперазин, ингибируют электронный транспорт¹⁸⁶. Подавление активности ФС 2 хлорпромазином наблюдалось¹⁸⁷ в частицах, выделенных из *Anaystis pidiopsis*. При кислотной обработке ХП поток электронов от H_2O к 2,5-диметилхинону в присутствии ингибитора дибромтимохинона может быть восстановлен на 20—25% при добавлении 20—50 мМ $CaCl_2$. Найдено также¹⁸⁸, что белки, экстрагированные из ХП в кислых средах, восстанавливают нарушенный электронный поток, если их вновь добавляют вместе с $CaCl_2$. Авторы полагают, что Ca^{2+} действует на РЦ ФС 2, а не на систему окисления воды. Было бы важно получить более убедительные доказательства того, что кальмодулин воздействует на РЦ ФС 2. С другой стороны, нельзя отрицать, что кальций может играть важную роль и в других процессах. Например, показано^{189,190}, что Ca^{2+} может заменить полипептид 23 кД при активации выделения O_2 .

Требуется ли Ca^{2+} для выделения O_2 или же он необходим для функционирования центра ФС 2 (а, может быть, для того и другого вместе)? Нужен ли белок типа кальмодулина для протекания процессов на донорной стороне ФС 2? Все эти вопросы требуют исследований.

Механизм выделения O_2 . Мы не знаем, каким образом молекулы воды окисляются в системе выделения O_2 . Для полного понимания этого механизма нужны дальнейшие исследования кислородвыделяющей системы. Ввиду неполноты имеющейся информации лучшим способом подойти к пониманию механизма процесса может служить построение модели, учитывающей все разнообразные сведения, которая позволит непротиворечивым образом объяснить имеющиеся данные и сделать прогнозы, поддающиеся экспериментальной проверке.

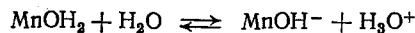
Было предложено много моделей (см. схему), описывающих участие Мп в выделении кислорода, основанных на анализе экспериментальных данных и термодинамических свойств Мп и H_2O (см. 184, 140, 144, 191—193).

На схеме показано, как меняется состояние Мп-комплекса, связывающего молекулы воды, в соответствии с четырехфотонным механизмом окислительно-восстановительного цикла (указаны валентные состояния Мп, окислительные состояния молекул воды, выход протонов на каждой промежуточной стадии $S_i \rightarrow S_{i+1}$; М, L — лиганды, А — противоион). Структуры соответствуют различным промежуточным стадиям окисления воды и различным окислительно-восстановительным состояниям Мп для каждой из рассматриваемых моделей. Здесь же указаны стадии связывания и освобождения протонов, H_2O и O_2 . Во всех моделях, кроме II и VII, в состоянии S_0 молекулы воды связаны с марганцевым кластером. Лишь в моделях VI и VII предполагается, что реакция



может осуществляться в гидрофильной фазе. Если марганцевый кластер КВК целиком локализован в гидрофобной фазе, то эти модели выглядят менее правдоподобно.

В моделях III, VI, VII вода непосредственно связана с Мп, тогда как в других моделях место связывания не уточняется. В схемах III, IV, VI состоянию S_0 соответствует Mn^{2+} , тогда как в схемах II, V, VII ему соответствует смесь Mn^{2+} и Mn^{3+} (в модели I валентное состояние не уточняется). В соответствии со схемами II, III, IV, VI выделение протонов из воды осуществляется при переходах между состояниями S_0 и S_1 . Состояние S_1 в этих схемах можно считать устойчивым в темноте, поскольку константа равновесия реакции



