

ДИСКУСІЯ

УДК 577.1:581.1

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ В БИОХИМИИ ФОТОСИНТЕЗА

© 2018 г. В. В. Иванищев

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Тульский государственный педагогический
университет им. Л.Н. Толстого»
(Тула, Россия)*

Статья посвящена анализу современных сведений в области биохимических механизмов фотосинтеза. Показано, что наши знания об этих процессах все еще неполны или ограничены. Это касается процесса выделения кислорода при фотосинтезе, ассимиляции CO₂, проявлений C₂-фотосинтеза. Отмечено, что современная трактовка хемиосмотической теории не вполне завершена. При этом единый (по общему признанию) механизм образования АТФ обусловлен разными режимами работы электрон-транспортной цепи фотосинтеза, обозначаемыми как нециклический, циклический и псевдоциклический транспорт электронов. Сделано заключение, что в целом многочисленные и многообразные результаты исследования фотосинтетического процесса все еще недостаточны для того, чтобы овладеть ими для использования в биотехнологических целях.

Ключевые слова: *фотосинтез, выделение кислорода, хемиосмотическая теория, ассимиляция CO₂, продукты фотосинтеза*

Фотосинтез – один из наиболее исследованных процессов. При этом глубокое проникновение в изучение механизмов усвоения солнечной энергии растениями и ее превращения в энергию химических связей делает знания в соответствующих областях биологической науки настолько детализированными, что затрудняет анализ и обобщение данных и составление представления о фотосинтезе как едином целом. Например, к настоящему времени процессы транспорта электронов при фотосинтезе стали предметом биофизических исследований, в которых скорости процессов измеряются во временных диапазонах, на много порядков превосходящих те, которые характерны для биохимических реакций и процессов (Мокроносов и др., 2006; Santabarbara et al., 2014; Savikhin, Jankowiak, 2014). Сведения о собственно биохимии фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода и превращениях

продуктов фотосинтеза также существеннополнились.

Деление фотосинтеза на световую и темновую стадии служит отправной точкой для рассмотрения процессов, которые непосредственно связаны с транспортом протонов и электронов за счет энергии света, завершающимся синтезом НАДФН и АТФ, либо с их использованием для образования органических соединений. При этом исследуемые биохимические процессы иногда рассматриваются достаточно разрозненно, что не позволяет взглянуть на них с более общих позиций. Ярким примером служит описание различных типов фотофосфорилирования, которое делят на циклическое, нециклическое и псевдоциклическое. Каждый из процессов достаточно хорошо и подробно изучен и описан. Однако интерпретация результатов исследования переноса электронов и протонов и их связь с образованием АТФ носит неопределенный характер, а именно: указывается, например, на неодинаковое участие разных типов фотофосфорилирования «в отдельных метаболических процессах растительного организма» (Мокроносов и др., 2006). При этом иг-

Адрес для корреспонденции: Иванищев Виктор Васильевич, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, пр. Ленина, 125, Тула, 300026, Россия;
e-mail: avdey_VV@mail.ru

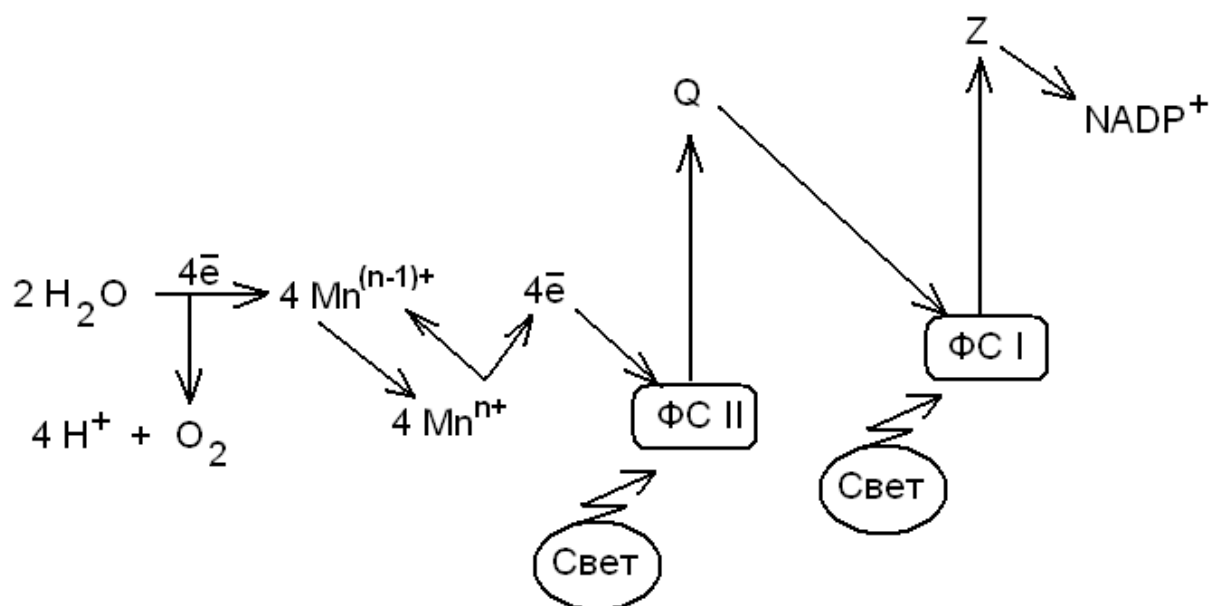


Рис. 1. Принципиальная схема фотоллиза воды и передачи электронов в электрон-транспортную цепь фотосинтеза.

норируется тот общепризнанный факт, что синтез АТФ осуществляется благодаря единому механизму – образованию электрохимического градиента на мембране тилакоидов, и каждый тип фотофосфорилирования вносит определенный вклад в формирование такого градиента (как общего результирующего действия) на мембране. Поэтому, каким образом такую картину можно связать с влиянием разных типов фотофосфорилирования на разные метаболические процессы, остается загадкой. Либо следует признать, что кроме основного механизма образования АТФ при участии мембраносвязанной АТФ-синтетазы в хлоропластах, существуют и иные биохимические механизмы синтеза АТФ, которые не связаны с теорией Митчелла, либо отчасти (или при определенных условиях) конкурируют с этим механизмом (механизмом Митчелла). В противном случае взаимосвязь между видами фотофосфорилирования и отдельными путями метаболизма может быть объяснена тем, что в ходе каждого вида фотофосфорилирования (или параллельно ему) образуются какие-то продукты, важные для того или иного пути метаболизма.

Среди значимых проблем фотосинтеза можно также отметить представления о механизмах выделения кислорода, которые не позволяют объяснить другие, связанные с ним физиологические процессы; о деталях механизма превращения электрохимического градиента, возникающего на мембране, в энергию АТФ; о

механизмах синтеза углеводов, их экспорта из хлоропластов и о взаимосвязи с обменом других важных групп органических соединений. В связи с этим, представляется целесообразным обобщение имеющихся данных о фотосинтетическом процессе для подведения некоторых промежуточных итогов исследований и обозначения направлений, которые требуют внимания как исследователей, так и практиков.

Выделение кислорода при фотосинтезе

Пероксид водорода как субстрат для образования кислорода при фотосинтезе. В начале 40-х годов прошлого века А. Виноградов и Р. Тэйс показали, что источником кислорода в ходе фотосинтеза является вода. Однако этот признанный всеми и кажущийся неоспоримым факт в течение примерно полувека подвергается сомнению со стороны исследователя Г. Комиссарова, который отстаивает «новую концепцию фотосинтеза, открывающую перспективы» (Комиссаров, 2010). Гипотеза автора построена на результатах практической работы по созданию установок, обладающих способностью к фоторазложению воды. В последнее время этой проблеме уделяют внимание и другие исследователи, которые занимаются в том числе вопросами создания искусственных хлоропластов (Shi et al., 2014; Young et al., 2015; Feng et al., 2016; Nilsson et al., 2016). Необходимо отметить, что практические результаты в этом направлении не столь значительны, как это можно было бы предположить. Одной из

причин такого состояния дел, по нашему мнению, являются недостаточно полные и четкие представления о процессе выделения кислорода при фотосинтезе, несмотря на то, что картина в целом кажется вполне исчерпывающей (Мокроносов и др., 2006; Heldt., Pichulla, 2011) (рис. 1).

