

CARBON DIOXIDE
AS A SUBSTRATE
AND A COFACTOR
OF PHOTOSYNTHESIS

V. V. KLIMOV

This paper considers the modern ideas on both the mechanism of photosynthetic assimilation of CO₂ and the possible involvement of HCO₃⁻ in photosynthetic electron transfer.

Рассмотрены современные представления о механизме фотосинтетической ассимиляции CO₂ и возможном участии ионов HCO₃⁻ в фотосинтетическом переносе электрона.

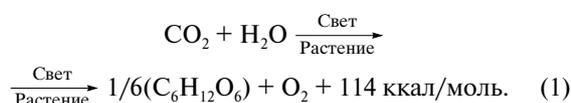
УГЛЕКИСЛОТА КАК СУБСТРАТ
И КОФАКТОР ФОТОСИНТЕЗА

В. В. КЛИМОВ

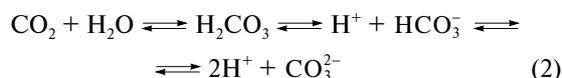
Пушчинский государственный университет

ВВЕДЕНИЕ

Фотосинтез растений заключается в преобразовании и запасании солнечной энергии, в результате которого из простых веществ – CO₂ и H₂O – синтезируются углеводы и выделяется кислород (см. уравнение (1), а также статьи, посвященные фотосинтезу [1–4]). Следовательно, углекислота – основной субстрат (то есть исходный материал) фотосинтеза:



В то же время, как следует из уравнения (2), те же самые соединения – углекислота и вода – могут вступать в другую реакцию – образование угольной кислоты H₂CO₃, которая, в свою очередь, может диссоциировать с образованием ионов HCO₃⁻ (бикарбоната) или CO₃²⁻ (карбоната)



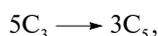
Принципиальное различие этих двух путей взаимодействия CO₂ с водой состоит в том, что реакция (1) идет только под действием света и для ее осуществления требуется сложнейший фотосинтетический аппарат, преобразование и запасание световой энергии в котором приводят к переносу электронов (e) от воды к CO₂, которая переходит в состав первичных сахаров. Запасаемая при этом энергия – основа фотоавтотрофии (то есть питания за счет энергии света) всей биосферы [1–6]. Как отмечалось ранее [2], использование продуктов фотосинтеза состоит в медленном, поэтапном “сжигании” органического материала в процессе дыхания, для чего также требуется сложный биохимический аппарат.

Реакция (2) – результат прямого взаимодействия CO₂ с H₂O, она протекает самопроизвольно, и ее направление (сдвиг в сторону образования диссоциированных или недиссоциированных продуктов) зависит от соотношения их исходных концентраций. Как следует из уравнения реакции (2), соотношение между концентрациями H₂CO₃, HCO₃⁻ и CO₃²⁻ зависит от концентрации ионов H⁺, то есть от pH среды. При подкислении среды химическое равновесие сдвигается в сторону образования H₂CO₃ и CO₂, тогда как при подщелачивании CO₂ и H₂CO₃ переходят в ионные формы угольной кислоты. Величина рК (рН, при котором лишь 50% угольной

фосфат, а НАДФ⁺ – окисленный никотинамидадениндинуклеотид.

Эта стадия включает в себя два этапа, на первом из которых к молекуле фосфоглицериновой кислоты присоединяется фосфат молекулы АТФ, а на втором происходит восстановление за счет НАДФН. При этом энергия восстановления НАДФН используется на превращение СООН-группы ФГК в альдегидную группу триозофосфата. АТФ расходуется в качестве дополнительного источника энергии, необходимой для протекания этой реакции. Восстановление ФГК до триозофосфата – единственная восстановительная стадия цикла Кальвина, в которой используется НАДФН, накапливаемый в результате фотохимической стадии фотосинтеза, и на этом этапе реакций, связанных с запасанием энергии света при фотосинтезе, можно считать завершенной. Последующие стадии цикла Кальвина необходимы для того, чтобы регенерировать, привести в исходное состояние акцептор СО₂ – рибулозобисфосфат, который мог бы вновь участвовать в фиксации СО₂ (стадия регенерации), а получаемый при этом трехуглеродный сахар мог бы превратиться в более сложные сахара, аминокислоты, жиры (стадия синтеза продуктов).

Стадия регенерации. Основной итог этой стадии состоит в том, что пять молекул триозофосфата (что соответствует 15 атомам углерода) подвергаются перегруппировке, в результате которой образуются три молекулы рибулозобисфосфата (РуФ), что можно описать в следующем виде:



где С₃ и С₅ – соответственно трех- и пятиуглеродные соединения. Этот процесс представляет сложную цепь превращений фосфорилированных сахаров, состоящих из трех, четырех, пяти, шести и семи атомов углерода, что в общем виде показано как стадия III на рис. 1. Получающийся при этом рибулозобисфосфат переходит в результате использования еще одной молекулы АТФ в рибулозобисфосфат,

который вновь может быть использован для фиксации СО₂.