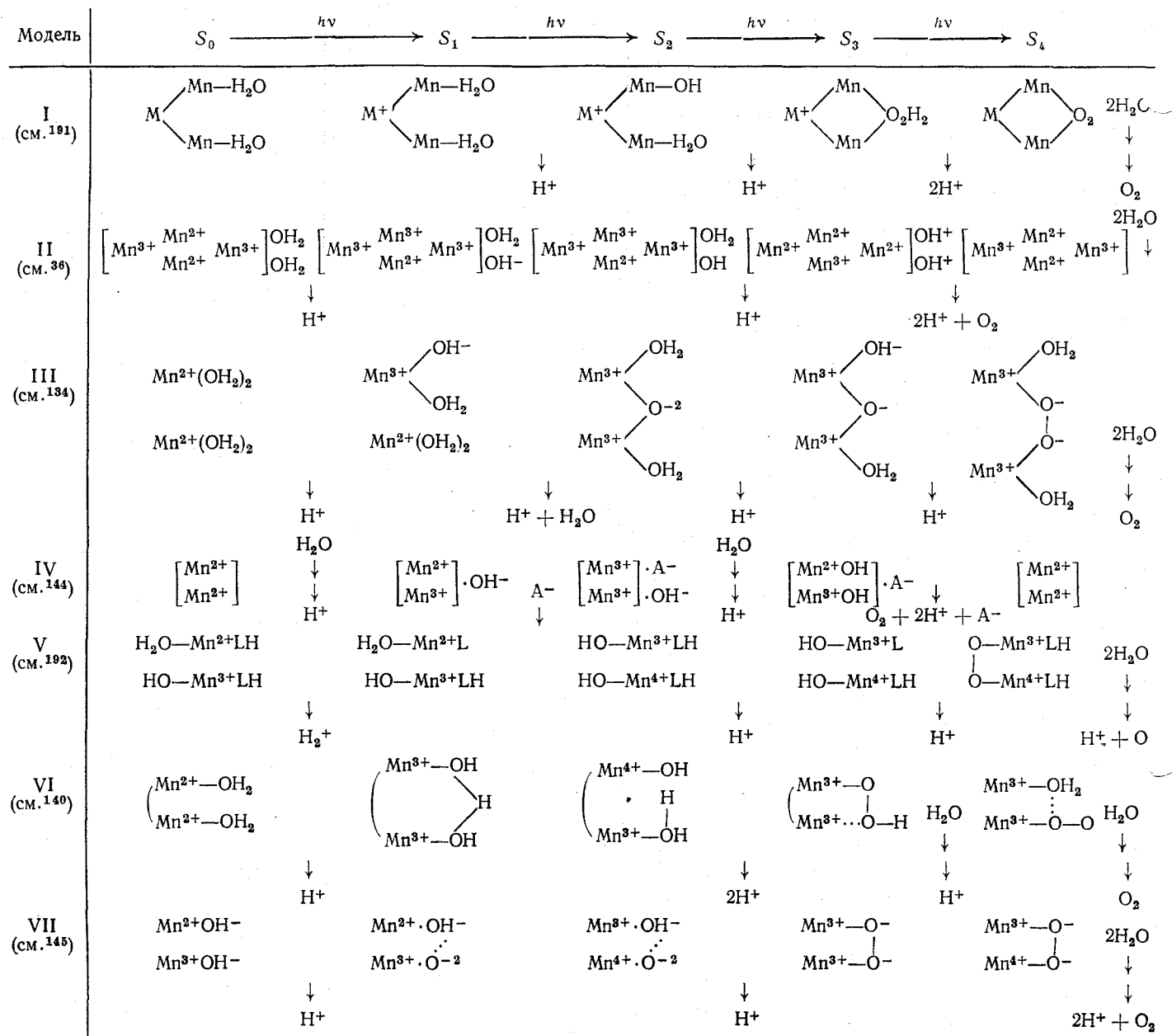
достаточно велика (см. выше). Однако в схемах V, VII состояние S_1 может быть нестабильным по сравнению с состоянием S_0 . Это не согласуется со стабильностью состояния S_1 . В состоянии S_2 валентность Мп принимается различной в разных схемах: $Mn^{2+} \rightarrow Mn^{3+}$ (II); Mn^{2+} (III, IV); $Mn^{3+} \rightarrow Mn^{4+}$ (V, VI, VII). Предположение о состоянии $Mn^{3+} \rightarrow Mn^{4+}$ лучше согласуется с результатами анализа низкотемпературного сигнала ЭПР¹². Согласно схемам I, III, IV наиболее вероятная валентность атомов Мп, участвующих в окислении воды, равна ± 3 , а во всех остальных схемах $+4$.

По схемам I, III, V, VII спаренные друг с другом атомы кислорода перед актом выделения из состояния S_4 связываются с двумя ионами Мп. Такой тип связи обнаружен в димерах со смешанной валентностью $Mn^{3+} \rightarrow Mn^{4+}$, содержащих динитрильные лиганды¹⁹⁴ (о других модельных комплексах см. 195). Стехиометрия выделения протонов на разных стадиях также различна в этих моделях: 0, 1, 1, 2 (I); 1, 0, 1, 2 (II, IV, V, VII); 1, 1, 1, 1 (III); 1, 0, 2, 1 (VI) для переходов $S_0 \rightarrow S_1$; $S_1 \rightarrow S_2$; $S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_4$ соответственно. Если концентрация H^+ в окрестности КВК находится в равновесии с их концентрацией с наружной стороны мембраны, то наблюдаемые экспериментально количества выделяемых протонов (1, 0, 1, 2) согласуются только со схемами I, IV, V, VII. Получены некоторые данные^{196,197} в пользу того, что дифференциальный спектр поглощения в УФ-области одинаков для всех переходов $S_i \rightarrow S_{i+1}$. Эти спектральные изменения рассматриваются как отражение превращения $Mn^{II} \rightarrow Mn^{IV}$. Если это верно, то становятся сомнительными все приведенные на схеме модели. Очень важна информация о взаимодействии ионов Мп с радикальной парой $P680^+ \text{ Фео}^-$ (см. 198).

В настоящее время мы разрабатываем новую модель, которая в общих чертах сводится к следующему. Центр окисления H_2O , представляющий собой комплекс из Мп и семихинона, расположен в «расщелине», образованной белком, ответственным за выделение O_2 . В таком комплексе может легко идти межмолекулярное разделение зарядов, инициирующее переходы между состояниями S_i , которые осуществляются путем последовательных односторонних актов окисления¹⁹⁸. Далее, электроны из марганцевого комплекса акцептируются хинонными молекулами, которые присутствуют в относительно больших количествах в ФС 2. Кроме того, предполагается, что хиноны также могут играть роль и акцепторов протонов¹⁹⁹, природа которых важна для протекания реакции окисления H_2O . Хиноны обратимо связывают протоны в водных растворах. Возможно, что ионы Cl^- влияют на способность хинонов акцептировать протоны и электроны. Показано, что на скорость переноса электронов между хинонами и Cyt с очень сильно влияют ионы, которые связываются с хинонами или занимают места их связывания на белке²⁰⁰. Этим может объясняться один из важнейших эффектов — влияние ионов Cl^- на выделение O_2 .

