

Циклический транспорт электронов – это процесс, в котором фотосистема 1 под действием света катализирует окисление пластоцианина на люменальной поверхности мембраны тилакоида и восстановление ферредоксина на стромальной стороне мембраны. Дальнейшее окисление ферредоксина и восстановление пула пластохинонов является участком, не совпадающим с линейным транспортом. Циклический электронный транспорт вокруг фотосистемы 1 представляет собой чувствительный к антимизину А перенос заряда с акцепторной стороны фотосистемы I в пул хинонов. Физиологический смысл циклического транспорта электронов заключается в генерации дополнительного протонного градиента, а также в предотвращении окислительного стресса при больших интенсивностях света. Полагают, что катализатором циклического транспорта является ферредоксин (Bendall and Manasse 1995; Кренделева, Кукарских et al. 2001). Общеизвестно, что перенос электрона от пластохинона к PSI происходит по тому же пути, что и при линейном транспорте (Bendall and Manasse 1995; Scheller 1996; Staehelin and van der Staay 1996; Malkin and Niyogi 2000; Кренделева, Кукарских et al. 2001; Allen 2003).

Характеристики циклического транспорта в изолированных хлоропластах в сильной степени зависят от концентрации добавленного ферредоксина, что указывает на участие молекул этого подвижного переносчика в данном процессе. Однако путь переноса электрона с акцепторной стороны PSI в пул хинонов остается неясным. Возникает вопрос о механизмах переноса электрона с Fd, который является гидрофильным переносчиком и локализован в стромахе, на PQ, гидрофобные молекулы которого локализованы в тилакоидной мембране (см. рис). В ряде работ (Bendall and Manasse 1995; Scheller 1996; Malkin and Niyogi 2000; Кренделева, Кукарских et al. 2001; Кренделева, Кукарских et al. 2001; Allen 2003; Коваленко, Устинин et al. 2003; Коваленко, Устинин et al. 2003) были предложены несколько схем взаимодействия (рис).

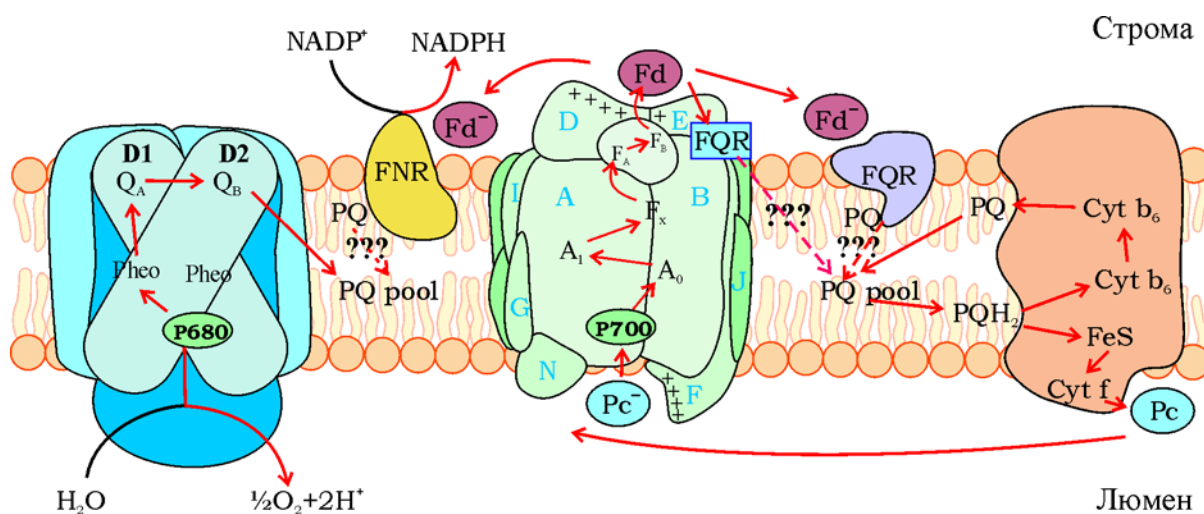


Рис. из (Коваленко, Устинин et al. 2003). Организация циклического транспорта электронов в хлоропластах. Показаны мембрана тилакоида и компоненты цепи ЦЭТ: комплексы PSI, FQR, FNR и комплекс цитохромов b₆/f, а также подвижные переносчики электрона Pс, Fd и Q. Знаки вопроса отмечают вероятные пути переноса электронов, где механизм транспорта не установлен. PSII является донором электронов для цепи ЦЭТ.