Стадия синтеза продуктов. Как показано на рис. 1, вовлечение трех молекул СО₂ в восстановительный пентозофосфатный цикл приводит к образованию шести молекул триозофосфата (С₃), из которых пять молекул С₃ используются для регенерации РуБФ (С₅), а одна покидает цикл и используется на синтез сахарозы, крахмала, а также аминокислот, жиров и других органических соединений. Таким образом, все три молекулы СО₂, поступившие в цикл, покидают его в виде первичного сахара – триозофосфата, а цикл остается готовым к восприятию новых молекул СО₂.

Важно отметить, что в зависимости от условий выращивания соотношение между конечными продуктами фотосинтеза может меняться, что может быть использовано для направленного синтеза большего или меньшего количества сахаров, жиров, аминокислот. У некоторых растений (к которым относится, например, кукуруза) фиксация СО₂ происходит не только в реакциях цикла Кальвина, но и путем включения СО₂ в соединения, содержащие четыре атома углерода. Интересно, что при этом СО₂ используется в виде НСО₃⁻, что позволяет осуществлять эту реакцию даже при недостатке СО₂. Этот путь используется как “СО₂-концентрирующий механизм”, поскольку полученное четырехуглеродное соединение может вновь распадаться на трехуглеродный продукт и СО₂, которая может быть использована в цикле Кальвина.

УГЛЕКИСЛОТА – КОФАКТОР ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Более 40 лет назад было отмечено, что даже на выделенных из фотосинтезирующих организмов структурах, не способных к фотосинтетической ассимиляции СО₂, удаление СО₂ из среды приводит к замедлению фотосинтетического транспорта электронов, который восстанавливается при добавлении в среду бикарбоната, вследствие чего этот эффект

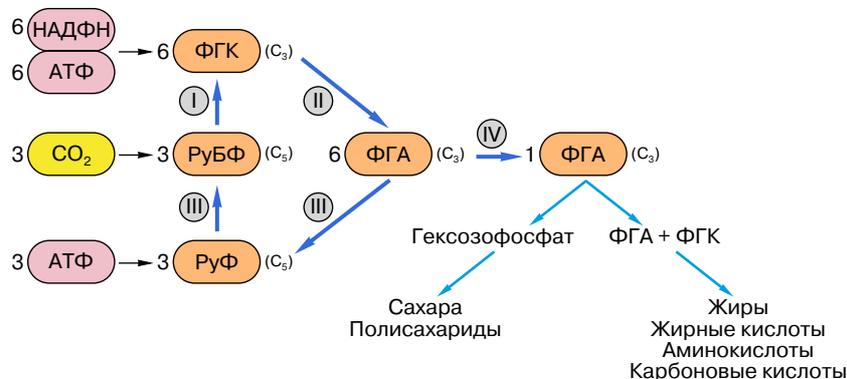


Рис. 1. Общая схема фотосинтетической ассимиляции углекислоты (по [6]). Объяснения в тексте

получил название “бикарбонатный эффект”. Было показано, в частности, что при отсутствии бикарбоната практически полностью подавляется процесс фотосинтетического выделения кислорода не только у хлоропластов, но и у субхлоропластных фрагментов, содержащих лишь фотосистему 2, которая ответственна за процесс окисления воды и выделения кислорода (подробно описанный в [3]). В связи с этим был сделан вывод о том, что бикарбонат служит в качестве кофактора реакций, приводящих к ферментативному окислению воды. (Кофактором обычно называют определенные химические группы небелковой природы, присутствие которых необходимо для проявления активности фермента, или дополнительные белки, необходимые для протекания данного биохимического процесса.) В конце 70-х годов была предложена изящная гипотеза вовлечения CO_2 и бикарбоната в процесс фотосинтетического окисления воды. Согласно этой гипотезе, окисление воды в Мп-содержащем ферментативном центре фотосистемы 2 происходит не в виде H_2O или OH^- , а в виде продукта ее соединения с CO_2 , то есть в виде HCO_3^- . По этой гипотезе, CO_2 вступает в реакцию с H_2O , а молекула HCO_3^- , полученная в результате диссоциации H_2CO_3 , окисляется Мп-содержащим ферментативным центром водоокисляющего комплекса. Это приводит к выделению молекулы O_2 (продукта окисления воды) и освобождению молекулы CO_2 , которая может вовлекать новые молекулы воды в процесс окисления. Таким образом, молекула CO_2 служит посредником между H_2O и ферментативным водоокисляющим центром. Было, однако, показано (с использованием изотопа кислорода ^{18}O), что изотопный состав выделяющегося O_2 во всех случаях соответствует изотопному составу кислорода воды, а не HCO_3^- независимо от того, был ли ^{18}O включен в HCO_3^- или H_2O . Эти результаты, а также полученные примерно в то же время данные о том, что эффект бикарбоната на фотосинтетическое выделение кислорода связан с необходимостью бикарбоната для функционирования акцепторной, а не донорной стороны фотосистемы 2, привели к выводу о том, что бикарбонат не участвует непосредственно в процессе фотосинтетического окисления воды.