Как уже отмечалось, было выдвинуто предположение о том, что Cyt b_{559} связывает протоны, выделяющиеся при переходах между состояниями S_i и что разница в энергии связывания протонов в окисленной и восстановленной формах может быть использована для облегчения переходов между состояниями S_i . В нашей схеме предполагается, что протонирование и депротонирование хинонов должно быть сопряжено с окислительно-восстановительными превращениями Cyt b_{559} . Эта идея представляется обоснованной, поскольку ранее было обнаружено сопряжение окислительно-восстановительного превращения протонированного цитохрома с протонированием и депротонированием *n*-бензохинона²⁰¹. Для завершения модели²⁰², охватывающей все экспериментальные данные о свойствах переходов между состояниями S_i необходимы дальнейшие исследования. Что касается роли хлорид-ионов, то любая гипотеза о механизме действия и возможной функции ионов Cl^- должна объяснять следующие факты: 1) обратимость эффекта инактивации, вызванной де-

Модели молекулярного механизма фотосинтетического окисления воды



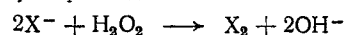
фицитом этих ионов^{152,161}; 2) усиление этого эффекта при инкубации тилакоидов в среде с высоким значением рН и при добавлении разбавителей^{65,154}; 3) обратимость связывания ионов Cl⁻ и зависимость этого процесса от рН (см.¹³); 4) гиперболический вид кинетических кривых активации реакции Хилла ионами Cl⁻ (см.¹⁵²); 5) относительную, но не абсолютную, специфичность Cl⁻ по сравнению с другими анионами^{151,152}; 6) эффект смещения оптимума реакции Хилла в сторону щелочных рН при связывании ионов Cl⁻ (см.^{13,151}).

Ионы Cl⁻, по-видимому, могут выполнять несколько функций в процессе разложения воды. Из-за отсутствия сведений о молекулярных механизмах связывания ионов Cl⁻ пока трудно сделать выбор в пользу какой-либо одной из предложенных гипотез^{64,66,124,125}. Косвенно ион Cl⁻ может действовать как аллостерический эффектор; т. е. он стимулирует расщепление воды, присоединяясь к КВК в местах, не совпадающих с центрами, где происходит сама реакция. Такого рода механизм предложен для объяснения влияния Cl⁻ на способность гемоглобина присоединять кислород.

Возможно, что ионы Cl⁻ способствуют поддержанию особой конформации КВК, подобно тому как закисление внутреннего пространства приводит к изменению состояния этого комплекса. Однако это, по-видимому, второстепенная, а не

главная функция ионов Cl⁻. Мы уже отмечали, что эффекты воздействия Cl⁻ на ФС 2 наблюдались в препаратах, где не создается градиент рН. Не исключено и прямое участие Cl⁻ в процессах, разыгрывающихся в самом активном центре.

Известно, что галогениды металлов принимают участие в качестве субстратов при перекисном окислении с образованием молекулярных галогенов в присутствии гемсодержащего фермента — хлоропероксидазы



Убедительных данных об образовании перекисей в ходе разложения воды не получено, но имеются сообщения о том, что KCN может специфически ингибировать центры разложения воды, и на этом основании предполагается участие в нем гема³².

Исходя из исследования конкуренции между Cl⁻ и NH₃ предполагают²⁰³, что Cl⁻ принимает участие в процессах, происходящих в активных центрах, в качестве лиганда, с разрывающего мостики между атомами Mn, и что Cl⁻ стимулирует выделение O₂, облегчая перенос заряда между атомами Mn.

Гипотеза, предлагаемая автором настоящей статьи, приписывает ионам Cl⁻ двойную роль (рис. 6). Во-первых, они косвенно активируют основной катализ, способствуя освобож-

