

УДК 581.1

СРАВНЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ МЕМБРАННЫХ КОМПЛЕКСОВ ФОТОСИСТЕМ I И II В ХЛОРОПЛАСТАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

С.М. КОЧУБЕЙ

*Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
03022 Киев, ул. Васильковская, 31/17*

Рассмотрены современные данные о биохимическом составе супрамолекулярных мембранных комплексов фотосистем I и II, взаимном расположении их компонентов. Приведены схемы пространственной организации этих комплексов в мембране, проведен сравнительный анализ особенностей их организации.

Ключевые слова: хлоропласты, фотосистема I, фотосистема II, пигмент-белковые комплексы.

В первичных реакциях оксигенного фотосинтеза, специфичного для высших растений, происходит сопряженное функционирование двух энерготрансформирующих систем. Они реализованы в виде супрамолекулярных пигмент-белковых мембранных комплексов ФС I и ФС II. Комплексы представлены наборами белковых субъединиц, играющих определенную роль в их функционировании, а также связанных с ними коферментов, которые являются звеньями цепи транспорта электронов. Различают ядро комплекса, ФС I-core (PS I-core) и ФС II-core (PS II-core). Эта часть комплекса осуществляет первичную фотореакцию, вторая его часть представлена светособирающей антенной.

Компонентный состав комплексов ФС I и ФС II был установлен в основном биохимическими методами в конце XX в. Уточнение и доказательства аутентичности составляющих субъединиц было проведено позднее с привлечением генетических подходов, а именно после выделения и изучения соответствующих генов. Аутентичными или «подлинными» (genuine) считают субъединицы, которые входят в набор компонентов, необходимых для поддержания структуры и функционирования соответствующих комплексов. Роль отдельных компонентов выявлена также с использованием генетических и генно-инженерных подходов, например таких, как точечный мутагенез и встраивание антисмысловых конструкций.

Значительный успех в выяснении пространственной организации комплексов достигнут в последние годы, когда были получены их кристаллические формы и изучены методом рентгеноструктурного анализа. Трехмерные модели расположения комплексов и их компонентов в мембранах разработаны с применением новых методов криоэлектронной микроскопии, а также специальных методов обработки изображений, например таких, как анализ одиночных частиц. Таким образом, к настоящему времени имеется достаточно полное представление о составе и

пространственной организации супрамолекулярных пигмент-белковых комплексов ФС I и ФС II.

Фотосистема I. ФС I-core включает 14 субъединиц. Их список вместе с некоторыми характеристиками приведен в табл. 1. Доказано, что 12 субъединиц, начиная с PsaA и до PsaL, являются аутентичными [16]. Предполагают, что протеины PsaN и PsaO также являются «подлинными», однако этот факт пока не доказан. Следует отметить, что субъединицы PsaG и PsaH специфичны только для ФС I высших растений. Они отсутствуют в ФС I цианобактерий, которые содержат специфичные только для них PsaM и PsaX.

Комплекс ФС I в мембране имеет форму эллипсоида размером $(15-18) \times (8-9) \times 6$ нм [25]. Со стороны стромы он образует выступ высотой 2,5–3,0 нм, образованный субъединицами PsaC, PsaD и PsaE (рис. 1, а). Со стороны люмена комплекс более плоский и имеет углубление до 3 нм, которое частично разъединяет субъединицы PsaA и PsaB и является местом локализации медьсодержащего белка, пластоцианина (PC), представляющего донор электронов к реакционному центру ФС I (см. рис. 1, а). Расположение малых трансмембранных субъединиц, по-

ТАБЛИЦА 1. Полипептиды фотосистемы I

Субъединица	Количество ТМ α -спиралей	Количество связанных молекул хлорофилла	Ген С/Н	Связанные кофакторы и функция
PsaA	11	40	psaA(C)	P700, A ₀ , A ₁ , F _x , разделение зарядов
PsaB	11	39	psaB(C)	То же, совместно с PsaA
PsaC	S	—	psaC(C)	2[4Fe-4S] (F _A , F _B), перенос электронов, взаимодействует с растворимым ферредоксином
PsaD	S	—	PsaD(N)	Поддерживает ансамбль всех субъединиц ФС I-core
PsaE	S	—	PsaE(N)	Облегчает интеграцию с растворимым ферредоксином, важна для циклического транспорта электронов
PsaF	1	—	PsaF(N)	В контакте с пластоцианином обеспечивает быстрый транспорт электронов от пластоцианина к P700
PsaG	2	1	PsaG(N)	Обеспечивает связь с LHC1 посредством взаимодействия с Lhca1
PsaH	1	1	psaH(N)	Взаимодействует с LHC1
PsaI	1	—	psaI(C)	Нормализует организацию PSI
PsaJ	1	2	psaJ(C)	То же
PsaK	2	2	PsaK(N)	?
PsaL	3	3	PsaL(N)	?
PsaN	L	—	PsaN(N)	?
PsaO	?	—	?	?

Примечание. Здесь и в табл. 2: ТМ — трансмембранное положение полипептида; S, L — поверхностное положение соответственно со стороны стромы и люмена; С, N — кодирование соответственно хлоропластным и ядерным геномом.

казанное на рис. 1, *а*, является условным, что связано с двумерным изображением. В действительности они расположены вокруг основных субъединиц PsaA и PsaB, как показано на рис. 1, *б*.

Субъединицы PsaA и PsaB составляют основу комплекса ФС I. Они имеют наибольшие молекулярные массы и содержат наибольшее количество трансмембранных α -спиралей (см. табл. 1). На этих субъединицах расположен реакционный центр или первичный донор электронов ФС I, так называемый пигмент P700 (P700), а также несколько акцепторных молекул. Это A_0 , A_1 и F_x (рис. 2). P700 (редокс-потенциал $E'_m = +430$ мВ) осуществляет светоиндуцированное первичное разделение зарядов. Он образован парой молекул хл. *a* и является хл. *a/a'*

гетеродимером, поскольку молекулы хл. *a* и хл. *a'* не идентичны и поэтому реализуют не полностью симметричную конструкцию. Пара молекул хл. *a*, симметрично расположенных на расстоянии приблизительно 1,6 нм от P700, является первичным акцептором электронов A_0 ($E'_m = -1000$ мВ). Существуют еще два мономера хл. *a*, расположенные приблизительно на половине расстояния между P700 и A_0 (см. рис. 2). Эти молекулы хл. *a*, которые считаются вспомогательными, могут участвовать в световом возбуждении и (или) переносе электронов. Следующим акцептором, к которому переносятся электроны от A_0 и который расположен на субъединицах PsaA и PsaB, является A_1 ($E'_m = -800$ мВ) (см. рис. 2). Это две молекулы филохинона, за которыми следует последний из акцепторов, связанных с PsaA и PsaB — F_x . Филохиноны расположены на «псевдосимметричной» оси 2-го порядка, но углы их наклона и взаимодействие с протеином не идентичны. F_x ($E'_m = -705$ мВ) является внутривитрипептидным (4Fe-4S) кластером.