Было установлено, что удаление из хлоропластов или целых клеток зеленых растений $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ блокирует перенос электронов между первичным и вторичным акцепторами электрона фотосистемы 2 (Q_A и Q_B), имеющими пластохиноновую природу [5, 6] (рис. 2). Это достигается с помощью продувания среды, в которую погружены фотосинтетические объекты, газом, не содержащим CO_2 , или путем добавления формиата или других ионов – антагонистов HCO_3^- на местах его возможного связывания. При этом достигается эффект, сходный с действием известных гербицидов – ингибиторов переноса электрона фотосистемы 2 – диурина и атразина [5, 6]. Ингибиторный эффект обработок, вызывающих

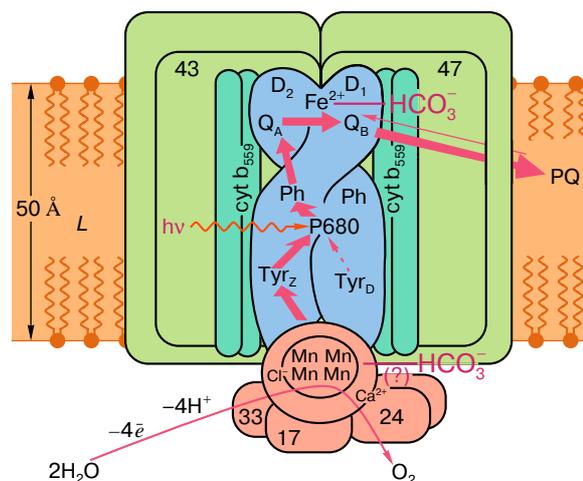


Рис. 2. Схема расположения основных компонентов пигмент-белкового комплекса фотосистемы 2 с указанием возможных мест связывания бикарбоната (HCO_3^-) в тилакоидной мембране. P680 – димер хлорофилла, первичный донор электрона, передающий свой электрон на молекулу феофитина при возбуждении в результате поглощения кванта света; Ph – молекула феофитина (безмагниевого производного хлорофилла), промежуточный акцептор электрона; Q_A – первичный донор электрона, комплекс молекулы пластохинона с атомом Fe^{2+} ; Q_B – вторичный акцептор электрона, молекула пластохинона (PQ), связанная с пигмент-белковым комплексом фотосистемы 2; Tyr_z – вторичный донор электрона, остаток тирозина, входящего в состав белка D_1 (в положении 161 от N-конца); D_1 и D_2 – белки с молекулярной массой около 32 000, на которых расположены основные компоненты фотохимического реакционного центра; cyt b_{559} – цитохром b_{559} , имеющий максимум поглощения при 559 нм и, вероятно, выполняющий защитную роль при фотоинаktivации фотосистемы 2 за счет ускорения рекомбинации разделенных зарядов; 17, 24, 33, 43, 47 – белки с молекулярной массой соответственно 17 000, 24 000, 33 000, 43 000, 47 000; $h\nu$ – квант света; L – липиды, образующие мембрану тилакоида

удаление бикарбоната из образца, полностью устранялся при добавлении бикарбоната, причем действие бикарбоната было высокоспецифичным, то есть характерным только для бикарбоната: никакие другие анионы не вызывали подобного эффекта.

В последние несколько лет было показано также, что непосредственным местом связывания (лигандирования) ионов HCO_3^- в фотосистеме 2 можно считать катионы двухвалентного железа, функционирующего между акцепторами электрона Q_A и Q_B (рис. 2). Ионы Fe^{2+} связаны с реакционным центром фотосистемы 2, и их роль состоит в способствовании переносу электрона от восстановленного в результате фотохимической реакции Q_A к Q_B . Поскольку ионы HCO_3^- , связываемые Fe^{2+} , легко вступают в реакции обмена с ионами H^+ , необходимыми для протонирования дважды восстановленного

Q_B [5, 6], то предполагается, что роль HCO_3^- состоит в обеспечении такого протонирования.