Одно из предположений состоит в том, что в роли белка, обладающего Fd-PQ-редуктазной активностью, может выступать Fd-NADPH – редуктаза (FNR) (Shahak, Crowther et al. 1981; Hosler and Yocum 1985; Кренделева, Кукарских et al. 2001). Это предположение было сделано на эффекте действия ингибиторов, но доказать специфичность их действия трудно. К тому же, FNR не чувствительна к антимизину и

антитела FNR не являются ингибиторами циклического транспорта (Shahak, Crowther et al. 1981).

Некоторые факты указывают на участие субъединицы E PSI в циклическом транспорте (Bendall and Manasse 1995; Scheller 1996). Мутант PSI с удаленной субъединицей E продолжал осуществлять линейный транспорт, в то время как циклический поток был почти полностью подавлен.

Одна из схем предполагает участие гипотетического мембранного фермента ферредоксин-хинон редуктазы (FQR) (изображен на рис.), который до настоящего времени не идентифицирован (Bendall and Manasse 1995; Scheller 1996; Malkin and Niyogi 2000). В работе (Allen 2003) предполагается, что недавно открытый мембранный белок PGR5 может играть роль ферредоксин-пластохинон редуктазы.

В работе (Scheller 1996) показано, что в анаэробных условиях в тилакоидах ячменя функционируют два параллельных пути циклического транспорта с различными чувствительностью к антимицину, характеристиками насыщения и т.д.

Эксперименты по циклическому транспорту

На кафедре биофизики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова в группе проф. Т.Е. Кренделевой было проведено экспериментальное исследование кинетики фотоиндуцированного сигнала ЭПР I, отражающего изменение степени восстановленности P700 – фотоактивного пигмента PSI, во временном диапазоне 0,1-10 сек (Кренделева, Кукарских et al. 2001; Коваленко, Устинин et al. 2003). При включении света наблюдали быстрое возрастание амплитуды сигнала ЭПР I, т.е. окисление P700, с выходом ее значения на стационарный уровень (рис.). Кинетика восстановления после выключения света хорошо аппроксимировалась двумя экспонентами.

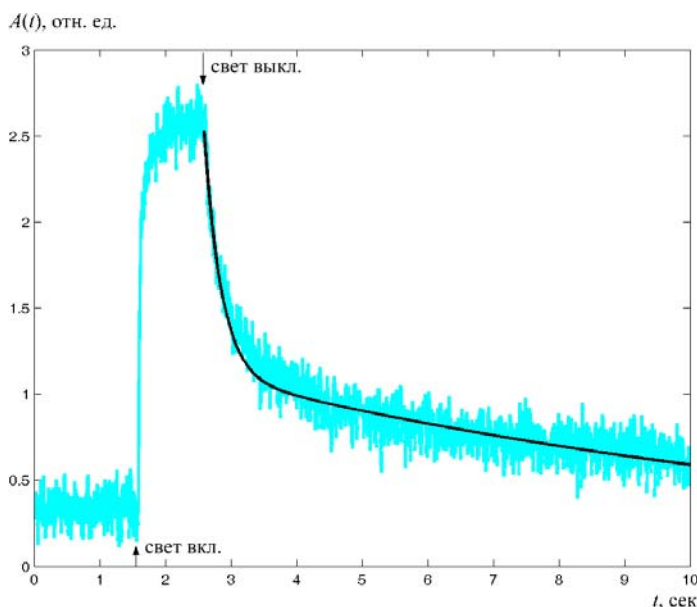


Рис. Кинетическая кривая фотоиндуцированного сигнала ЭПР I катион-радикала P700. Сплошная линия – представление кривой темнового восстановления фотоокисленного P700⁺ в виде суммы двух убывающих экспонент:
 $A(t) = A_1 \exp(-k_1 t) + A_2 \exp(-k_2 t)$, где A_1, A_2 – амплитуды быстрого и медленного компонентов восстановления, соответственно, k_1, k_2 – показатели экспонент быстрого и медленного компонентов, соответственно. Стрелками указаны моменты включения и выключения света.