Таким образом, согласно данным, полученным в последнее время, особенностью пространственной организации кофакторов, локализованных на субъединицах PsaA и PsaB, является существование двух квазисимметричных ветвей транспорта электронов. Экспериментальные данные дают ряд доказательств тому, что значительно более высокие электронные плотности обнаруживаются для кофакторов, связанных с субъединицей PsaB. Тем не менее имеются данные, указывающие на прохождение электронов и через вторую ветвь, расположенную на PsaA.

Как отмечалось выше, на стромальной стороне мембраны расположены ассоциированные с PsaA и PsaB субъединицы PsaC, D и E (см. рис. 1). Они не имеют трансмембранных спиралей (см. табл. 1) и являются внешними или периферийными белками. С первой из них связаны по-

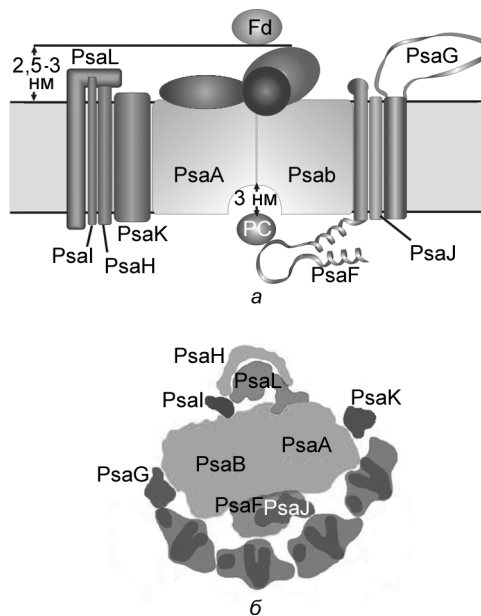


Рис. 1. Схема пространственного расположения в мембране субъединиц комплекса ФС I-core (из работы [6]):

a — разрез, вид сбоку; *б* — вид сверху со стороны стромы

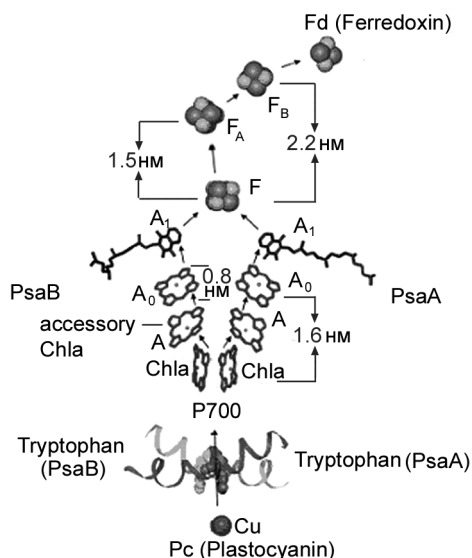


Рис. 2. Пространственное расположение кофакторов транспорта электронов в пределах ФС I-core (модифицированная схема из работы [16])

Субъединица PsaH, специфичная только для высших растений, имеет одну трансмембранную α -спираль, за которой следует спираль длиной 2,0 нм, располагающаяся на поверхности мембраны со стороны стромы и связывающая одну молекулу хлорофилла. Субъединица PsaG, также специфичная только для высших растений, гомологична PsaK и располагается в мембране с противоположной стороны от пары протеинов PsaA—PsaB по отношению к PsaK, рядом с PsaB (см. рис. 1, б), с которой она прочно связана. Две трансмембранные спирали PsaG образуют довольно длинную петлю на стромальной поверхности мембраны (см. рис. 1). Очевидно, за счет такой структуры создается поверхность для ассоциации светособирающего комплекса (LHC), которая, как считают, реализуется благодаря спираль-спиральному взаимодействию с субъединицей Lhca1.

На люменальной стороне трансмембранная субъединица PsaF имеет специфическую конструкцию спираль—петля—спираль (см. рис. 1), которая обеспечивает более тесную связь с пластоцианином (PC), что обуславливает высокую скорость переноса электронов с PC на P700 — на 2 порядка выше по сравнению с цианобактериями, не имеющими упомянутого структурного образования в субъединице PsaF. Следует отметить, что заряд-зарядовое взаимодействие PsaF и PC обеспечивает контроль за процессом переноса электронов и облегчает его за счет стабилизации локальной пространственной структуры [16]. Связывание PC с комплексом ФС I осуществляется в результате гидрофобного взаимодействия этого белка с субъединицами PsaA и PsaB.

Исследованиями пространственной структуры в кристаллических комплексах ФС I методами рентгеноструктурного анализа высокого разрешения выявлены особенности взаимодействия белков комплекса ФС I с протеинами, растворенными в строме — ферредоксином, ферредоксин-НАДФ-редуктазой, а также ассоциации со светособирающим комплексом ФС II, LHC II, который при определенных обстоятельствах мо-

следующие акцепторы электронов ФС I — F_A ($E'_m = -520$ мВ) и F_B ($E'_m = -580$ мВ) (см. рис. 2) — кластеры 4Fe-4S.

Субъединицы PsaC, D и E идентичны таковым для ФС I из цианобактерий за исключением того, что PsaD имеет N-терминальное продолжение, специфичное только для эукариотов. Возможно, именно этот фрагмент обуславливает устойчивость комплекса ФС I растений к действию хаотропных агентов.