Г. Комиссаров считает, что фоторазложение пероксида водорода в ходе фотосинтеза, является предпочтительным по многим причинам. Например, с химической точки зрения этот тезис не может вызывать возражений ввиду того, что значение стандартного электродного потенциала пары $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_2$ составляет $-0,69$ В, в то время как аналогичная величина для пары $\text{H}_2\text{O}/\text{O}_2$ равна $-1,23$ В. При этом анализ научной литературы показал, что даже в трижды дистиллированной воде содержание пероксида водорода составляет 10^{-9} , в водах рек, озер, морей и океанов – 10^{-6} М, а в дождевой воде – 10^{-5} М. Имеющиеся данные об образовании значительных количеств пероксида водорода в хлоропластах и клетках растений ($0,5$ – 1 мкмоль на 1 мг хлорофилла) также дают автору основание для того, чтобы говорить об этом потенциальном субстрате для фоторазложения и как источнике выделения кислорода (Комиссаров, 2010). При этом верхний предел содержания H_2O_2 в листьях и хлоропластах, в частности, может быть еще выше (Иванищев, 2017б).

Косвенным доказательством такого решения проблемы Г. Комиссаров считает хорошо известные данные о высокой транспирации растений, физиологическое значение которой до сих пор остается не вполне понятным, особенно, если учитывать, что в тех или иных биохимических реакциях молекулы воды используются в единичных случаях. Так, на образование продуктов фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода затрачивается примерно $0,001$ часть используемой растением воды (Комиссаров, 2010; Heldt, Pichulla, 2011). В то же время известно, что одно растение кукурузы или подсолнечника может испарить ее в количестве до 200 л за сезон (Иванищев, 2011), в то время как защита растения от перегрева за счет транспирации, по-видимому, не требует таких количеств воды. Отметим также, что существуют многократно подтвержденные результаты исследований по увеличению продуктивности растений путем их обработки раствором пероксида водорода. Некоторые из способов даже защищены патентами. К тому же, увеличение концентрации H_2O_2 при испарении

воды – один из методов химической практики, который реализуется благодаря худшей летучести пероксида водорода (Комиссаров, 2010).

Известно также, что эффективность световых реакций фотосинтеза определяется не общим содержанием хлорофилла, а, скорее, числом реакционных центров фотосинтетических единиц, содержащих в своем составе несколько сотен других молекул хлорофилла и иных пигментов фотосинтеза, организованных в светособирающий комплекс (Heldt, Pichulla, 2011; Blankenship, 2014; Ladygin, 2016). Если учесть этот факт, а также принять общую концентрацию хлорофилла в 3 мг/г сырой массы, то молярная концентрация хлорофилла реакционных центров может составлять величины на три порядка ниже (то есть в тысячу раз меньше) по отношению к молярной концентрации пероксида водорода (Иванищев, 2017б). В то же время показано, что в процесс поглощения света в каждый данный момент вовлечены не все имеющиеся фотосинтетические единицы (Ladygin, 2016). Поэтому Г. Комиссаров резонно считает, что *in vivo* соблюдается соотношение, при котором концентрация пероксида водорода на несколько порядков превышает концентрацию хлорофилла реакционных центров. Этого вполне достаточно для объяснения наблюдаемых скоростей выделения кислорода в ходе фотосинтеза (Комиссаров, 2003).

Экспериментальные данные также говорят о том, что при любом виде стресса количество пероксида водорода в листьях растений может существенно возрастать (Гарифзянов и др., 2011; Cheeseman, 2006). Однако, это не увеличивает фотосинтез, а чаще всего пагубно влияет на него, а также на иные, связанные с ним процессы. Негативное влияние в таких случаях обычно объясняют повреждающим действием других активных форм кислорода, которые образуются при стрессе и обладают большей разрушительной силой. Вероятно, наличие таких данных не позволяет большинству исследователей хоть как-то учитывать мнение Г. Комиссарова.

В качестве дополнительного аргумента можно привести данные о создании (при участии Г. Комиссарова) фотовольтаической батареи, в составе которой присутствует синтетический аналог хлорофилла – фталоцианин. При освещении видимым светом такая батарея выделяет газообразный кислород из воды. Изучение пористых пленок, содержащих фталоцианин, на металлическом электроде привело к мысли о том, что фоторазложению подвергают-

ся не молекулы воды, а молекулы пероксида водорода, который образуется на границе раздела пигмент–металл. Позднее это было доказано экспериментально (Комиссаров, 2003).

Отдельная проблема, которую обсуждает Г. Комиссаров (2010), касается необходимости дополнительной тепловой энергии для протекания фотосинтетического процесса. Это хорошо согласуется с известными данными о поглощении листьями 25% энергии инфракрасных лучей солнечного света (Иванищев, 2011).

Еще одним доводом автора в пользу предлагаемой им теории является понятие о локальном разогреве микроучастков хлоропластов, который может составлять до 70°C, что способствует отрыву электрона от молекулы хлорофилла реакционного центра (Комиссаров, 2003). С этим пунктом также можно согласиться при определенных условиях (Иванищев, 2017б).

Таким образом, точка зрения Г. Комиссарова имеет множество основополагающих экспериментальных данных и поэтому вполне заслуживает специальной опытной проверки. Особый интерес к этому вопросу возникает в свете данных последних лет об образовании кислорода в искусственных системах с использованием пероксидов.

Пероксид (оксон) как источник кислорода при фотосинтезе. Постулируемое теорией образование связи между атомами кислорода (О-О) при участии ионов марганца не находит пока никакого экспериментального подтверждения. Остается невыясненным также вопрос об участии разных молекул воды (связанных с водоокисляющим комплексом и свободных от него – находящихся в окружающей среде) в образовании кислорода (Vinyard, Brudvig, 2017). Поэтому дополнительным аргументом в выборе направления дальнейших работ для решения данного вопроса могут служить результаты модельного исследования по выделению кислорода в среде $H_2^{18}O$ в присутствии пероксида (оксона) состава HSO_5^- (Young et al., 2016). Показано, что почти стократный избыток оксона в среде приводил к образованию немеченого кислорода, в то время как 20-кратный избыток давал только примерно половину немеченого (выделившегося в ходе опыта) кислорода, оставшаяся часть газа была меченой полностью или наполовину. Авторы интерпретируют эти результаты как указание на то, что кислород может быть образован, по крайней мере, двумя различными путями. Аналогичные результаты по получению гибридных молекул кислорода

($^{16,18}O_2$) были продемонстрированы в экспериментах Нилссона с соавторами (Nilsson et al., 2016), что указывает на участие в процессе окисления одной молекулы воды, связанной непосредственно с водоокисляющим комплексом, и другой молекулы воды, взятой из окружающей среды.

В модельных экспериментах по изучению водоокисления в присутствии $[(OH_2)(terpy)Mn(\mu-O)_2Mn(terpy)(OH_2)]^{3+}$ ($terpy = 2,2':6',2''$ -terpyridine), адсорбированного на каолине или слоях слюды, и $CeIV$ в качестве оксиданта также было показано образование нормальных ($^{16}O_2$ и $^{18}O_2$) и гибридных молекул кислорода ($^{16,18}O_2$) в присутствии в среде разного количества $H_2^{18}O$ (Yagi et al., 2009). В водном растворе (без сорбции катализатора на каолине или слюде) выделения кислорода в условиях эксперимента не наблюдали. Кроме того, в работах Brudvig и соавт., опубликованных в начале века (цит. по: Yagi et al., 2009), изучали выделение кислорода в присутствии такого же комплекса и соли – $NaClO$ или $KHSO_5$ в качестве доноров кислорода в водных растворах. Наблюдаемая скорость выделения кислорода в присутствии пероксимоносульфата калия была в 400 раз выше, чем в присутствии гипохлорита натрия.

Представленные результаты можно интерпретировать в пользу гипотезы Г. Комиссарова о пероксиде водорода как источнике кислорода при фотосинтезе (Комиссаров, 2010). При этом обращаем внимание на необходимость связывания катализатора ($[(OH_2)(terpy)Mn(\mu-O)_2Mn(terpy)(OH_2)]^{3+}$) с каолином или слюдой, полагая, что природный водоокисляющий комплекс, возможно, также должен быть связан, например, с мембраной для разложения пероксида водорода, в результате чего происходит образование кислорода.