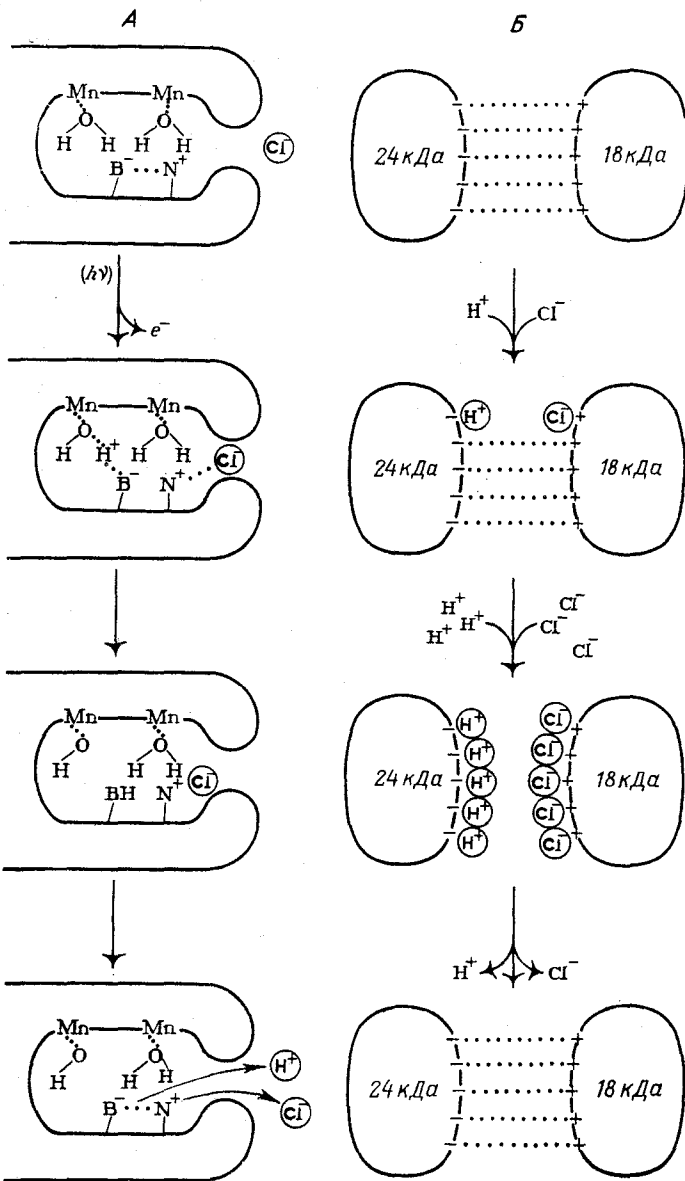


Рис. 6. Модель активации выделения O_2 ионами Cl^- . Ион Cl^- смещает рК реакционноспособных групп КВК. В — основная группа, N^+ — протонированная аминогруппа. А — связывание Cl^- в активном центре способствует связыванию В с протоном воды. Б — выход H^+ внутрь тилакоида в присутствии Cl^- нарушает электростатическое взаимодействие между полипептидами 24 и 18 кДа.

дению H^+ в активном центре КВК в пределах полипептида 33 кДа, и, во-вторых, активируют связывание H^+ в других частях комплекса (например, полипептидами 24 и 18 кДа). Такая роль ионов Cl^- и других анионов известна и в случае других растворимых ферментов. Ключевой момент гипотезы — хорошо известная способность анионов смещать значения рК реакционноспособных групп ферментов путем компенсации соседних положительных зарядов.

Упрощенно процессы в активном центре можно представить так: в активном центре, где происходит окисление воды (см. рис. 6, А) связывание иона Cl^- положительно заряженной аминогруппой N^+ , вызывает атаку протона воды со стороны В⁻ (одна из основных групп белка). Протон становится более лабильным в результате того, что Mn удаляет из воды электрон. Последующее освобождение Cl^- вызывает одновременное выделение H^+ и дает возможность заново образоваться солевым мостикам между В⁻ и N^+ . В присутствии ионов Cl^- выделение H^+ во внутреннее пространство тилакоида (см. рис. 6, Б) приводит к разрыву солевых мостиков между противоположно заряженными полипептидами 18 и 24 кДа. Связывание ионов Cl^- избытком положительных зарядов на олипептиде 18 кДа (рК 8,5—9,5) вызывает связывание протонов избытком отрицательных зарядов на полипептиде 24 кДа (рК 6,5—7,3) и обратно. Последующее удаление про-

тонов обуславливает выделение ионов Cl^- и вновь делает возможным возникновение солевых мостиков. Сначала молекула воды связывается с атомом Mn, затем она ориентируется отрицательным атомом O к атому Mn, а атомом H — в противоположную сторону. Таким образом, атом Mn служит для ориентации и поляризации молекулы воды, подготавливая и облегчая последующее удаление протонов.

*
*

Для разгадки механизма выделения кислорода многое уже сделано: изолирован и охарактеризован ряд полипептидов, участвующих в этом процессе, проведены исследования состояния Mn методами ЭПР и рентгеновской спектроскопии, ионов Cl^- методом ЯМР, с помощью быстродействующих радиоспектроскопических и высокочувствительных оптических методов обнаружен ряд промежуточных состояний системы разложения воды, проведены исследования сравнительно простых мембранных комплексов ФС 2, ее РЦ, препаратов, сохраняющих способность к выделению O_2 . Однако многое еще предстоит сделать, чтобы полностью понять механизм окисления воды. Неясна роль хлорида, пластохинона, птохрома b_{559} ; КВК все еще не получен в изолированной форме и неясно его расположение в мембранах хлоропластов.