В комплексе ФС I содержатся еще 7 трансмембранных протеинов — PsaF-PsaL с меньшими молекулярными массами и меньшим количеством трансмембранных α -спиралей. На люменальной стороне расположена еще одна периферийная субъединица — PsaN (см. табл. 1).

жет от нее отделяться и присоединяться к ФС I. Таким образом, появляются основания для установления особенностей механизмов переноса энергии и транспорта электронов, скорость которых в комплексах ФС I из растений на 2 порядка выше, чем в цианобактериях.

Светособирающая антенна ФС I обозначается ЛНС I и содержит полипептиды четырех типов, принадлежащие к семейству ядерных саб-генов или, как их называют в настоящее время, к семейству Lhc-супергенов. Это полипептиды Lhca1, Lhca2, Lhca3 и Lhca4. Их молекулярные массы составляют соответственно 22, 23, 24 и 21 кД [20]. В арабидопсисе обнаружены два дополнительные полипептида Lhca5 и Lhca6, но их количество мало, и, кроме того, не доказано, действительно ли они входят в ЛНС I. Lhca1 и Lhca4 образуют гетеродимер, который представляет так называемую длинноволновую антенну ФС I, ЛНС I-730. Первоначально считали, что каждый из полипептидов Lhca2 и Lhca3 образует димер [10]. Позднее появились данные о том, что они также образуют гетеродимеры и что их взаимное присутствие обуславливает стабильность этих образований [4, 9].

Исследования кристаллической структуры ЛНС I позволили уточнить ранее полученные данные о количестве молекул хлорофилла, связанных с отдельными субъединицами [2]. Lhca1, Lhca2 и Lhca4 связывают по 12 молекул хлорофиллов ($a+b$) каждая. 11 молекул хлорофиллов связаны с Lhca3. Кроме того, считают, что еще 9 молекул хлорофиллов служат связывающим ингредиентом между комплексами Lhca. Биохимическими методами показано, что именно для образования гетеродимера Lhca1—Lhca4 необходимо дополнительное количество молекул хлорофилла, преимущественно хл. b [20]. Отношение хл. a/b для мономерных субъединиц ЛНС I 2—3, т.е. более высокое, чем у субъединиц ЛНС II (1,3). Это отношение понижается для гетеродимера Lhca1—Lhca4 за счет дополнительных, связывающих субъединицы молекул хл. b .

Lhca2 и Lhca4 отличаются от Lhca1 и Lhca3 по ряду параметров. Первые две имеют более высокое содержание хл. b по сравнению с таковым у Lhca1 и Lhca3. Они связывают по две молекулы каротиноидов на полипептид, а не три. Для поддержания пространственной структуры субъединицам Lhca2 и Lhca4 необходимы как хл. a , так и хл. b , в то время как для поддержания стабильности структуры Lhca1 и Lhca3 достаточно одного хл. a [3]. Спектры кругового дихроизма выявляют существенное подобие организации пигментов для Lhca2, Lhca4, с одной стороны, и Lhca3, Lhca1 — с другой [3]. Близкое подобие Lhca2 и Lhca4 подтверждено также сиквенс-анализом, который выявил их 55 %-ю идентичность и 75 %-ю гомологию.

Пространственная организация ЛНС I относительно ФС I установлена биохимическими исследованиями, а также при изучении электронно-микроскопических изображений ФС I-ЛНС I суперкомплекса. Одна из ранних моделей указывала, что на один ФС I комплекс приходится 4 димера Lhca субъединиц, т.е. 8 мономеров [11]. Электронно-микроскопическими исследованиями выявлена особенность структуры ФС I-ЛНС I суперкомплекса, обусловленная тем, что вся периферийная антенна ЛНС I располагается с одной его стороны, а именно, около субъединиц PsaF и PsaJ (см. рис. 1, б). Из рисунка видно, что один край полукольца, образованного субъединицами ЛНС I комплекса, близко контактирует с PsaG субъединицей, что соответствует упоминавшемуся выше представлению о связи длинной внешней петли этого протеина на стромальной поверхности с Lhca1 субъединицей.

На электронно-микроскопических изображениях ФС I-LHC I суперкомплекса (см. рис. 1, б) выявлены четыре компонента в области комплекса LHC I [2]. Авторы цитируемой работы предположили, что они относятся к четырем мономерам Lhca, расположенным в последовательности Lhca1—Lhca4—Lhca2—Lhca3 (от PsaG субъединицы до PsaK). Исходя из биохимических данных, следует полагать, что эти компоненты относятся к димерам Lhca. Возможно, что мономеры расположены не в одной плоскости, а повернуты в пространстве друг относительно друга подобно тому, как это наблюдается для компонентов светособирающей антенны ФС II.

Как было установлено спектральными исследованиями, вся антенная система LHC I тесно связана с комплексом ФС I, что обуславливает быстрый перенос энергии — характеристическое время около 120 пс, т.е. почти на порядок быстрее, чем для ФС II. Таким образом, почти все световые кванты, поглощенные хлорофиллами LHC I, попадают на реакционные центры ФС I. Вследствие этого в спектрах флуоресценции даже при низких температурах практически невозможно наблюдать свечение LHC I, в связи с чем в течение многих лет считали, что ФС I не имеет собственной светособирающей антенны. Причиной такого тесного взаимодействия между антенной и комплексом ФС I очевидно является особенность организации суперкомплекса, обусловленная наличием дополнительных, связывающих молекул хлорофилла, что создает более тесную пространственную упаковку.

Фотосистема II. Нативным состоянием комплекса ФС II в мембране считают конструкцию, состоящую из двух связанных так называемых суперкомплексов ФС II, которые представляют собой ассоциацию ФС II со светособирающим хл. *a/b* пигмент-белковым комплексом LHC II. Последний является третьим супрамолекулярным пигмент-белковым комплексом мембран хлоропластов. Поэтому организацию ФС II в мембране принято считать димерной, подразумевая при этом два связанных ФС II-LHC II комплекса.

Рассмотрим организацию мономера комплекса ФС II, не включающего белки внешней светособирающей антенны и LHC II. Кристаллические структуры комплекса ФС II из растений получить не удается, поскольку при кристаллизации происходит протеолиз белков [17]. Поэтому известные в настоящее время модели разработаны в основном по данным, полученным для кристаллических структур комплекса ФС II из термофильных цианобактерий. Эти модели вполне применимы к ФС II из растений, так как их состав практически совпадает с таковым для бактериальных комплексов, что установлено на основании биохимических и спектральных исследований [17].