Сложившаяся ситуация ставит вопрос о необходимости проведения оригинальных исследований по выделению кислорода в присутствии в среде пероксида водорода. Возможно, что для осуществления реакции будут необходимы иные дополнительные условия (например, наличие в реакционной среде таких ферментов, как карбоангидраза, каталаза или компонентов мембран), которые ранее не учитывались при изучении процессов *in vivo*. При этом создание искусственных систем должно строиться на иной основе, так как присутствие белковой части в составе кислород-выделяющего комплекса может ограничивать скорость его работы в силу лабильности свойств белковых

систем (Young et al., 2015). В то же время в реакционной среде (как и в рассматриваемом механизме процесса), по-видимому, обязательно должны присутствовать и ионы бикарбоната (см. ниже), и пероксид водорода.

Источник кислорода при фотосинтезе - бикарбонат-ион. Другая идея, связанная с проблемой выделения кислорода в ходе фотосинтеза, основана на давно известных результатах исследований по активации фоторазложения воды в присутствии в среде бикарбонат-иона (Stemler, Govindjee, 1973). При этом его отсутствие в реакционной среде приводило к ингибированию транспорта электронов при фотосинтезе (Wydrzynski, Govindjee, 1975). Много позднее было установлено, что на акцепторной стороне фотосистемы II (ФС II) есть два участка для связывания ионов бикарбоната (Терентьев др., 2013).

Фотохимическая реакция переноса электрона (при работе ФС II) приводит к образованию ион-радикальной пары, состоящей из молекулы окисленного хлорофилла (P^+) и молекулы восстановленного акцептора. Второй компонент – водоокисляющий комплекс, который окисляется образовавшимся катион-радикалом P^+ и, в свою очередь, окисляет молекулы воды с образованием свободного кислорода, протонов (переносимых в люмен хлоропластной структуры) и электронов (заполняющих освободившиеся для них места в возбужденных молекулах хлорофиллов реакционных центров, чьи электроны были переданы на другие переносчики электрон-транспортной цепи фотосинтеза). Каталитическим центром водоокисляющего комплекса является неорганический кластер, стехиометрию которого обозначают как Mn_4CaO_5 (Терентьев и др., 2013; Vinyard, Brudvig, 2017).

Объемная структура этого комплекса сформирована таким образом, что кальций связан со всеми четырьмя ионами марганца через оксо-мостики, а ионы марганца разбиты на связанные между собой пары с помощью тех же оксо-мостиков. В результате с кластером ассоциированы четыре молекулы воды, ориентированные по две у иона кальция и иона марганца, обозначаемого как $Mn4$ (Терентьев и др., 2013). При этом показана важная роль ионов хлора, которые образуют сети водородных связей с другими молекулами воды и функционально активными группами ряда аминокислот, входящих в состав молекул белков водоокисляющего комплекса (Umena et al., 2011). В результате формируются каналы для удаления обра-

зующихся при разложении воды протонов от марганцевого кластера и/или доставки молекул воды для их разложения.

Показано также, что для структурно-функциональной организации водоокисляющего комплекса необходимо присутствие бикарбонат-иона, который обеспечивает связывание ионов марганца внутри кластера (Klimov et al., 1997; Hulsebosch et al., 1998; Vinyard, Brudvig, 2017). При этом бикарбонат-ионы обладают значительным защитным эффектом для фотосистемы II при повышенной температуре среды. Предположение о возможности использования бикарбонат-иона в реакции фотоокисления вместо воды не нашло экспериментального подтверждения, хотя предложенный механизм кажется достаточно ясным (Zeinalov, 2005). Тем не менее, можно полагать, что в присутствии бикарбонат-иона трудно окисляемый аквакатион Mn^{2+} (потенциал окисления до $Mn^{3+} = 1,18$ В) может трансформироваться в легко окисляемые Mn-бикарбонатные комплексы с потенциалом окисления 0,52-0,67 В (Терентьев и др., 2013). Отчасти, такое снижение потенциала окисления исследователи объясняют способностью бикарбоната связывать протоны, образующиеся при фоторазложении воды. В то же время накопленные результаты исследований позволяют говорить некоторым авторам, по крайней мере, о двух разных путях выделения кислорода при фотосинтезе и динамическом (а не структурном или статистическом) понятии фотосинтетической единицы как отражении состояния светособирающего комплекса (Zeinalov, 2005).

Изучение состава и электрохимических свойств комплексов марганца с бикарбонатом показало, что в водном растворе ионы Mn^{2+} связаны с шестью молекулами воды. Присутствие в среде разных концентраций бикарбоната приводило к образованию с ионами марганца комплексов разного состава. При этом значение потенциала окисления бикарбонат-иона было существенно ниже и составляло 0,52 В, в то время как потенциал окисления воды равен 1,23 В. Изучение влияния pH на рассматриваемый процесс также показало снижение этой величины. Наименьшие величины потенциала окисления наблюдали при pH 7,60-7,90, которые считают оптимальными для процесса фотосинтеза (Терентьев и др., 2013).

Таким образом, рассмотрение описанного процесса в свете эволюции нашей планеты и зарождения жизни на Земле позволило предположить, что такой механизм мог присутство-

вать у первых фототрофов. При этом вопрос о возможности использования H_2O_2 в процессе фотоокисления авторы (Терентьев и др., 2013) рассматривают только через призму его превращения в воду при участии фермента каталазы с последующим фотоокислением молекул воды, а не наоборот.

Подводя итоги исследованиям в области изучения механизма выделения кислорода при фотосинтезе, следует отметить, что решение вопроса об источнике кислорода можно считать все еще открытым, либо не полностью изученным. Косвенным свидетельством неполноты наших знаний в этом вопросе является невозможность воспроизведения этого процесса в системе *in vitro* с высокой эффективностью.

О хемиосмотической теории Митчелла

Вопросы хемиосмотической теории и их решения. Теория Митчелла полагает, что химический (ΔpH) и электрический ($\Delta\psi$) компоненты протон-движущей силы, необходимой для синтеза АТФ на мембранно-связанной АТФ-синтетазе, создаются за счет движения и переноса единственного вида ионов – протонов (Heldt, Pichulla, 2011; Voet, Voet, 2011). При этом в хлоропластах величина электрохимического градиента на мембране во многом определяется разницей в величине pH по обе стороны мембраны, которая достигает 2,5-3,0 единицы. Величина электрического потенциала составляет около 60 мВ. В аналогичном процессе переноса электронов при дыхании ведущая роль, напротив, принадлежит электрическому потенциалу, величина которого достигает 200 мВ при разнице ΔpH , равной всего около 0,2 единицы (Heldt, Pichulla, 2011).

Ряд исследователей обратил внимание на обратную зависимость между указанными компонентами электрохимического градиента, которые одновременно создаются за счет только переноса электронов, что невозможно с точки зрения общих представлений. При этом включение света вызывает первоначальное возникновение электрического потенциала, вслед за которым образуется химический градиент (Мокронос и др., 2006). Дополнительным стимулом для разработки этого вопроса послужили результаты по исследованию молекулярного механизма работы АТФ-синтетазы (Nath, Villadsen, 2015; Иванищев, 2017a).

Для решения указанных проблем был предложен механизм, благодаря которому общие движущие силы синтеза АТФ создаются двумя независимыми источниками энергии, а

перенос протонов по электрон-транспортной цепи фотосинтеза (или дыхания) является только одним из них (Nath, Villadsen, 2015). В этом случае, в соответствии с известными закономерностями для межмембранного переноса в биологических системах характерны явления симпорта или антипорта, благодаря чему сохраняется общая электронейтральность сред (Jain et al., 2004). Тогда, по мнению авторов (Nath, Villadsen, 2015), каждый из агентов, т.е. A^-/C^+ (A^- – анион, C^+ – катион) и H^+ , вносит примерно равный вклад в создание энергетического потенциала, необходимого для синтеза АТФ.