Кроме того, в некоторых работах было показано, что в фотосистеме 2, вероятно, имеются два места связывания бикарбоната: одно из них — с железом, другое — между системой окисления воды и акцептором электрона Q_A . Однако и в этом случае в качестве возможного места функционирования ионов HCO_3^- предполагался участок переноса электрона между первичным акцептором электрона — феофитином и Q_A .

В последние два года в наших работах было установлено, что помимо переноса электрона между Q_A и Q_B ионы бикарбоната строго необходимы и для функционирования донорного участка фотосистемы 2. Найдено, в частности, что на донорном участке ионы бикарбоната связаны менее прочно, чем на акцепторном. Вследствие этого блокирование переноса электрона на донорной стороне фотосистемы 2 достигается при довольно низких (в мкМ) концентрациях формиата, вытесняющего бикарбонат с места его связывания, тогда как для инактивирования акцепторного участка фотосистемы 2 требуются концентрации формиата 1–10 мМ (то есть в 1000 раз выше).

Было показано также, что присутствие бикарбоната особенно важно для “сборки” марганцевого комплекса, окисляющего воду, а также для устойчивости этого комплекса к действию высоких температур и других повреждающих факторов внешней среды. Был сделан вывод о том, что бикарбонат — строго необходимый компонент системы фотосинтетического окисления воды (см. рис. 2). Его необходимость в водоокисляющем комплексе может играть чисто структурную роль — предохранение от распада марганцевого центра, характеризующегося чрезвычайно низкой устойчивостью. (Известно, что система окисления воды — один из наиболее уязвимых звеньев фотосинтетического аппарата растений.) Не исключено также, что бикарбонат важен лишь для регуляции окислительно-восстановительных свойств марганцевого кластера. В нашей лаборатории недавно было показано, что образование марганец-бикарбонатных комплексов: $Mn(HCO_3)^+$ или $Mn(HCO_3)_2$ приводит к значительному понижению окислительных свойств марганца. Последнее свойство бикарбоната (понижать окислительный потенциал марганца), возможно, используется для более эффективного включения свободного Mn^{2+} в структуру водоокисляющего комплекса, поскольку известно, что первой ступенью такого включения является его фотоокисление до Mn^{3+} и, следовательно, присутствие бикарбоната облегчает протекание этого процесса. Для выяснения действительной ро-

ли бикарбоната в фотосинтетическом окислении воды требуются такие методы исследования, которые могли бы прямо показать наличие (или отсутствие) Mn-бикарбонатного комплекса в фотосистеме 2 и его изменение в процессе окисления воды и выделения кислорода.

В заключение нужно отметить, что необходимость присутствия бикарбоната для функционирования как донорной, так и акцепторной стороны фотосистемы 2 (наряду с вовлечением CO_2 в цикл Кальвина) может быть использована для регуляции процесса фотосинтеза в целом. Так, эффективное потребление CO_2 в цикле Кальвина при высокой интенсивности света может привести к значительному понижению CO_2 (а следовательно, и HCO_3^-) в хлоропласте. Это в первую очередь вызывает подавление переноса электронов от фотосистемы 2 к фотосистеме 1, что чрезвычайно важно для сохранения фотосинтетического аппарата. Действительно, при отсутствии CO_2 цикл Кальвина не потребляет продукты световой стадии фотосинтеза АТФ и НАДФН и, следовательно, восстановленные продукты фотохимических реакций, происходящих в фотосистеме 1, с большой вероятностью могут использоваться не на синтез НАДФН, а на взаимодействие с O_2 , приводящее, как отмечалось ранее, к образованию активных форм кислорода, вызывающих необратимое окисление хлорофилла и других компонентов фотосинтетической мембраны.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Тихонов А.И. Трансформация энергии в хлоропластах — энергопреобразующих органеллах растительной клетки // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 4. С. 24–32.
2. Климов В.В. Фотосинтез и биосфера // Там же. № 8. С. 6–13.
3. Климов В.В. Окисление воды и выделение молекулярного кислорода при фотосинтезе // Там же. № 11. С. 9–12.
4. Кулаева О.Н. Хлоропласт и его полуавтономность в клетке // Там же. 1997. № 7. С. 2–9.
5. Фотосинтез / Под ред. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1–2.
6. Холл Д., Рао К. Фотосинтез. М: Мир, 1983.

* * *

Вячеслав Васильевич Климов, профессор, доктор биологических наук, зав. лабораторией фотосинтетического окисления воды Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук. Область научных интересов — молекулярные механизмы преобразования и запасаения световой энергии при фотосинтезе. Автор более 170 научных работ.