В состав мономера ФС II входят 21 белковая субъединица, 36 молекул хлорофилла, 2 молекулы феофитина *a*, 7 молекул β-каротина, пластохиноны Q_A и Q_B, редокс-активные тирозины Y_Z и Y_D, а также 4 атома Mn, атом негеминового железа, по 1 иону Ca²⁺ и Cl⁻. Перечень субъединиц ФС II с некоторыми их характеристиками приведен в табл. 2.

Пространственную структуру комплекса ФС II иллюстрирует рис. 3. Две субъединицы наибольшей молекулярной массы PsbA и PsbD (в литературе прежних лет — белки D1 и D2) тесно сближены между собой. PsbA (D1) и PsbD (D2) связывают 6 молекул хл. *a*, в том числе 2 хл. *a*, принадлежащие реакционному центру ФС II P680 (P680), и 2 ближайших к ним молекулы хл. *a*—хл_{ZD1} и хл_{ZD2} (Chl_{ZD1} и Chl_{ZD2}), а также фе-

СРАВНЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ МЕМБРАННЫХ КОМПЛЕКСОВ

ТАБЛИЦА 2. Полипептиды фотосистемы II

Субъединица	Количество ТМ α -спиралей	Количество связанных молекул хлорофилла	Ген C/N	Связанные кофакторы и функция
PsbA (D1)	5	3	psbA (C)	Y _Z , 4Mn, P680, ChL _{ZD1} , Pheo a, Q _B , β -каротин, разделение зарядов
PsbD (D2)	5	3	psbD (C)	Y _D , P680, ChL _{ZD2} , Pheo a, Q _A , β -каротин, разделение зарядов
PsbE (цит b559 α -субъединица)	1		psbE (C)	Гем, циклический транспорт вокруг ФС II
PsbF (цит b559 β -субъединица)	1		psbF (C)	То же
PsbB (CP47)	6	16	psbB (C)	Chl a, β -каротин, внутренняя антенна
PsbC (CP43)	6	14	psbC (C)	То же
PsbH	1		psbH (C)	Регуляция электронного переноса между Q _A , Q _B ?
PsbI	1		psbI (C)	Стабилизирует связывание 5- и 6-й молекул хлорофилла, расположенных на D1 и D2 белках соответственно
PsbJ	1		psbJ (C)	Компонент кластера около PsbC, возможно включена в стабилизацию комплекса ФС II с участием β -каротина
PsbK	1		psbK (C)	То же
PsbL	1		psbL (C)	Участие в образовании димера ФС II
PsbM	1		psbM (C)	То же
PsbN	1		psbN (C)	Компонент кластера около PsbC, возможно включена в стабилизацию комплекса ФС II с участием β -каротина
PsbO (OE33)	L		PsbO (N)	Стабилизация Mn-кластера, Ca ²⁺ и Cl ⁻ связывание?
PsbP (OE23)	L		PsbP (N)	Ca ²⁺ и Cl ⁻ связывание?
PsbQ (OE16)	L		PsbQ (N)	То же
PsbS	4		?	?
PsbT	1		psbT (C)	Участие в образовании димера ФС II, обеспечивает эффективное замещение фотоповрежденного белка D1
PsbX	1		psbX (N)	Стабилизирует связывание 5- и 6-й молекул хлорофилла, расположенных на D1 и D2 белках соответственно, экспрессия гена светозависима
PsbY	1		?	?
PsbZ	2		PsbZ	Компонент кластера около PsbC, возможно включена в стабилизацию комплекса ФС II с участием β -каротина

Примечание. OE33, OE23, OE16 — обозначения белков кислородвыделяющего комплекса в литературе прежних лет.

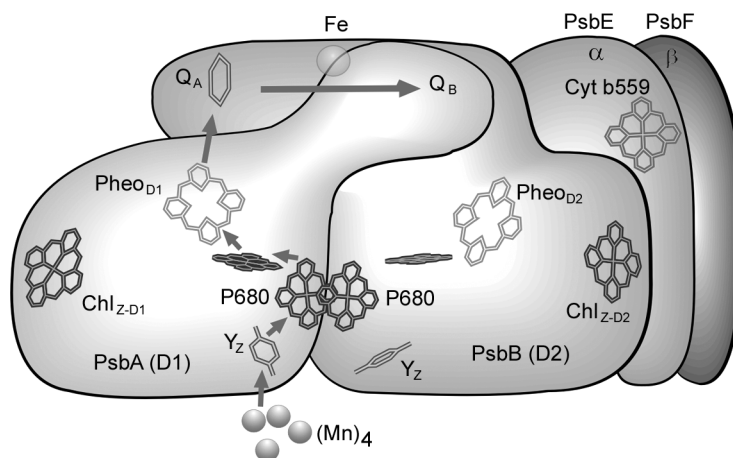


Рис. 3. Пространственное расположение кофакторов транспорта электронов в пределах ФС II-core (без указания полипептидов внутренней антенны PsbB PsbC) (модифицированная схема из работы [1])

офитин *a* (Pheo *a*), пластохиноны Q_A и Q_B , редокс-активные тирозины Y_Z и Y_D . Расположенный на этих субъединицах P680 осуществляет светиндуцированное разделение зарядов. P680 представлен димером молекул хл. *a*, расстояние между которыми равно 0,83 нм. Расстояния между остальными кофакторами следующие: P680→Chl_{ZD1} — 1,06 нм, Chl_{ZD1}→Pheo *a* — 1,06 нм, Pheo *a*→ Q_A — 1,4 нм [12]. На поверхности субъединиц PsbA и PsbD, обращенной к строме, находятся места связывания пластохинонов Q_B и Q_A . Они образованы аминокислотными остатками PsbA (белок D1) для Q_B и PsbD (белок D2) для Q_A . Атом негеминного железа между этими хинонами завершает структуру пространственного фрагмента (см. рис. 3).