Предполагается, что ни общий градиент концентраций по объемным водным фазам, ни общий электрический потенциал на мембране не способны косвенно влиять на связь двух транспортных систем, которые обнаружены в а- и с-субъединицах АТФ-синтетазы, связанных с мембраной. Только совместное присутствие ионов в соответствующих каналах доступа в а- и с-субъединицах на границе а-с водно-липидной поверхности мембраны может влиять на связь между генерацией вращающего момента центральными субъединицами олигомера фермента и синтезом АТФ. При этом общий механизм в целом электронейтрален, и он работает при участии разного числа с-субъединиц в F_0 части олигомера АТФ-синтетазы (от $n = 8$ до $n = 15$) (Nath, Villadsen, 2015; Иванищев, 2017a) (рис. 2).

Как видно из рис. 2, образование градиента на мембране тилакоида происходит за счет того, что физиологический анион (A^-) переносится с помощью ФС I и ФС II из стромы в люмен, а обратно – через а-субъединицы АТФ-синтетазы. Возможность функционирования такого симпорта (или антипорта) была постулирована для объяснения механизма синтеза АТФ в соответствии с принципами единой теории функционирования сопряженных биоэнергетических систем. Подобный механизм должен выполняться для всех известных в природе АТФ-аз аналогичных типов (F-, V-, P-, A-) (Jain et al., 2004; Nath, 2004; Nath, 2008).

Определение ко-транспортимого аниона для хлоропластов. Изучение синтеза АТФ с использованием тилакоидов листьев шпината показало, что присутствие малата в среде существенно повышало эффективность процесса. Другие изученные субстраты (оксалоацетат, бутират и т.д.) обеспечивали эффективность синтеза АТФ на уровне до 10% от того, который наблюдали в присутствии малата. Иссле-

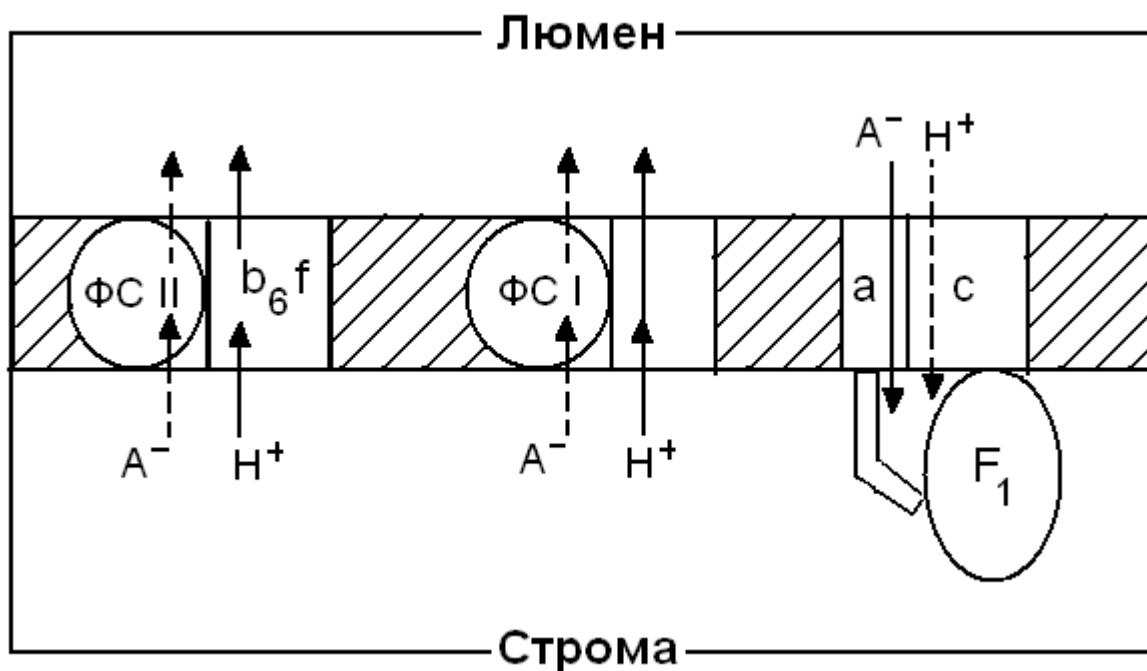


Рис. 2. Сопряженный перенос протонов и анионов через фотосистемы (ФС I и ФС II), а также через а- и с-субъединицы АТФ-синтетазы (b₆f- комплекс цитохромов, F₁ – часть фермента АТФ-синтетазы, на которой происходит синтез АТФ)(по: Nath, Villadsen, 2015, с изменениями).

дование процесса в присутствии неорганических ионов – ионов хлора, брома, йода – не дало возможности считать их важными для обеспечения изучаемого процесса. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что малат является тем анионом, который транспортируется совместно с протонами обеими фотосистемами в ходе световых реакций и возвращается обратно в строму через каналы молекулы АТФ-синтетазы при синтезе АТФ в хлоропластах (Nath, Villadsen, 2015).

Такая функциональная роль малата не кажется удивительной для этого процесса, так как достаточно давно известно наличие соответствующих переносчиков дикарбоновых кислот с высоким сродством в мембранах хлоропластов (Edwards, Walker, 1983; Иванищев, 2017б). Более того, обмен дикарбоновых кислот в хлоропластах обеспечивает один из путей переноса восстановительных эквивалентов за пределы хлоропластов, а также метаболизм дикарбоновых кислот в них (Абдуллаев и др., 1989; 1992; Иванищев, 1992; 1997; Иванищев, Курганов, 1993а; 1993б). Обнаруженное участие малата в создании электрохимического градиента на мембране хлоропластов только расширяет представления о значительной роли этого субстрата, которую он играет в различ-

ных процессах и метаболизме клетки (Иванищев, Курганов, 1992).

При этом решается и проблема непродуктивного возвращения протонов в строму хлоропласта, а именно: образующийся в таких условиях избыток малата может быть метаболизирован рядом ферментов (Абдуллаев и др., 1989; 1992; Иванищев, Курганов, 1993а; 1993б) или выведен за пределы хлоропласта при участии соответствующего челнока (Edwards, Walker, 1983; Heldt, Pichulla, 2011).

Аналогичные системы переноса могут иметь место и в процессе, связанном с работой электрон-транспортной цепи дыхания, где в качестве аниона может выступать сукцинат, а у микроорганизмов в подобных системах такую роль выполняют неорганические ионы, например, ионы калия, натрия и др. (Nath, Villadsen, 2015; Иванищев, 2017а).

Особенности структуры АТФ-синтетазы. Обнаружение существенной значимости остатков Arg-210 а-субъединицы и Asp-61 с-субъединицы для проявления активности фермента долгое время не находило объяснений. При этом изучение особенностей изменения конформации молекул АТФ-синтетазы в ходе реакции привело к пониманию того, что отмеченные аминокислотные остатки участву-

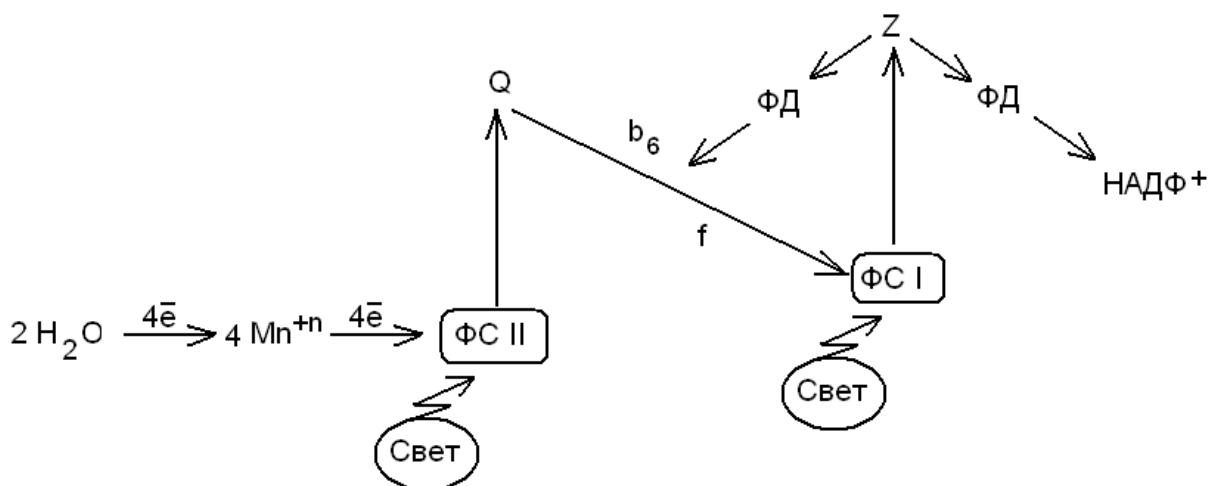


Рис. 3. Общая схема нециклического и циклического переноса электронов при фотосинтезе (Q – система пластохинонов, b₆, f – система цитохромов, Z – акцептор электронов для их передачи на системы ФД – ферредоксина, ФС I и ФС II – фотосистемы).