Автор выражает признательность докторам Т. Камбара и К. Коулмену за помощь при написании настоящего обзора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Joliot P., Barbieri G., Chabaud R. Photochem. and Photobiol., 1969, v. 10, p. 309.
2. Kok B., Forbush B., McGloin M. Ibid., 1970, v. 11, p. 457.
3. Döring G., Stiehl H. H., Witt H. T. Z. Naturforsch. B, 1967, Bd. 22, S. 639.
4. Van Best J. A., Mathis P. Ibid., 1978, Bd. 503, S. 178.
5. Brettel K., Schloöder E., Witt H. T. Ibid., 1984, Bd. 766, S. 403.
6. Fowler C. F. Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 462, p. 414.
7. Klimov V. V. e. a. FEBS Lett., 1977, v. 82, p. 183.
8. Климов В. В. и др. Докл. АН СССР, 1979, т. 249, с. 227.
9. Velthuys B. R., Amesz J. Biochim. et biophys. acta, 1974, v. 333, p. 85.
10. Babcock G., Blankenship R. E., Sauer K. FEBS Lett., 1976, v. 61, p. 286.
11. Sauer K. Accounts Chem. Res., 1980, v. 13, p. 249.
12. Dismukes G. C., Siderer Y. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 274.
13. Critchley C. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 682, p. 436.
14. Kuwabara T., Murata N. Ibid., 1979, v. 581, p. 228.
15. Metz J., Bishop N. Y. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1980, v. 116, p. 560.
16. Metz J., Wong J., Bishop N. Y. FEBS Lett., 1980, v. 114, p. 61.
17. Akerlund H. E., Jansson C., Anderson B. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 681, p. 1.
18. Boardman N. K., Anderson J. M. Nature, 1964, v. 203, p. 41, 166.
19. Briantais J.-M. Physiol. végét., 1969, v. 1, p. 135.
20. Stewart A. C., Bendall D. S. FEBS Lett., 1979, v. 107, p. 308.
21. Berthold D. A., Babcock G. T., Yocum C. F. Ibid., 1981, v. 134, p. 231.
22. England R. R., Evans E. H. Ibid., 1981, v. 134, p. 175.
23. Yamamoto Y. e. a. Ibid., 1981, v. 133, p. 265.
24. Yamamoto Y. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 679, p. 347.
25. Klimov V. V. e. a. FEBS Lett., 1982, v. 148, p. 307.
26. Kuwabara T., Murata N. Plant and Cell Physiol., 1982, v. 23, p. 533.
27. Kuwabara T., Murata N. Ibid., 1983, v. 24, p. 741.
28. Dunahay T. G. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 764, p. 179.
29. Akerlund H. E., Jansson C. FEBS Lett., 1981, v. 124, p. 229.
30. Satoh K., Butler W. Plant Physiol., 1978, v. 61, p. 373.
31. Diner B., Wollman F. A. Eur. J. Biochem., 1980, v. 110, p. 521.
32. Nakatani M. Y. Plant and Cell Physiol., 1983, v. 24, p. 467.