В тесной близости к субъединице PsbA (D1) расположена субъединица PsbC, PsbB аналогично расположена относительно PsbD (D2) (рис. 4). В литературе прежних лет эти белки обозначали как CP43 (PsbC) и CP47 (PsbB). Они выполняют светособирающую функцию, т.е. поглощают свет и передают энергию возбуждения реакционному центру P680.

PsbC и PsbB также принимают энергию возбуждения от периферийной антенны и направляют ее к реакционному центру. Таким образом, они являются белками внутренней антенны. Следует отметить, что эти протеины — продукты хлоропластных генов (см. табл. 2), к семейству которых принадлежат многие другие, кодирующие большинство белков комплекса ФС II. В отличие от них все остальные протеины, выполняющие светособирающую функцию как в ФС I, так и в ФС II, в том числе и так называемые минорные светособирающие белки ФС II, принадлежат к семейству

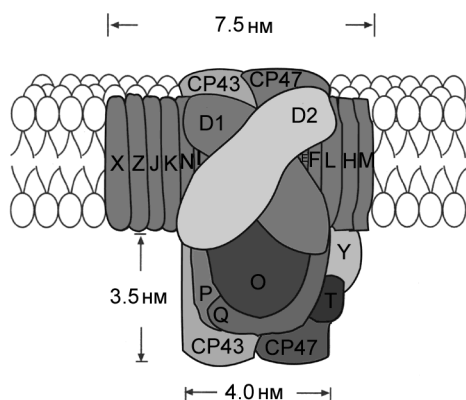


Рис. 4. Схема пространственного расположения в мембране субъединиц комплекса ФС II-core (разрез, вид сбоку) (модифицированная схема из работы [25])

ядерных *sab*-генов. Заметим также, что ФС I не содержит подобных белков внутренней антенны, таких как CP43 и CP47.

Субъединицы PsbE и PsbF (см. табл. 2, рис. 3, 4) являются протеинами цитохрома *b559* (*cyt b559*), который участвует в цепи циклического транспорта электронов вокруг ФС I.

Субъединицы PsbH, I, J, K, L, M, N, S, T, X, Y и Z (см. рис. 4) являются вспомогательными. Они главным образом принимают участие в поддержании структуры каждого мономера или димера в целом. Предполагают, что субъединицы PsbL, M и T участвуют в формировании димера ФС II, а PsbI и X — стабилизируют связывание 5- и 6-й молекул хлорофилла (Chl_{ZD1} , Chl_{ZD2}), расположенных соответственно на D1 и D2 белках.

PsbJ, K, N и Z образуют кластер около PsbC и предположительно включены в связывание *cyt b559* с белком D1 (субъединица PsbA) [30]. Субъединицы PsbO, PsbP и PsbQ расположены достаточно близко друг к другу на поверхности комплекса ФС II, обращенной к люмену (см. рис. 4). Они не имеют трансмембранных спиралей и являются «внешними» протеинами. Все три протеина образуют так называемый кислород-выделяющий комплекс (в англоязычной литературе — OEC), который выступает относительно поверхности мембраны на 3,5 нм (см. рис. 4).

Субъединица PsbO присоединяется к комплексу ФС II в результате взаимодействия с протяженными внешними петлями протеинов PsbC и PsbB. Ее N-терминальный остаток связывается с петлей PsbC, а петля последней контактирует с PsbB, хотя взаимодействие в данном случае не установлено. Имеются данные, что PsbO и, возможно, PsbP стабилизируют организацию периферийной светособирающей антенны, в частности, пространственное расположение субъединицы Lhcb4 (CP29) для сохранения расстояния, необходимого для поддержания структуры доменов неорганических кофакторов выделения кислорода [6]. Мономер комплекса ФС II из растений содержит две копии PsbO протеина, в то время как ФС II из цианобактерий — только одну.

Кофакторы цепи переноса электронов, согласно современным представлениям, располагаются в такой последовательности:

$\text{H}_2\text{O} \rightarrow [\text{Mn}_4\text{CaCl}] \rightarrow \text{Yz/YZ}^* \rightarrow \text{P680/P680}^+ \rightarrow \text{Pheo } a/\text{Pheo } a^- \rightarrow \text{Q}_A/\text{Q}_A^- \rightarrow \text{Q}_B/\text{Q}_B^-$.
 Двукратное восстановление и протонизация пластохинона Q_B^- приводят к образованию молекулы гидрохинона Q_BH_2 , высвобождаемой из места связывания Q_B , которое замещается окисленным хиноном из пула пластохинонных молекул, расположенных в мембране поблизости от Q_B^- сайта.

В настоящее время доказано, что *cyt b559* не включен в цепь линейного транспорта электронов, однако он необходим для стабилизации ансамбля компонентов комплекса ФС II. Кроме того, он может участвовать в циклическом транспорте электронов вокруг ФС II [22]. Оценка окислительно-восстановительных потенциалов промежуточных переносчиков в электронтранспортной цепи ФС II зависит от оценки потенциала (E'_m) первичного окислителя ($\text{P680}^+/\text{P680}$), который был принят равным +1,12 В на основании значения потенциала -0,64 В, соответствующего паре $\text{Pheo } a/\text{Pheo } a^-$. Эти потенциалы следующие, В: $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O} + 0,93$; $\text{YZ}^*/\text{YZ} + 0,97$; $\text{Q}_A/\text{Q}_A^- - 0,03$; $\text{Q}_B/\text{Q}_B^- + 0,03$ [21]. Переоценка восстановительных потенциалов P680 и $\text{Pheo } a$, основанная на новых данных [5, 18], дает больший положительный потенциал (+1,27 В) для $\text{P680}^+/\text{P680}$, что приводит к изменению потенциалов для $\text{Pheo } a/a^-$, а также для промежуточных редокс-состояний в реакции окисления H_2O .

Кинетика реакций переноса электронов разработана детально. Характеристическое время, соответствующее стадии с лимитирующей скоростью в реакциях окисления H_2O , составляет приблизительно 1,4 мс. Перенос электрона от Y_Z к P680^+ происходит в интервале времени от наносекунд до микросекунд, от P680 к $\text{Pheo } a^-$ — приблизительно за 3 пс, восстановление Q_A от $\text{Pheo } a^-$ — за 250–300 пс, реакции $\text{Q}_A^- \rightarrow \text{Q}_B$ соответствует характеристическое время приблизительно 100 мкс [7].