ют в создании близко расположенных друг к другу, но все же разных каналов для переноса различных зарядов в ходе реакции синтеза АТФ. Это позволяет рассматривать фермент как систему, при участии которой осуществляется совместный транспорт протона и аниона, в результате чего обеспечивается в целом электронейтральный механизм процесса переноса (Nath, Villadsen, 2015).

В качестве косвенного доказательства авторы приводят данные о консервативности последовательности аминокислотных участков а-субъединицы АТФ-синтетазы, выделенной из организмов различных таксономических групп, начиная от одноклеточных (*Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*) и далее – до растений, животных и человека. Присутствие в положении 210 аргинина, в положении 211 – лейцина, а в положении 214 – аспарагина позволяет функциональным группам этих аминокислот обеспечивать химическое взаимодействие, связывание и перенос дикарбоновой кислоты через молекулу АТФ-синтетазы. Консервативное положение ряда остатков серина и треонина в близлежащих участках может создавать дополнительные возможности для связывания и переноса дикарбоновых кислот через канал, образуемый а-субъединицами фермента. При этом перенос протонов в строуму, по-видимому, осуществляется по другому (близко расположенному) каналу, где ключевая роль отведена аминокислотным остаткам глутаминовой или аспарагиновой кислоты в 61-ом положении аминокислотной последовательности с-субъединицы АТФ-синтетазы (Nath, Villadsen, 2015).

При рассмотрении процесса синтеза АТФ у бактерий также возникает ряд вопросов, которые не могут быть решены в рамках теории Митчелла. По-видимому, у бактерий также должен работать аналогичный механизм совместного переноса протона и другого иона (или органического вещества) (Nath, Villadsen, 2015). Однако, для подтверждения этой точки зрения необходимы соответствующие экспериментальные доказательства.

Проблемы представлений о фотофосфорилировании. Известные события нециклического переноса электронов при фотосинтезе завершаются синтезом НАДФН (рис. 3). Перекачка протонов в люмен, происходящая автоматически в ходе работы электрон-транспортной цепи, обеспечивает создание электрохимического градиента, который далее используется для синтеза АТФ. При этом, если представления о механизме синтеза НАДФН достаточно ясны, то проблема синтеза АТФ до сих пор оказывается под пристальным вниманием исследователей. Переносчики в цепи фотосинтеза расположены в порядке возрастания окислительно-восстановительного потенциала (Heldt, Pichulla, 2011). При этом места наибольших различий в величинах такого потенциала между соседними переносчиками часто и до сих пор интерпретируются как участки, где «происходит синтез» молекул АТФ. При этом понятие «пункты сопряжения» (то есть – участки цепи переноса электронов, где переносчики в наибольшей степени различаются между собой по окислительно-восстановительному потенциалу, «благодаря которому» происходит запасание

энергии в виде АТФ) в кругах исследователей все же стало менять свой первоначальный смысл. Теперь оно отражает значимость функционирования (энергетический вклад) отдельных компонентов электрон-транспортной цепи в создании генерируемого на мембране электрохимического градиента, образуемого за счет переноса протонов из стромы хлоропласта в люмен (Мокронос и др., 2006).

В противоположность этим представлениям о «пунктах сопряжения» теория Митчелла объясняет неделимый на подобные части принципиальный общий механизм синтеза АТФ.

Несмотря на очевидную взаимосвязь двух процессов, необходимой ясности и полной взаимозависимости между этими взаимообусловленными процессами в научной и учебной литературе, по крайней мере, в используемой терминологии, до сих пор не обнаруживается.

Если в описании взаимодействия работы электрон-транспортной цепи дыхания, которая обеспечивает образование электрохимического потенциала на собственной митохондриальной мембране, и синтеза АТФ картина достаточно ясна и понятна (но не всегда правильно иллюстрируется), аналогичные процессы, рассматриваемые при изучении фотосинтеза, описываются в несколько запутанной манере.

При рассмотрении фотосинтетического процесса вопрос оказывается более сложным в силу того, что исследователи различают циклический, нециклический и псевдоциклический виды переноса электронов и говорят о соответствующих видах фотофосфорилирования (Мокронос и др., 2006; Heldt, Pichulla, 2011). Акцент делается на участках электрон-транспортной цепи фотосинтеза, где соседние переносчики в наибольшей степени различаются между собой по величине окислительно-восстановительного потенциала. В используемых при этом рассуждениях объединяются процессы, которые не связаны напрямую друг с другом (перенос электронов и синтез АТФ) и, более того, пространственно и во времени разобщены (Heldt, Pichulla, 2011).

Как правило, исследователи никаким образом не акцентируют внимание на том, что любой вид переноса электронов при фотосинтезе должен приводить к образованию электрохимического градиента на мембране тилакоида (как «движущей силы» образования АТФ). При этом вклад того или иного вида переноса электронов в создание градиента (по количеству синтезируемого АТФ) оценивается как результат отдельных (разных) экспериментов, прове-

денных в специфических условиях. Более того, остаются неясными биохимические механизмы, которые лежат в основе некоторых экспериментальных результатов, которые трактуются как неодинаковое участие разных типов фотофосфорилирования «в отдельных метаболических процессах растительного организма» (Мокронос и др., 2006). Получается, что конечный результат каждого типа переноса электронов (циклического, нециклического, псевдоциклического), проявляющийся (в конечном итоге) в создании единого результата – электрохимического градиента на мембране тилакоида – вызывает разный физиологический эффект. С таким выводом вряд ли можно согласиться. Решение вопроса, по-видимому, состоит в том, что в ходе каждого типа процесса фотофосфорилирования образуются иные продукты (вещества), играющие более важную регуляторную роль для реализации разных процессов метаболизма (Мокронос и др., 2006). Однако до сих пор неясно, что представляют собой эти «продукты» (вещества).

Таким образом, еще раз подчеркнем, что описанные представления создают неясную и запутанную для понимания общую картину взаимосвязи между процессами работы электрон-транспортной цепи и образования АТФ в ходе фотосинтеза, несмотря на то, что они разделены во времени и в пространстве. Поэтому, несмотря на наличие новых экспериментальных данных в области изучения образования АТФ в живых системах, которые существенно дополняют известную хемиосмотическую теорию и предлагают достаточные основания для уточнения сил, участвующих в создании электрохимического градиента на биологической мембране, необходимы дальнейшие исследования для выяснения соответствующих биохимических механизмов, обеспечивающих взаимосвязь фотосинтеза с иными физиологическими и биохимическими процессами в растительной клетке.

Особенности биохимии цикла Кальвина

D-рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза-оксигеназа (Рубиско, КФ 4.1.1.39) – ключевой фермент цикла Кальвина, с помощью которого неорганический углерод становится частью органического вещества. Современные представления о структуре и функциях Рубиско достаточно полны. Различают две основные формы фермента. Одна представлена классической формой, состоящей из 8 больших и 8 малых субъединиц и имеющей молекулярную массу около 560 кДа. Она характерна для высших ра-

стений. Другая форма присутствует у низкорганизованных фотоавтотрофов и представлена только большими субъединицами в количестве 2-6 (Martin et al., 2000). При этом особенности генетики фермента состоят в том, что большие субъединицы кодируются ДНК хлоропластов, а малые – геномом ядра клетки, причем в ходе онтогенеза полипептидный состав малых субъединиц может меняться.