33. Yamagishi W. A., Katoh S. Arch. Biochim. and Biophys., 1983, v. 225, p. 836.
34. Green B., Camm E. In: Advances in Photosynthesis Research. Vol. 2. The Hague, 1984, p. 95.
35. Bouges-Boquet B. Biochim. et biophys. acta, 1980, v. 594, p. 85.
36. Govindjee Plant Biochem. J. (India) (Sircar Memorial Volume), 1980, p. 7.
37. Goldfeld M. G., Blumenfeld L. A. Bull. Magn. Reson., 1979, v. 2, p. 66.
38. Velthuis B. R. Ann. Rev. Plant Physiol., 1980, v. 31, p. 545.
39. Vermaas W. F. J., Govindjee. In: Photosynthesis. Vol. 2, New York, Academic Press, 1982, p. 541.
40. Cramer W., Crofts A. R. See³⁹. Vol. 1, p. 387.
41. Wudrzynski T. See³⁹. Vol. 1, p. 469.
42. Ames J. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 726, p. 1.
43. Inoué Y. In: The Oxygen Evolving Systems of Photosynthesis. New York: Academic Press, 1983, p. 439.
44. Гольдфельд М. Г. Биодизика, 1982, т. 27, с. 954.
45. Cammarata K. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 311.
46. Izawa S. Photosynthesis Research. In press.
47. Brudvig G. M., Caseu J. C., Sauer K. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 723, p. 366.
48. Гольдфельд М. Г. и др. Докл. АН СССР, 1977, т. 236, с. 1489.
49. Caseu J. L., Sauer K. Biophys. J., 1984, v. 45, p. 271a.
50. Zimmerman J. L., Rutherford A. W. Biochim. et biophys. acta, 1984, v. 767, p. 160.
51. Fowler C. F., Kok B. Ibid., 1974, v. 357, p. 299.
52. Braun-Zilinskas B., Govindjee. FEBS Lett., 1972, v. 25, p. 143.
53. Wudrzynski T. e. a. Biochemistry, 1978, v. 17, p. 2155.
54. Diner B., Joliot R. In: Photosynthesis-I. Berlin: Springer Verlag, 1977, p. 187.
55. Larsson C. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 363.
56. Murata N., Miyao M., Kuwabara T. See⁴³, p. 213.
57. Bricker T. M. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 724, p. 447.
58. Ono T., Inoué Y. FEBS Lett., 1983, v. 164, p. 255.
59. Dismukes G. I. e. a. See⁴³, p. 145.
60. Yamamoto Y., Nishimura M. See³⁴, p. 333.
61. Lobusheva I., Goldfeld M. G., Nox P. P. Photosynthetica, 1985, v. 19, p. 198.
62. Murata N. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 329.
63. Liundberg V. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 367.
64. Govindjee e. a. See⁴³, p. 303.
65. Izawa S., Muallem A., Ramaswamy N. K. See⁴³, p. 293.
66. Brudwig G. W., Beck W. F., de Paula J. Biophys. J., 1984, v. 45, p. 258a.
67. Homann P. H., Johnson J. D., Pfister V. R. See⁴³, p. 275.
68. Butler W., Visser J. W. M., Simmons H. L. Biochim. et biophys. acta, 1973, v. 292, p. 140.
69. Butler W., Matsuda H. See⁴³, p. 113.
70. Whitmarsh J., Ort D. Arch. Biochem. and Biophys., 1983, v. 231, p. 378.
71. Selak M. A., Koch-Whitmarsh B. E., Whitmarsh J. See³⁴. Vol. 1, p. 493.
72. Whitford D., Gounaris K., Barber J. See³⁴. Vol. 1, p. 497.
73. Zilinskas B. Ph. D. Thesis, Univ. Illinois, Urbana, 1975.
74. Witt H. T. In: Bioenergetics of Photosynthesis. New York: Academic Press, 1975, p. 493.
75. Govindjee. See³⁴. Vol. 1, p. 227.
76. Nakatani H. Y. See⁴³, p. 49.
77. Nakatani H. Y., Arntzen C., Inoué Y. See³⁴. Vol. 2, p. 99.
78. Delepelair P., Chua N.-H. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, v. 76, p. 111.
79. Kule D. J. e. a. See⁴³, p. 401.
80. Kyle D. J. Photochem. and Photobiol., 1985, v. 41, p. 107.
81. Wolber R. K., Steinback K. E. Biophys. J., 1984, v. 45, p. 258a.
82. Shohat S. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 681, p. 21.
83. Khanna R. e. a. In: Photosynthesis-II. Photosynthetic Electron Transport and Photophosphorylation. New York: Balaban Intern. Press, 1981, p. 307.
84. Vermaas W. F. J., van Rensen J. J. S., Govindjee. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 681, p. 242.
85. Zurawski G. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1982, v. 79, p. 7699.
86. Rao J. K. M., Hargrave P. A., Argos P. FEBS Lett., 1983, v. 156, p. 165.
87. Radmer R., Cheniae G. In: Primary Processes of Photosynthesis. Amsterdam: Elsevier, 1977, p. 303.
88. Renger G. In: Photosynthetic Oxygen Evolution. New York: Academic Press, 1978, p. 239.
89. Wells C. F. Nature, 1985, v. 205, p. 693.
90. Radmer R., Ollinger O. FEBS Lett., 1983, v. 152, p. 39.
91. Radmer R. See⁴³, p. 135.
92. Vermaas W. F. J., Govindjee. Proc. Nat. Sci. Acad. India B, 1981, v. 47, p. 581.
93. Junge W., Jackson J. B. See⁵⁴, p. 589.
94. Förster V., Hong Y.-Q., Junge W. Biochim. et biophys. acta, 1981, v. 638, p. 141.
95. Saphon S., Crofts A. R. Z. Naturforsch. C, 1974, Bd. 32, S. 617.
96. Rowes J. M., Crofts A. R. Ibid., 1978, Bd. 33c, S. 271.
97. Wille B., Lavergne J. Photobiochem. and Photobiophys., 1982, v. 4, p. 131.
98. Wudrzynski T., Marks S. B., Govindjee. In: Abstracts of 4th International Congress on Photosynthesis, 4—9 September 1977. Rieding, p. 417.
99. Joliot P., Kok B. See⁷⁴, p. 387.
100. Briantais J.-M. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 461, p. 61.
101. Frash W. D., Cheniae G. M. Plant Physiol., 1980, v. 65, p. 735.
102. Delrieu M. J. Z. Naturforsch. C, 1983, Bd. 38, S. 247.
103. Lavorel J. FEBS Lett., 1976, v. 66, p. 164.
104. Lavorel J., Maison-Peterie B. Physiol. végét., 1983, v. 21, p. 509.
105. Vermaas W. F. J., Renger G., Dohnt G. Biochim. et biophys. acta, 1984, v. 704, p. 194.
106. Bader K. P. See³⁴. Vol. 1, p. 287.
107. Renger G., Weiss W. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 722, p. 1.
108. Lynch M. W. e. a. J. Amer. Chem. Soc., 1984, v. 106, p. 2041.
109. Saugin O., Witt H. T. Photobiochem. and Photobiophys., 1985, v. 10, p. 71.
110. Seibert M., Cotton T. FEBS Lett., 1985, v. 182, p. 34.
111. Sadewasser D. A., Dilleu R. A. Biochim. et biophys. acta, 1978, v. 501, p. 208.
112. Гольдфельд М. Г. и др. Молекуляр. биология, 1980, т. 14, с. 804.
113. Inoue Y., Shibata K. See³⁹. Vol. 1, p. 507.
114. Govindjee, Koike H., Inoué Y. Photochem. and Photobiol., 1984, v. 39, p. 32s.
115. Light Emission by Plants and Bacteria. Orlando, Academic Press, 1985.
116. Jansson C., Alkerlund H.-E., Andersson B. Photosynth. Res., 1983, v. 4, p. 271.
117. Jansson C. See³⁴. Vol. 1, p. 375.
118. Yamamoto Y., Shimada S., Nishimura M. FEBS Lett., 1983, v. 151, p. 49.
119. Nakatani H. Y. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1984, v. 120, p. 299.
120. Ono T., Inoué Y. FEBS Lett., 1984, v. 168, p. 281.
121. Ono T., Inoué Y. Ibid., 1984, v. 166, p. 381.
122. Ono T., Inoué Y. Biochim. et biophys. acta, 1985, v. 806, p. 331.
123. Andersson B. e. a. FEBS Lett., 1984, v. 168, p. 113.
124. Itoh S. e. a. Biochim. et biophys. acta, in press.
125. Theg S. M., Jursinic P., Homann P. H. Ibid., in press.
126. Tang X. S., Satoh K. FEBS Lett., 1985, v. 179, p. 60.
127. Cheniae G. Meth. Enzymol., 1980, v. 69, p. 349.
128. Cheniae G., Martin L. F. Biochim. et biophys. acta, 1970, v. 219, p. 197, p. 219.
129. Sharp R. R., Yocum C. F. Ibid., 1980, v. 592, p. 185.
130. Khanna R. e. a. Isr. J. Chem., 1981, v. 21, p. 291.
131. Yocum C. F. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, p. 7507.
132. Khanna R. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 725, p. 10.
133. Cheniae G. L. Ann. Rev. Plant Physiol., 1970, v. 21, p. 467.
134. Lawrence G. D., Sawyer D. T. Coord. Chem. Revs, 1978, v. 27, p. 173.
135. Malmström. B. G. Ann. Rev. Biochem., 1982, v. 51, p. 21.
136. Jones R. D., Summerville D. A., Busalo F. Chem. Revs, 1979, v. 79, p. 139.
137. Renger G., Weiss W. See³⁴. Vol. 1, p. 253.
138. Miller M., Cox R. See³⁴. Vol. 1, p. 355.