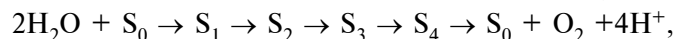
Кристаллические структуры ФС II выявили более точные детали организации кофакторов переноса электронов [8, 12, 26]. После P680 цепь транспорта электронов специфическим образом разветвляется между протеинами PsbA(D1) и PsbD(D2) (см. рис. 3). Пройдя светоиндуцированное разделение электронов в реакционном центре P680(D1) , электрон переносится к вспомогательной молекуле хлорофилла Chl_{ZD1} , затем к молекуле феофитина $\text{Pheo } a(\text{D1})$, от нее — к пластохинону Q_A , расположенному на PsbD(D2) и далее на пластохинон Q_B , находящийся на PsbA(D1) . Близкой пространственной локализацией этих кофакторов (в пределах 1,0–1,5 нм) обусловлены высокие скорости переноса электронов между ними.

На субъединицах PsbA и PsbD расположены молекулы β -каротина, которые вместе со вспомогательными молекулами хлорофилла (Chl_{ZD1}) и цитохромом $\text{cyt } b559$, возможно, включены в циклическую цепь переноса электронов от $\text{cyt } b559$ на восстанавливающей стороне ФС II обратно к окисляющей [7, 22].

Рис. 3 иллюстрирует расположение кластера активного тирозина и марганца ($\text{Y}_Z\text{-Mn}$). Предполагают, что атомы Mn образуют мономерную конструкцию, центр которой находится на расстоянии приблизительно 0,7 нм от тирозина. Лигандами Mn являются аминокислотные остатки, принадлежащие только PsbA(D1) [56].

Механизм выделения кислорода. Механизм окисления воды и функционирование донорного участка электронтранспортной цепи ФС II относится к наиболее интригующим моментам процесса окислительного фотосинтеза. Хотя в общем виде характер соответствующих реакций установлен, ряд деталей требует дальнейшего выяснения.

Специфическим моментом в реакции окисления воды было выявление четырех так называемых S-состояний, обнаруженных при действии коротких (<10 мкс) вспышек света [14]. Позднее установили, что эти состояния являются последовательными фотокатализируемыми окислительными реакциями, которые начинаются в адаптированном к темноте материале. Их последовательность можно записать следующим образом:



где S_0 — исходное темновое состояние; S_4 — распадается спонтанно с полупериодом затухания $\sim 1,4$ мс, вследствие чего система возвращается в исходное состояние S_0 и выделяется O_2 .

Поскольку Mn — единственный редокс-активный металл в сайте окисления воды, значительные усилия были направлены на исследование его участия в этом процессе. Экспериментальные результаты подтвердили, что Mn участвует в редокс-превращениях во всех состояниях, начиная с S_1 и включительно по S_3 . Относительно быстрый распад состояния S_4 не позволяет выявить следующую стадию реакции, в которой формируется O_2 и высвобождается из ФС II. В качестве терминального окислителя предполагают радикал Y_Z^\bullet и Mn^{5+} . Выяснение этого вопро-

са, важного для полного понимания химии окисления H_2O , является одной из насущных проблем.

Роль ионов Cl^- и Ca^{2+} в окислении H_2O также представляет большой интерес. Удаление любого из них блокирует прохождение S-состояний, начиная с S_2 . Установлено, что ионы Cl^- необходимы для реализации перехода $\text{S}_4 \rightarrow \text{S}_0$ и что их связь с кислородвыделяющим комплексом более слабая для высших S-состояний [23, 24]. Показано, что ионы кальция стабилизируют организацию лигандов в Mn-кластере [15, 19], однако их необходимость для продолжения реакций и после S_2 -состояния указывает на то, что Ca^{2+} принимают прямое участие в процессе окисления H_2O .

Следует отметить значительный прогресс в понимании механизма окисления воды. Это, во-первых, выяснение того факта, что S-состояния являются последовательностью окислительно-восстановительных реакций, установление роли Mn как активного редокс-катализатора в реакциях окисления воды, выявление некоторых функций Ca^{2+} в этих реакциях. Для дальнейшего прогресса в этом вопросе необходимо, в частности, уточнить структуру кластера неорганических ионов при высоком пространственном разрешении, получить более подробные сведения о протекании S_4 -стадии, исчерпывающие данные о составе интермедиа-тов, состоянии Mn и последовательности реакций.

Димерное состояние комплекса ФС II в мембранах хлоропластов не является простым удвоением рассмотренных выше мономеров. Оно соответствует паре связанных суперкомплексов ФС II-LHC II, где LHC II — светособирающий хл. *a/b* мембранный комплекс. Тот факт, что подобная конструкция соответствует нативному состоянию, подтвержден рядом экспериментальных данных, в частности, результатами электронно-микроскопических исследований гран [6].

Согласно современным представлениям, димерная конструкция комплекса является многокомпонентной системой, включающей минорные хл. *a/b* протеины, CP24, CP26 и CP29, а также три пула LHC II, S, M и L, различающиеся по силе связи с ФС II (рис. 5).

Сравнение организации двух фотосистем. Фотосистемы I и II выполняют энерготрансформирующую функцию, но первичные продукты, производимые ими, различаются. ФС I продуцирует восстановленный продукт — НАДФ · H_2 , ФС II — окисляет молекулы воды, поэтому подобие и отличия в организации фотосистем должны определяться этими их особенностями.