Механизм реакций карбоксилирования и оксигенирования подробно изучен (Roy, Andrews, 2000). При этом присоединение газа к активированному комплексу Рубиско происходит, по-видимому, без образования комплекса Михаэлиса, но при наличии одной и той же енольной формы акцептора – D-рибулозо-1,5-бисфосфата. В то же время конкуренция между молекулами кислорода и углекислого газа за активный центр определяется присутствием магния, ионы которого повышают специфичность взаимодействия с кислородом и углекислым газом в 10-25 раз (Jordan, Oggen, 1983).

Среди вопросов энзимологии в этой области можно отметить недостаток сведений о наличии и свойствах разных изоформ ферментов, катализирующих реакции, аналогичные реакциям цикла Кальвина, но локализованных в других компартментах клетки. К локализованным исключительно в хлоропластах относят фосфорибулокиназу, транскетолазу, рибозофосфатизомеразу и рибозофосфатэпимеразу (Gontero et al., 1988; Schnarrenberger et al., 1995; Martin et al., 2000; Heldt, Pichulla, 2011). Ферментами, необходимыми для протекания в цитозоле глюконеогенетических реакций, считаются фосфоглицераткиназа, глицеральдегидфосфат-дегидрогеназа, фруктозо-бисфосфатаза и др. (Heldt, Pichulla, 2011). В то же время такие ферменты функционируют и в реакциях цикла Кальвина в хлоропластах. Проблемы разграничения изоформ, их количества, кинетических свойств и генетики остаются открытыми, несмотря на то, что анаболическая направленность метаболизма растений объясняет преобладание активности некоторых ферментов именно в хлоропластах зеленых листьев (например, до 90% для фосфоглицераткиназы, глицеральдегидфосфатдегидрогеназы, альдолазы и фруктозо-бисфосфатазы). Для других ферментов окислительного пентозофосфатного цикла характерна более высокая активность в цитозоле клеток. При этом важно учитывать факт перехода от гетеротрофного питания (за счет запасных веществ семени) к автотрофному росту растений, что также может сопровож-

даться заменой одних изоформ ферментов другими (Schnarrenberger et al., 1995).

Отдельный интерес представляет вопрос об особенностях организации надмолекулярных комплексов. Результаты ранних исследований, свидетельствующие о высокой скорости превращения D-рибозо-5-фосфата до фосфоглицеральдегида по сравнению со скоростями реакций, катализируемых индивидуальными ферментами этой последовательности реакций цикла Кальвина, дали основание говорить о «туннелировании» промежуточных продуктов реакций, обусловленном наличием комплекса ферментов (Gontero et al., 1988). Известные к началу 70-х годов прошлого столетия данные о мультиферментных системах синтазы жирных кислот, пируватдегидрогеназного комплекса служили основанием для утверждения о возможной форме организации ферментов и в цикле Кальвина.

В качестве первоначальных доказательств были использованы данные об одновременном присутствии в препаратах с активностью Рубиско и активности других ферментов, таких как, например, рибозофосфатизомеразы, фосфорибулокиназы, что наблюдали в ходе очистки фермента методами гель-фильтрации и хроматографии. Другими авторами показана возможность существования комплексов иного состава (Martin et al., 2000). Соотношение активностей ферментов было разным в зависимости от объекта исследования и особенностей эксперимента. При этом возникали вопросы о молекулярной организации таких комплексов и количественном соотношении молекул разных ферментов, с учетом того, что на долю Рубиско – главного фермента цикла Кальвина (имеющего среди ферментов цикла Кальвина одну из самых значительных молекулярных масс) приходится до 50% растворимых белков листа или до 80% белков хлоропластов (Edwards, Walker, 1983; Heldt, Pichulla, 2011).

Благодаря использованию иммуноспецифического метода было показано присутствие таких комплексов *in vivo* на внешней поверхности мембран тилакоидов, в то время как Рубиско была обнаружена также и в строме. При этом кинетические свойства отдельных ферментов в таких комплексах, естественно, были несколько иными (Martin et al., 2000).

Такие данные ставят вопросы не только о том, насколько жестко организованы такие системы, но и об их стабильности во времени, что связано с обеспечением поддержания скорости

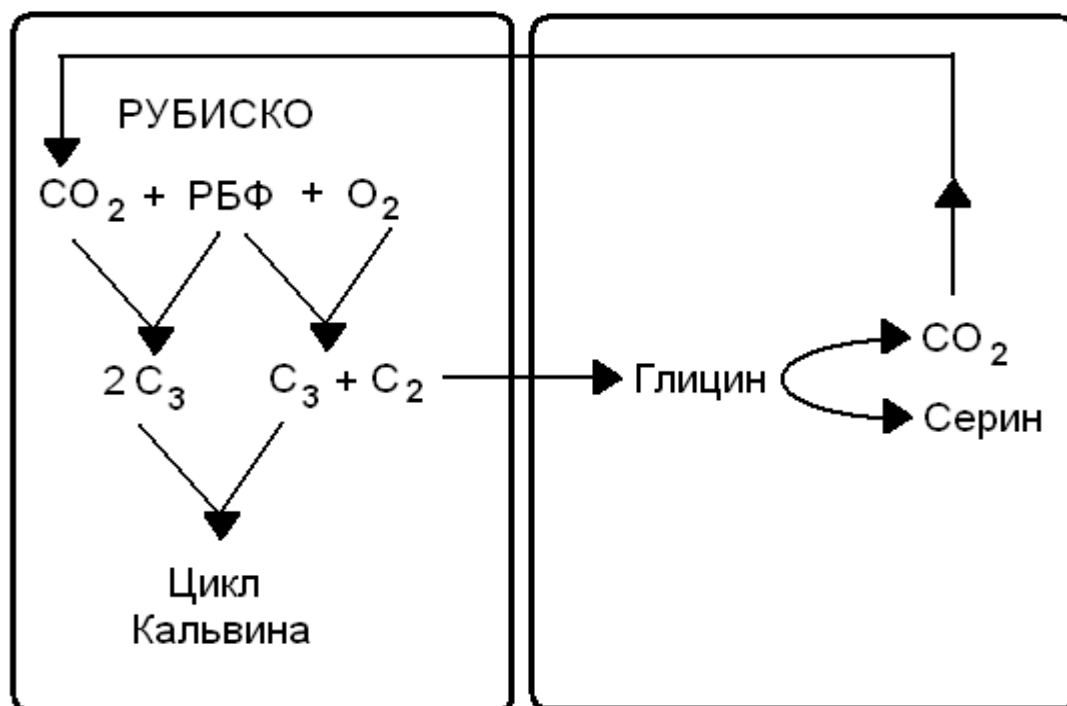


Рис. 4. Упрощенная схема разделения C₃- и C₂-фотосинтеза между разными клетками листа растения.

реакций, концентрации метаболитов, связанных в свою очередь с наличием в хлоропластах необходимых количеств восстановительных эквивалентов, АТФ, поддержанием необходимой величины рН, концентраций ионов металлов и пр.

Фотодыхание и C₂-фотосинтез

Открытие оксигеназной реакции Рубиско привело к появлению понятия фотодыхания и подробному изучению его механизма (Tolbert, 1997; Heldt, Pichulla, 2011). Исследование многообразия представителей растительного царства и особенностей проявления фотосинтетического процесса у них существенно расширило знания о механизмах фотосинтетической ассимиляции углекислого газа. При этом несколько неожиданной явилась трансформация представлений о фотодыхании. Обнаружение особенностей транспорта метаболитов (в первую очередь, глицина) между разными клетками листа растений, а также разное содержание митохондрий с присутствием в них ключевого фермента – глициндекарбоксилазы позволило сформулировать представления о C₂-фотосинтезе, который стали рассматривать как часть фотосинтетической ассимиляции CO₂ (рис. 4).

Особенности схемы показывают, что, несмотря на такое же потребление кислорода, как и при процессе дыхания, выделения углекислого газа в окружающую среду не происходит,

поскольку он улавливается хлоропластами. Тем не менее, процесс оказывается весьма энергозатратным. Считают, что C₂-цикл использует примерно в три раза больше энергии на один оборот молекулы CO₂. В результате при высокой интенсивности света для неттофотосинтеза, обеспечиваемого C₃-циклом Кальвина, используется почти такое же количество энергии фотосинтеза, которое потребляется циклом C₂ (Tolbert, 1997). Таким образом, C₂-фотосинтез можно рассматривать как один из важных биохимических путей, благодаря которому достигается нейтрализация избыточного количества энергии, получаемого растением от Солнца, наряду с необходимыми процессами синтеза глицина и серина, а также их использованием в других биосинтетических процессах.