Схема состояний

В работе (Коваленко, Устинин et al. 2003) проведено моделирование циклического транспорта электронов вокруг фотосистемы 1. Кинетическая модель учитывали процессы докинга Fd на акцепторной стороне PSI, участие цитохромного трансмембранного комплекса в окислительно-восстановительных превращениях PQ, посадку PQ на цитохромный комплекс и двухэлектронную природу этого переносчика. Схема модели изображена на рис., наряду с перечисленными компонентами она включает гипотетический белковый комплекс FQR.

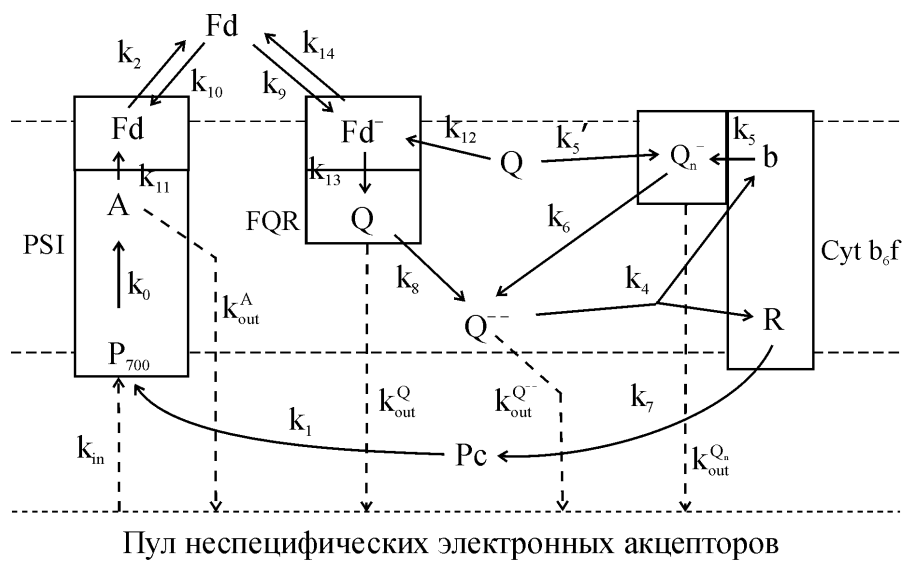


Рис. Схема кинетической модели циклического транспорта электронов вокруг PSI. Прямоугольниками обозначены комплексы PSI, FQR и цитохромный b_6/f комплекс. P_{700} – пигмент реакционного центра PSI, A – обобщенный акцептор, R – центр Риска, b – высокопотенциальный цитохром b_h , Fd – ферредоксин, Pc – пластоцианин, Q – пластохинон, $Q^{\cdot -}$ – пластохинол, Q_n – семихинон на n -сайте комплекса цитохромов (у внешней поверхности мембраны). Стрелками показаны пути электронного транспорта, k_{in} , k_{out} , k_1, \dots, k_{14} – константы скоростей соответствующих реакций переноса электрона. Пунктирными линиями изображены границы тилакоидной мембраны и граница пула неспецифических акцепторов и доноров электронов.

Схема состояний для комплекса фотореакционного центра PSI представлена на рис. Предполагается, что комплекс реакционного центра PSI состоит из двух компонентов, первичного донора электронов P_{700} и обобщенного акцептора A , а также сайта посадки Fd .

Комплекс цитохромов b_6/f (рис.) считается состоящим из двух компонентов, а именно центра Риска R и высокопотенциального цитохрома b_h , а также места посадки пластохинона Q_n . Транспорт электронов через цитохромный комплекс осуществляется по Q -циклу. Между Fd в комплексе и Fd в растворе устанавливается динамическое равновесие. Предполагается, что Fd - PQ -редуктазная реакция осуществляется в отдельном комплексе ферредоксин-хинон редуктазы FQR (рис.), который может находиться в одном из 6 состояний.