139. Abramowicz D. A., Raab T. K., Dismukes G. See³⁴. Vol. 1, p. 349.
140. Kusunoki M. See³⁴. Vol. 1, p. 275.
141. Yocum C. F. See³⁴. Vol. 1, p. 239.
142. Lozier R., Baginsky M., Butler W. L. Photochem. and Photobiol., 1971, v. 14, p. 323.
143. Blankenship R. E., Babcock G. T., Sauer K. Biochim. et biophys. acta, 1975, v. 387, p. 165.
144. Wydrzynski T., Sauer K. Ibid., 1980, v. 589, p. 56.
145. Hansson D. Andreasson L. E., Vanngard T. See³⁴. Vol. 1, p. 307.
146. Dismukes G. C., Ferris K., Watnick P. Photobiochem. and Photobiophys., 1982, v. 3, p. 243.
147. De Paula J. C., Brudwing G. W. J. Amer. Chem. Soc., 1985, v. 107, p. 2643.
148. Kirby J. A. e. a. Ibid., 1981, v. 103, p. 3537.
149. Wydrzynski T. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1975, v. 408, p. 349.
150. Гольдфельд М. Г., Возвышаева Л. В., Юшманов В. Е. Биофизика, 1979, т. 24, с. 264.
151. Hind G., Nakatani H. Y., Izawa S. Biochim. et biophys. acta, 1969, v. 172, p. 277.
152. Kelley P. M., Izawa S. Ibid., 1978, v. 502, p. 198.
153. Coleman W. J. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 283.
154. Theg S. M., Homann P. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 674, p. 221.
155. Baianu I. C. e. a. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1984, v. 81, p. 3713.
156. Critchley C. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 724, p. 1.
157. Ghanotakis D. F. e. a. FEBS Lett., 1985, v. 192, p. 1.
158. Mathis P., Pailotin G. In: Biochemistry of Plants. Vol. 8. New York: Academic Press, 1981, p. 97.
159. Babcock G. T. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 723, p. 276.
160. Boska M. e. a. Ibid., 1983, v. 722, p. 327.
161. Boska M., Sauer K. Ibid., 1984, v. 765, p. 84.
162. Sauer K. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 121.
163. O'Malley P. J., Babcock G. T. Biophys. J., 1983, v. 41, p. 315a.
164. Babcock G. T. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 243.
165. Dekker J. P., Brok M., van Gorkom H. J. See³⁴. Vol. 1, p. 171.
166. Diner B., de Vitry C. See³⁴. Vol. 1, p. 407.
167. Weiss W., Renger G. See³⁴. Vol. 1, p. 167.
168. Renger G., Völker M. FEBS Lett., 1982, v. 149, p. 203.
169. Wood P. M., Bendall D. S. Eur. J. Biochem., 1976, v. 61, p. 337.
170. Jursinic P., Govindjee. Photochem. and Photobiol., 1977, v. 26, p. 617.
171. Bishop N. I. See³⁴. Vol. 1, p. 321.
172. Jursinic R., Govindjee. Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 461, p. 253.
173. Bouscass A., Etienne A.-L. FEBS Lett., 1982, v. 14, p. 113.
174. De Paula J., Jones J. B., Brudwing G. W. Biochemistry, 1985, v. 24, p. 8114.
175. Bendall D. Biochim. et biophys. acta, 1982, v. 683, p. 119.
176. Widger W. R. e. a. See⁴³, p. 123.
177. Maroc J., Garnier J. Biochim. et biophys. acta, 1981, v. 637, p. 473.
178. Gerwick B. C. In: Handbook of Biosolar Resources. Vol. 1. Part 2. Boca Raton (Florida): CRC Press, Inc., 1982, p. 213.
179. Due T. e. a. See³⁴. Vol. 1, p. 381.
180. Holdsworth E. S., Arshad J. H. Arch. Biochem. and Biophys., 1977, v. 183, p. 361.
181. Ramaswamy N. K., Nair P. M. Plant Sci. Lett., 1978, v. 13, p. 383.
182. Piccioni R. G., Mauzerall D. C. Biochim. et biophys. acta, 1976, v. 423, p. 605.
183. Piccioni R. G., Mauzerall D. C. Ibid., 1978, v. 504, p. 384, 398.
184. Yu M. C., Brand J. J. Ibid., 1980, v. 591, p. 483.
185. England R. R., Evans E. M. Biochem. J., 1983, v. 210, p. 473.
186. Pakrosi H. P., Sherman L. A. See³⁴. Vol. 1, p. 395.
187. Barr R., Troxel K. S., Crane F. L. Plant Physiol., 1983, v. 72, p. 309.
188. Barr R., Crane F. L. See³⁴. Vol. 1, p. 441.
189. Miyao M., Murata N. FEBS Lett., 1984, v. 168, p. 118.
190. One T. A., Inoué Y. Biochim. et biophys. acta, 1983, v. 723, p. 191.
191. Renger G. FEBS Lett., 1977, v. 81, p. 223.
192. Goodin D. B. Ph. D. Thesis, Univ. California, 1983.
193. Renger G. Eckert H.-J., Weiss W. See⁴³, p. 73.
194. Cooper S. R. e. a. J. Amer. Chem. Soc., 1978, v. 100, p. 7248.
195. Wohlgermuth R., Otvos J. W., Calvin M. See³⁴. Vol. 1, p. 745.
196. Dekker J. P. e. a. Biochim. et biophys. acta, 1984, v. 764, p. 301.
197. Dekker J. P. e. a. Ibid., 1984, v. 767, p. 1.
198. Куликов А. В. и др. Биофизика, 1983, т. 28, с. 381.
199. Kusunoki M. e. a. FEBS Lett., 1980, v. 117, p. 179.
200. Saleem M. M., Wilson M. T. Biochem. J., 1982, v. 201, p. 433.
201. Rich R., Bendall D. S. Biochim. et biophys. acta, 1980, v. 592, p. 506.
202. Kambara T., Govindjee. Biophys. J., 1985, v. 47, p. 419a.
203. Sandusky P. D., Yocum C. F. FEBS Lett., 1983, v. 162, p. 339.