Традиционная биохимическая трансформация фосфогликолата при фотодыхании предусматривает его превращение в глицин с дальнейшим образованием молекулы серина из двух молекул глицина с выделением CO₂ (Heldt, Pichulla, 2011). Совместное участие хлоропластов и пероксисом в этом процессе, с одной стороны, приводит к синтезу важнейшей аминокислоты – глицина для использования в разных метаболических путях для синтеза множества соединений. С другой стороны, синтез серина из двух молекул глицина при участии митохондрий, где локализована глицинде-

карбоксилаза, сопровождается потерей в этом процессе CO_2 , которую и обозначают как фотодыхание.

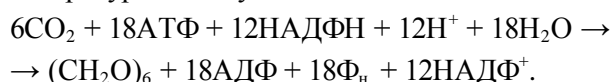
Особенности переноса глицина из одних клеток листа в другие совместно с наличием значительного числа митохондрий с присутствующей в них глициндекарбоксилазой и улавливание образующегося CO_2 хлоропластами приводят в результате к увеличению эффективности общего фотосинтеза растений (Douce et al., 2001). Интенсивное изучение строения и локализации глициндекарбоксилазы показало, что фермент состоит из четырех типов субчастиц (P-, H-, T- и L-белков), каждая из которых оказывается важной для обеспечения этапов превращения этой аминокислоты (Pratt, Cornely, 2014). Показано, что снижение содержания любой субчастицы глициндекарбоксилазы негативным образом сказывалось на продуктивности даже обычных C_3 -растений, у которых фермент участвует в фотодыхательном процессе (Schulze et al., 2016). При этом изменение локализации фермента (преобладание активности в митохондриях клеток обкладки сосудистых пучков) позволяло таким растениям проявлять фотосинтетические свойства, приближающие их по эффективности фотосинтеза к C_4 -растениям.

Таким образом, было установлено, что активность глициндекарбоксилазы важна для обеспечения общей продуктивности растений вне зависимости от типа фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода. Является ли этот феномен прямым следствием действия фермента или еще подключаются иные биохимические механизмы – неизвестно. При этом возникает интерес к вопросу о том, каким образом работает глициндекарбоксилаза у C_4 -растений, и какова ее роль в обеспечении их продуктивности? Или этот механизм затрагивает только растения с C_3 - C_4 -промежуточным типом фотосинтеза? Или в ходе эволюции у C_4 -растений на смену функционированию глициндекарбоксилазы пришли НАД-малик-энзим, НАДФ-малик-энзим и фосфоенолпируват-карбоксикиназа?

Синтез, транспорт и утилизация продуктов фотосинтеза

Ассимиляция неорганического углерода и моделирование этого процесса. Представления о метаболизме фотоассимилятов сложились достаточно давно в виде вполне завершенной картины (Martin et al., 2000; Heldt, Pichulla, 2011). Общее уравнение фотосинтеза традици-

онно записывается в русскоязычной учебной литературе в следующем виде:



Фактическое уравнение выглядит иначе вследствие того, что первый стабильный продукт фотосинтетической ассимиляции углекислого газа – триозофосфат (3-фосфоглицериновая кислота), что нашло отражение в изданных в последние годы зарубежных учебниках (Heldt, Pichulla, 2011; Pratt, Cornely, 2014). Его можно также переписать по-иному, если учитывать, что главным экспортным (из хлоропластов в цитозоль) метаболитом растений (накапливающих в хлоропластах крахмал в течение светового периода) является дисахарид мальтоза или основным транспортным веществом по растению служит дисахарид сахараза (Иванищев, 2017в).

Количественные представления о взаимосвязи фотосинтетической ассимиляции CO_2 и продуктивности растений привлекают внимание исследователей на протяжении почти ста лет со времени введения понятия чистой продуктивности фотосинтеза и разработки метода его определения (Иванищев, 2011). Известное уравнение Л. Иванова и его модификация А. Ничипоровичем отражали количественную связь между продуктивностью растения, его фотосинтетическими показателями и дыханием. Более глубокое моделирование с разработкой математической базы было осуществлено в работах группы авторов (Farquhar et al., 1980).

В начале нынешнего столетия в связи с 20-летием создания модели, описывающей процесс фотосинтетической ассимиляции CO_2 , отмечалось, что в модели количественные характеристики кинетики действия Рубиско соотносились с такими показателями, как стехиометрия восстановительного пентозофосфатного пути (цикла Кальвина) и цикла фотодыхания в связи с особенностями их энергетического обеспечения (электронным транспортом и синтезом АТФ) (Farquhar et al., 2001). Предложенная модель позволила объединить количественные показатели газообмена листьев (по которому часто определяют фотосинтез) с предсказанием математически ожидаемой величины фотосинтеза. Она дала более ясное понимание полученных результатов исследования и их дальнейшей экстраполяции. При этом также отмечалось, что за прошедшее время модель не претерпела существенных изменений, и до сих пор с ее помощью можно описать и объяснить ряд наблюдений (Lenz et al., 2010).

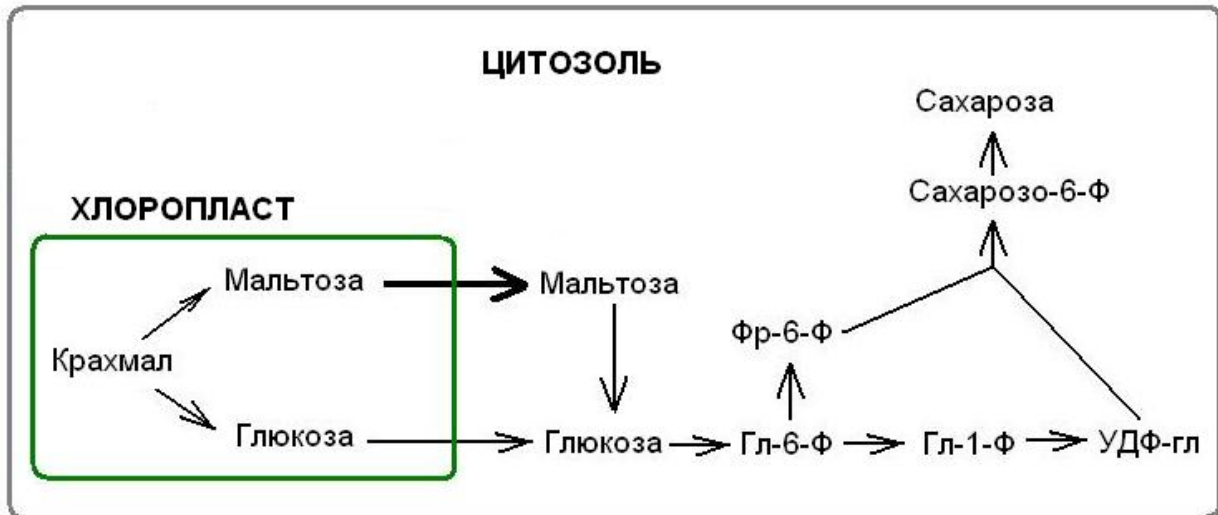


Рис. 5. Схема экспорта крахмала из хлоропластов ночью (Гл-6-Ф – глюкозо-6-фосфат, Гл-1-Ф – глюкозо-1-фосфат, Фр-6-Ф – фруктозо-6-фосфат, УДФ-гл – уридиндифосфатглюкоза, Сахарозо-6-Ф – сахарозо-6-фосфат).

Превращения продуктов фотосинтеза. Другой вопрос ассимиляции углекислого газа высшими растениями связан с проблемой экспорта продуктов фотосинтеза из хлоропластов. Известно, что в ходе дневного фотосинтеза в хлоропластах многих растений синтезируется крахмал. При этом, чем большее его количество накапливается в данном компартменте, тем слабее идет процесс фотосинтеза, то есть наблюдается явное торможение процесса ассимиляции CO_2 . Отчасти, это связано с тем, что нарушается баланс между скоростью поступления необходимого количества ортофосфата и экспортом продуктов фотосинтеза (в виде триозофосфатов, в основном, диоксиацетонфосфата) из хлоропластов с их дальнейшим использованием для синтеза сахарозы (Paul, Foyer, 2001). Иная причина снижения скорости фотосинтетической ассимиляции CO_2 может быть связана с уменьшением свободного пространства внутри хлоропластов и существенными изменениями в концентрациях и скоростях переноса необходимых для ферментативных реакций веществ и кофакторов.