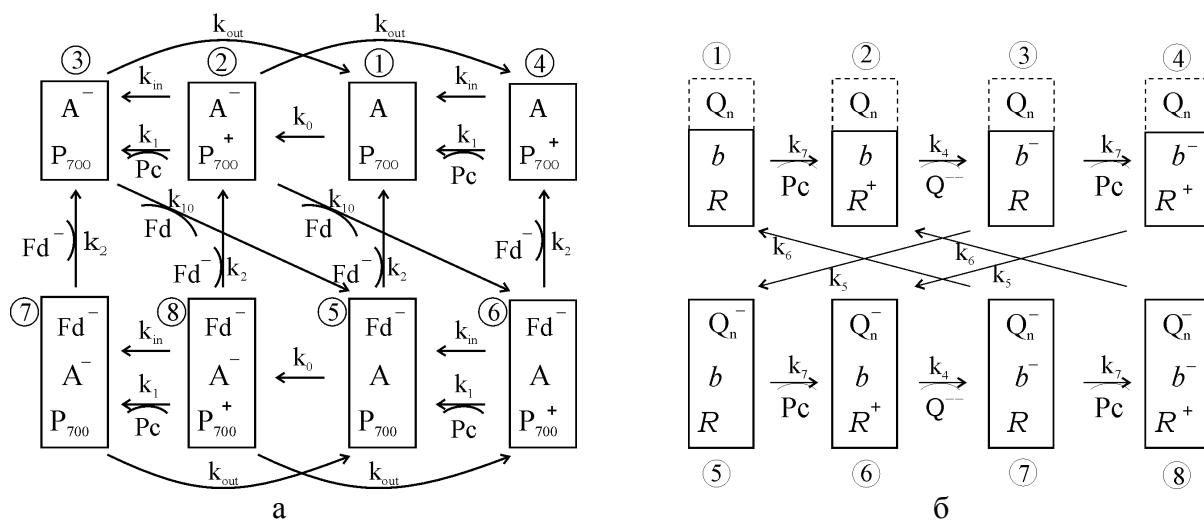
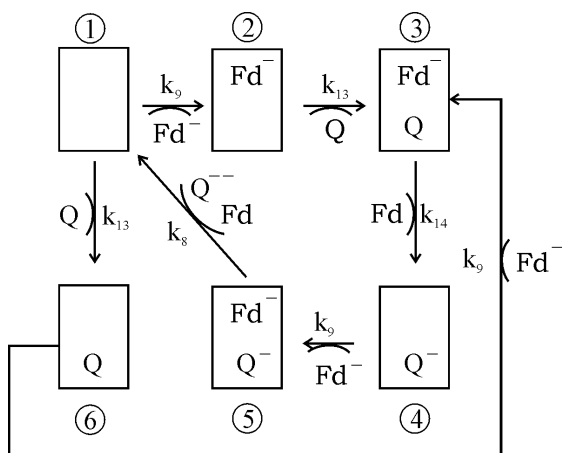


Рис. Схемы состояний комплексов, участвующих в циклическом транспорте электронов. Каждый прямоугольник представляет собой одно из состояний комплексов, определяемое редокс-состояниями входящих в них переносчиков электрона. Стрелками показаны пути электронного транспорта, k_{in} , k_{out} , k_1, \dots, k_{14} – константы скоростей соответствующих реакций переноса электрона.



- а) фотореакционный центр PSI. P700 – пигмент реакционного центра PSI, А – обобщенный акцептор.
- б) цитохромный b_6/f комплекс. R – центр Риске, b – высокопотенциальный цитохром b, Q_n – пластохинон на месте посадки n цитохромного комплекса (у внешней поверхности мембраны).
- в) комплекс FQR.

Система уравнений, соответствующая модели (рис.), содержит 26 обыкновенных дифференциальных уравнений. Переменными в ней выступают вероятности состояний комплексов и относительные концентрации подвижных переносчиков Pc, Fd, PQ в восстановленной форме. Начальные условия задавали в соответствии со стационарным распределением электронов в системе в отсутствие освещения.