Высокая эффективность фотохимического преобразования энергии в обеих фотосистемах построена на одинаковом принципе быстрого дозирования энергии возбуждения реакционных центров мелкими порциями для обеспечения необратимости фотореакции. Этому способствует также замещение положительной вакансии, образующейся на реакционном центре после ухода электрона на акцептор, т.е. активная работа донорного механизма. Реализация этого принципа обуславливает подобие организации ближайшего окружения реакционных центров в обеих фотосистемах. Как следует из рис. 2, 3, электроны с P700 и P680 поступают на вспомогательные молекулы хл. *a*, затем на следующую пару молекул хл. *a* в ФС I и феофитина *a* в ФС II, т.е. на молекулы, являющиеся близким аналогом хл. *a*. Затем следует перенос на молекулы хинонной природы — филлохинон в ФС I и пластохинон в ФС II. Донорные процессы в обеих фотосистемах также подобны в том, что ближайшим ко-

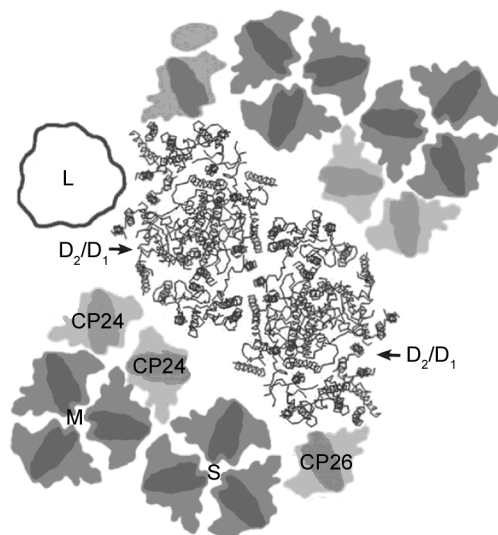


Рис. 5. Модель пространственной организации димерного комплекса ФС II (из работы [6])

гии в ближайшем окружении реакционных центров обусловлены неодинаковостью белковых субъединиц, с которыми связаны реакционные центры, и кофакторов — хл. *a*—феофитин *a*, филлохинон—пластохинон.

Более существенные различия в организации комплексов ФС I и ФС II обусловлены природой белковых субъединиц, несущих реакционные центры, что, очевидно, определяет пространственную организацию соответствующего супрамолекулярного комплекса, а также характер его участия в иерархических порядках ультраструктуры хлоропластов.

Молекулярная масса белков реакционных центров ФС I почти в 2 раза выше. Кроме молекул хлорофилла, участвующих в переносе энергии, они содержат еще несколько десятков таких молекул (см. табл. 1), осуществляющих светосбор и перенос энергии, т.е. выполняющих функцию внутренней антенны. Кроме того, они обеспечивают тесную связь с внешней антенной [6, 16]. Заметим, что подобную функцию в ФС II выполняют молекулы хлорофилла, связанные с белковыми субъединицами, отличающимися от тех, что несут реакционные центры, но кодируемые также как и они хлоропластным геномом. Это субъединицы PsbB(CP47) и PsbC(CP43).

Различия организации ФС I-core и ФС II-core обусловлены еще и тем, что первая содержит меньшее количество вспомогательных субъединиц, причем большинство из них, в отличие от ФС II, кодируется ядерным геномом. Это означает, что механизмы регуляции состояния указанных комплексов отличаются. Если для ФС I существенным является ядерно-хлоропластное взаимодействие, то для ФС II более значима регуляция на уровне хлоропластного генома. Заметим, что большее количество вспомогательных субъединиц в ФС II обусловлено тем, что часть их включена в поддержание димерного состояния этого мембранного супрамолекулярного комплекса (см. табл. 2), что также отличает его от супрамолекулярного комплекса ФС I.

Внешняя антенна ФС I, представленная Lhc-протеинами, имеет более простую структуру и меньший размер по сравнению со сложной организацией таковой в ФС II. Восемь хл. *a/b* белковых субъединиц тесно

фактором реакционных центров являются аминокислотные остатки белков, на которых размещаются P700 и P680. Для первого из них это триптофан, для второго — тирозин. Электроны к ним в ФС I поступают от медьсодержащего белка и пластоцианина, в ФС II — от марганцевого кластера. Разветвление цепи транспорта электронов, выявленное для обеих фотосистем, также определяет их подобие, тем более, что в обоих случаях наблюдается неодинаковость потока электронов, протекающего по двум ветвям. Причина этого явления пока не выяснена.

Различия редокс-потенциалов и скоростей переноса энергии

связаны с белками ФС I-core из-за особенностей их аминокислотного состава. Это обеспечивает очень быстрый перенос энергии (характеристическое время 120 пс), что обуславливает скорость почти на порядок выше, чем для ФС II. Для последней характерна многоступенчатая организация внешней антенны (см. рис. 5). С каждым мономером ФС II-core связаны 3 минорных хл. *a/b* полипептида, CP24, CP26 и CP29, которые обуславливают связь с тремя пулами ЛНС II — S, M (прочно и умеренно связанными) и L (слабо связанными). Такая конструкция замедляет перенос энергии на реакционные центры, зато обеспечивает возможность многовариантной регуляции этого процесса. С большим размером светособирающей антенны связана большая частота поступления световых квантов, что необходимо для функционирования 4-тактного акта разложения воды с выделением молекулярного кислорода. Таким образом, особенности организации антенны ФС II связаны с выполнением ее функции.

Относительно низкие значения молекулярной массы белков ФС II-core, а также их взаимодействие с ЛНС II белками создают возможность организации такой сложной пространственной структуры, как грани хлоропластов. Эта специфическая особенность обуславливает, с одной стороны, эффективное отделение высокоокисленных продуктов, вырабатываемых ФС II, от восстановленных, вырабатываемых ФС I, с другой — позволяет регулировать баланс между двумя фотосистемами путем перераспределения поступающей световой энергии.

Таким образом, можно заключить, что две фотосистемы, осуществляющие функцию окислительного фотосинтеза, подобны в реализации собственно фотохимического акта и первичной стабилизации энергии. Различия в их организации связаны с различиями конечных продуктов — это кислород, освобожденный из молекул воды, и восстановленный НАДФ.