РЕФЕРАТЫ

Преобразование солнечной энергии при фотосинтезе: проблемы и перспективы. Красновский А. А. Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1986, т. 31, № 6.

Дается краткий очерк современного состояния исследований природного фотосинтеза и его моделирования. Рассматривается структура энергетического баланса хозяйственной деятельности человека, перспективы создания преобразователей энергии солнечного излучения, использование в энергетических целях биомассы. Описаны основные направления работ по изучению структуры фотосинтетического аппарата растений и моделированию его функций. Рисунков — 5, таблиц — 1, литература — 23 ссылки.

Фотобиотехнология: горючее из биомассы. Варфоломеев С. Д., Березин И. В. Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1986, т. 31, № 6.

Обсуждаются биотехнологические основы получения и трансформации топлив, проблемы получения молекулярного водорода из воды на основе фотосинтезирующих систем, а также биотехнологическое получение метана, пути создания систем фотоллиза воды на основе биокаталитических структур. Рассмотрены кинетико-термодинамические особенности молекулярных систем преобразования солнечной энергии, теоретическая предельная производительность таких систем. Детально анализируются экспериментальные данные по фотоллизу воды в системах микроскопические водоросли—анаэробные бактерии — продуценты водорода и метана. Рисунков — 5, литература — 29 ссылок.

Путь электрона в фотосинтезе: реакции в фотомембранах. Тимофеев К. Н., Гольдфельд М. Г. Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1986, т. 31, № 6.

Дан краткий очерк механизмов электронного транспорта в мембранах хлоропластов. Рассмотрены первичные процессы в реакционных центрах двух фотосистем, состав связанных доноров и акцепторов электрона, реакции при участии подвижных мембранных переносчиков

(главным образом, пластохинона), значение этих реакций в трансформации энергии. Широко использованы данные спектроскопии ЭПР. Рисунков — 3, литература — 108 ссылок.

Бактериальный фотосинтез: динамика белков и перенос зарядов. Коноенко А. А., Рубин А. Б. Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1986, т. 31, № 6.

Дан краткий обзор, главным образом, собственных исследований авторов по взаимосвязи конформационной подвижности мембранных белков в составе реакционных центров бактериального фотосинтеза и разделения зарядов в ходе первичных стадий фотосинтеза. Рисунков — 3, литература — 59 ссылок.

Самые ранние стадии фотосинтеза: поглощение, перенос и конверсия энергии света. Борисов А. Ю., Ганаго А. О., Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1986, т. 31, № 6.

Кратко изложены современные представления о первичных стадиях преобразования солнечной энергии в электрохимическую энергию в фотосинтезирующих бактериях и зеленых растениях. Приведены данные о поглощении света, переносе энергии электронного возбуждения от молекулы-светосборщиков к реакционным центрам, о стадиях переноса электрона в реакционных центрах. Рассмотрены молекулярные механизмы реакций и пространственная организация участвующих в них молекул. Обсуждаются факторы, обеспечивающие высокую квантовую эффективность преобразования энергии света при фотосинтезе. Рисунков — 1, литература — 46 ссылок.

Механизм образования кислорода в фотосинтезе. Говинджи (США). Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1986, т. 31, № 6.

Приведен исчерпывающий обзор современных экспериментальных данных и теоретических представлений по механизму фотосинтетического окисления воды с образованием молекулярного кислорода. Рассмотрен состав кислородвыделяющего комплекса, его пространствен-

Продолжение на стр. 529