Численное решение системы уравнений производилось с помощью программы Model Vision Studium [10]. В численном эксперименте наблюдали кинетические кривые темнового восстановления $P700^+$ при различных значениях концентрации ферредоксина. При оценке параметров модели некоторые из них выбирались в соответствии с литературными данными, другие считались свободными и варьировались. «Световую» константу k_0 считали пропорциональной интенсивности света: $k_0 = I\sigma$, где I – интенсивность света, σ – эффективное сечение поглощения PSI. При интенсивности света, равной 500 Вт/м^2 (условия эксперимента) $k_0 = 250 \text{ с}^{-1}$. Константы реакций между Pc и P700: $k_1 = 4 \cdot 10^3$ (Норе 2000); между Fd и PSI: $k_{11} = 5 \cdot 10^5$ (Норе, Liggins et al. 1989; Норе 2000). Константы скорости в цитохромном комплексе: $k_4 = 50$, $k_5 = 457$, $k_6 = 10000$, $k_7 = 4000$ (Норе, Liggins et al. 1989). Остальные константы варьировали. Концентрации

пластоцианина и пластохинона в расчете на один реакционный центр составляли 2 и 6. В начальный момент 10% Fd считали восстановленным.

Параметры модельной кинетики окислительно-восстановительных превращений P700⁺ представлены на рис. Как и для экспериментальной кривой быстрая фаза процесса восстановления P700⁺, представляющая собственно циклический транспорт, может быть хорошо аппроксимирована одной экспонентой. Однако как в эксперименте, так и в модели восстановление посредством циклического потока происходит не полностью. Медленная фаза, завершающая окончательное восстановление P700⁺, определяется обменом электронами с пулом неспецифических электронных акцепторов. Суммарная кинетическая кривая восстановления P700 в модели может быть аппроксимирована двумя экспонентами, причем быстрая компонента отражает собственно циклический транспорт с участием Fd, Pс, PQ, комплексов FQR и cyt b₆/f, а «медленный компонент» отражает взаимодействие с пулом неспецифических акцепторов.

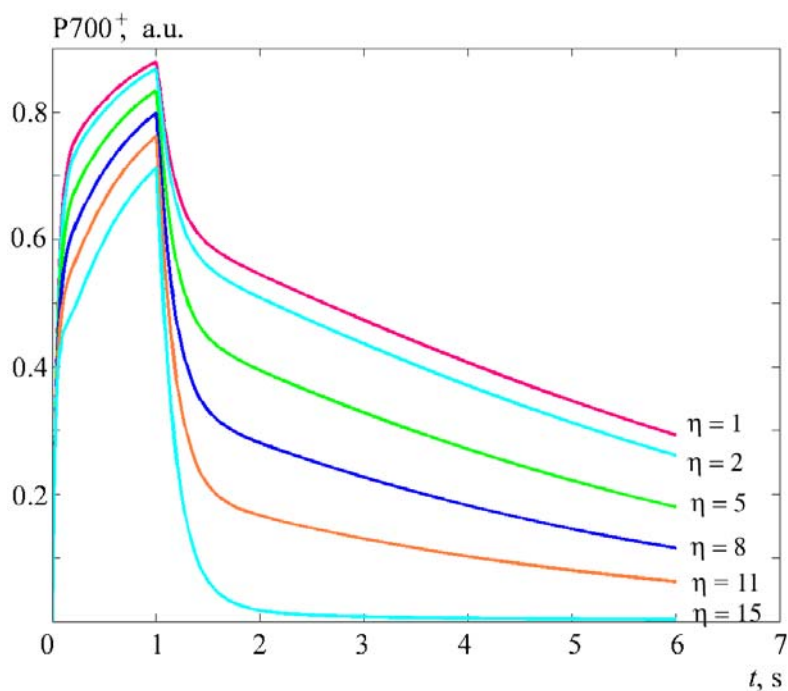


Рис. Модельная кинетика окислительно-восстановительных превращений P700⁺. Fd0 – отношение концентрации Fd к концентрации PSI.