1. Barber J. Photosystem II: a multisubunit membrane protein that oxidises water // *Curr. Opin. Stru. Biol.* — 2002. — **12**. — P. 523–530.
2. Ben-Shem A., Frolow F., Nelson N. Crystal structure of plant photosystem I // *Nature*. — 2003. — **426**. — P. 630–635.
3. Castelletti S., Morosinotto T., Robert B. et al. Recombinant Lhca2 and Lhca3 subunits of the photosystem I in antenna system // *Biochemistry*. — 2003. — **42**. — P. 4226–4234.
4. Cseh Z., Rajagopal S., Tsonev T. et al. Thermo-optic effect in chloroplast thylakoid membranes. Thermal and light stability of pigment arrays with different levels of structural complexity // *Ibid.* — 2000. — **39**. — P. 15250–15257.
5. Cuni A., Xiong L., Sayre R. et al. Modification of the pheophytin midpoint potential in photosystem II: modulation of the quantum yield of charge separation and of charge recombination pathways // *Phys. Chem. Chem. Phys.* — 2004. — **6**. — P. 4825–4831.
6. Dekker J.P., Boekema E.J. Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2005. — **1706**. — P. 12–39.
7. Diner B.A., Rappaport F. Structure, dynamics, and energetics of the primary photochemistry of photosystem II of oxygenic photosynthesis // *Annu. Rev. Plant Biol.* — 2002. — **53**. — P. 551–580.
8. Ferreira K.N., Iverson T.M., Maghlaoui K. et al. Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center // *Science*. — 2004. — **303**. — P. 1831–1838.
9. Ganeteg U., Strand A., Gustafsson P., Jansson S. The properties of the chlorophyll *a/b*-binding proteins Lhca2 and Lhca3 studied in vivo using antisense inhibition // *Plant Physiol.* — 2001. — **127**. — P. 150–158.
10. Jansson S., Andersen B., Scheller H.V. Nearest-neighbor analysis of higher-plant photosystem I holocomplex // *Ibid.* — 1996. — **112**. — P. 409–420.
11. Kaftan D., Brumfeld V., Nevo R. et al. From chloroplasts to photosystems: in situ scanning force microscopy on intact thylakoid membranes // *EMBO J.* — 2002. — **21**. — P. 6146–6153.

12. *Kamiya N., Shen J.R.* Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II from *Thermosynechococcus vulcanus* at 3.7-resolution // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2003. — **100**. — P. 98–103.
13. *Kern J., Loll B., Zouni A. et al.* Cyanobacterial photosystem II at 3.2 Å resolution — the plastoquinone binding pockets // Photosynth. Res. — 2005. — **84**. — P. 153–159.
14. *Kok B., Forbush B., McGloin M.* Cooperation of charges in photosynthetic O₂ evolution. 1. A linear 4-step mechanism // Photochem. Photobiol. — 1970. — **11**. — P. 457–475.
15. *Mei R., Yocum C.F.* Calcium retards NH₄OH inhibition of O₂ evolution activity by stabilization of Mn²⁺ binding to photosystem II // Biochemistry. — 1991. — **30**. — P. 7836–7842.
16. *Nelson N., Yocum C.F.* Structure and function of photosystems I and II // Annu. Rev. Plant Biol. — 2006. — **57**. — P. 521–565.
17. *Nield E.V., Orlova E.P., Morris B. et al.* 3D map of the plant photosystem II supercomplex obtained by cryoelectron microscopy and single particle analysis // Natl. Struct. Biol. — 2000. — **7**. — P. 44–47.
18. *Rappaport F., Guergova-Kuras M., Nixon P.J. et al.* Kinetics and pathways of charge recombination in photosystem II // Biochemistry. — 2002. — **41**. — P. 8518–8527.
19. *Riggs-Gelasco P.J., Mei R., Yocum C.F., Penner-Hahn J.E.* Reduced derivatives of the Mn cluster in the oxygen-evolving complex of photosystem II: An EXAFS study // J. Amer. Chem. Soc. — 1996. — **118**. — P. 2387–2399.
20. *Schmid V.H.R., Cammarata K.V., Bruns B.U., Schmidt G.W.* In vivo reconstitution of the photosystem I light-harvesting complex LHC I-730: heterodimerization is required for antenna pigment organization // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1997. — **94**. — P. 7667–7672.
21. *Tommos C., Babcock G.T.* Proton and hydrogen currents in photosynthetic water oxidation // Biochim. Biophys. Acta. — 2000. — **1458**. — P. 199–219.
22. *Vasil'ev S., Brudvig G.W., Bruce D.* The X-ray structure of photosystem II reveals a novel electron transport pathway between P680, cytochrome b559 and the energy quenching cation, ChZ⁺ // FEBS Lett. — 2003. — **543**. — P. 159–163.
23. *Wincencjusz H., van Gorkom H.J., Yocum C.F.* The photosynthetic oxygen evolving complex requires chloride for its redox state S₂→S₃ and S₃→S₀ transitions but not for S₀→S₁ or S₁→S₂ transitions // Biochemistry. — 1997. — **36**. — P. 3663–3670.
24. *Wincencjusz H., Yocum C.F., van Gorkom H.J.* S-state dependence of chloride binding affinities and exchange dynamics in the intact and polypeptide-depleted O₂ evolving complex of photosystem II // Ibid. — 1998. — **37**. — P. 8595–8604.
25. *Wollman F.A., Minai L., Nechushtai R.* The biogenesis and assembly of photosynthetic proteins in thylakoid membranes // Biochim. Biophys. Acta. — 1999. — **1411**. — P. 21–85.
26. *Zouni A., Witt H.T., Kern J. et al.* Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 angstrom resolution // Nature. — 2001. — **409**. — P. 839–743.

Получено 25.05.2009

ПОРІВНЯННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ОРГАНІЗАЦІЇ МЕМБРАННИХ КОМПЛЕКСІВ ФОТОСИСТЕМ I ТА II У ХЛОРОПЛАСТАХ ВИЩИХ РОСЛИН

С.М. Кочубей

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України, Київ

Розглянуто сучасні дані щодо біохімічного складу супрамолекулярних мембранних комплексів фотосистем I і II, взаємного розміщення їх компонентів. Наведено схеми просторової організації цих комплексів у мембрані, проведено порівняльний аналіз особливостей їх організації.

COMPARISON OF FEATURES IN ORGANIZATION OF MEMBRANE COMPLEXES OF PHOTOSYSTEMS I AND II IN CHLOROPLASTS OF HIGHER PLANTS

S.M. Kochubey

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

The modern data on biochemical composition of supramolecular membrane complexes of photosystems I and II are reviewed as well as data concerning mutual arrangement of their components. Models of spatial organization of these complexes in a membrane are described. A comparative analysis of features of their organization is carried out.

Key words: chloroplasts, photosystem I, photosystem II, pigment-protein complexes.