Избыточное количество энергетических эквивалентов, образованных за счет энергии солнечного света, должно быть передано за пределы хлоропласта для обеспечения процессов роста и развития растений. Такой транспорт энергии в виде АТФ и НАД(Ф)Н происходит с помощью двух различных механизмов. Первый включает перенос триозофосфатов, главным из которых является диоксиацетонфосфат (фосфодиоксиацетон). В обмен на это внутрь хлоропласта путем антипорта вносится неорганический фосфат (освобожденный в реакциях

синтеза сахарозы), который компенсирует потерю фосфора в виде триозофосфата (Paul, Foyer, 2001). Этот челнок работает в световой период времени дня.

Другой челнок, позволяющий выносить энергию из хлоропластов, представлен системой дикарбоновых кислот, в которой ключевая роль отведена малату и аспартату (Edwards, Walker, 1983; Heldt, Pichulla, 2011). При этом наличие переносчиков дикарбоновых кислот в мембране хлоропластов можно объяснить не только этим процессом, но и многообразным использованием внутри хлоропластов оксалоацетата, возвращаемого в хлоропласт в свободном виде или в виде аспартата, переносящего азот для обеспечения внутрехлоропластных потребностей с образованием, опять же, оксалоацетата (Иванищев, 1997).

Исчезновение в течение ночи из хлоропластов крахмала, накопившегося за световой период, со времен классических экспериментов не вызывало особых дискуссий. Однако в настоящее время установлено, что разрушение крахмала – это сложный процесс, который происходит в несколько этапов при скоординированном действии сразу нескольких ферментов (Stettler et al., 2009). Биохимический механизм состоит в присоединении остатков фосфорной кислоты к отдельным остаткам глюкозы (у 3-го или 6-го атомов углерода) в составе амилозы или амилопектина. Это происходит при участии таких ферментов, как глюкан-вода-дикиназа и фосфоглюкан-вода-дикиназа. Далее при участии еще шести ферментов образующиеся в конечном итоге мальтоза и глюкоза с по-

мощью специфических переносчиков (MEХ1 – для мальтозы и рGlcT – для глюкозы) транспортируются в цитозоль, в то время как глюкозо-1-фосфат выносятся из хлоропластов по неясному механизму. Считается, что на долю мальтозы приходится примерно 85% экспортируемых углеводов (рис. 5).

Вынесенная из хлоропластов мальтоза расщепляется до глюкозы с преобразованиями в глюкозо-6-фосфат → фруктозо-6-фосфат и дальнейшим синтезом сахарозы – главного транспортного углевода растений (Иванищев, 2017в). Отчасти фосфорилированные моносахариды могут включаться в процессы гликолиза и окислительного пентозофосфатного пути для обеспечения потребностей в энергии или продуктах метаболизма для синтеза иных веществ. Использование сахарозы возможно благодаря активности двух ферментов – инвертазы (расщепляющей углевод при участии воды на глюкозу и фруктозу) или сахарозо-сингазы в соответствующей реакции. Присутствие различных изоформ обоих указанных ферментов в разных органах и тканях, а также наличие мембраносвязанных форм обеспечивает широкие возможности по использованию сахарозы, причем инвертаза, по-видимому, играет ведущую роль в процессе использования сахарозы *in vivo* (Иванищев, 2017в).

Таким образом, биохимические механизмы процесса фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода и превращений первичных продуктов фотосинтеза, несмотря на кажущуюся полноту исследований, постоянно дополняются новыми представлениями, которые позволяют нам понять более тесные взаимосвязи между такими характеристиками, как интенсивность фотосинтеза и продуктивность растений в самых разных аспектах.

Заключение

Фотосинтез – основной путь, благодаря которому образуется подавляющая масса органических соединений на нашей планете. В недавнем обзоре, посвященном достижениям в исследовании фотосинтеза, отмечалось, что продуктивность растений определяется несколькими составляющими, среди которых биофизические и биохимические механизмы играют ключевую роль на всех уровнях усвоения энергии солнечного света растениями (Flügge et al., 2016).

Изложенное выше приводит к выводу о том, что многочисленные и многообразные результаты исследования фотосинтетического процесса все еще недостаточны для того, чтобы

овладеть ими для использования в биотехнологических целях.

ЛИТЕРАТУРА

- Абдуллаев А., Горенкова Л.Г., Иванищев В.В. О распределении некоторых ферментов метаболизма С₄-кислот в хлоропластах ржи // Физиология растений. – 1989. – Т. 36. – С. 665-668.
- Абдуллаев А., Горенкова Л.Г., Абдурахманова З.Н., Иванищев В.В. Изучение ферментов синтеза С₄-кислот в хлоропластах С₃-растений // Тез. докл. 2 съезда Всес. общ-ва физиологов растений. – М., 1992. – С. 121.
- Гарифзянов А.Р., Иванищев В.В., Жуков Н.Н. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – Т. 2. – 21 с. – URL: www.science-education.ru/96-4600.
- Иванищев В.В. Выделение и некоторые свойства высокоочищенной оксалоацетатдекарбоксилазы из хлоропластов подсолнечника // Физиология растений. – 1992. – Т. 39. – С. 760-768.
- Иванищев В.В. Биологическое значение метаболизма оксалоацетата в хлоропластах С₃-растений // Физиология растений. – 1997. – Т. 44. – С. 462-470.
- Иванищев В.В. Продукционный процесс у растений и его регуляция. – Тула, 2011. – 114 с.
- Иванищев В.В. Проблемы биоэнергетики в свете новых идей в биологии // Изв. ТулГУ. Естественные науки. – 2017а. – Вып. 1. – С. 98-109.
- Иванищев В.В. Проблемы образования кислорода при фотосинтезе // Изв. ТулГУ. Естественные науки. – 2017б. – Т. 2. – С. 88-96.
- Иванищев В.В. Проблемы фотосинтетической ассимиляции неорганического углерода высшими растениями // Вестник ГОУ ДПО ТО «ИПК и ППРО ТО». Тульское образовательное пространство. – 2017в. – Т. 3. – С. 108-118.
- Иванищев В.В., Курганов Б.И. Ферменты метаболизма малата: характеристика, регуляция активности и биологическая роль // Биохимия. – 1992. – Т. 57. – С. 653-662.
- Иванищев В.В., Курганов Б.И. Выделение и кинетические свойства NAD-зависимой малатдегидрогеназы из хлоропластов листьев хлопчатника // Биохимия. – 1993а. – Т. 58. – С. 606-612.
- Иванищев В.В., Курганов Б.И. Исследование свойств оксалоацетатдекарбоксилазы из хлоропластов листьев подсолнечника // Биохимия. – 1993б. – Т. 58. – С. 250-254.
- Комиссаров Г.Г. Фотосинтез: физико-химический подход. – М., 2003. – 224 с.
- Комиссаров Г.Г. Новая концепция фотосинтеза: открывающиеся перспективы // Вестник междуна-

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ В БИОХИМИИ ФОТОСИНТЕЗА

- родной академии наук (Русская секция). – 2010. – № 2. – С. 52-57.
- Мокроносов А.Т., Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В.* Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты / Под ред. И.П. Ермакова. – М., 2006. – 448 с.
- Терентьев В.В., Хоробрых А.А., Козлов Ю.Н., Климов В.В.* Возможная роль Мп-бикарбонатных комплексов в эволюционном происхождении водоокисляющего комплекса фотосистемы 2. // Фотосинтез: открытые вопросы и что мы знаем сегодня / Ред. С.Н. Аллахвердиев, А.Б. Рубин, М.А. Шувалов. – Ижевск–Москва, 2013. – С. 205-240.
- Blankenship R.E.* Molecular Mechanisms of Photosynthesis. – USA, 2014. – 296 p.
- Cheeseman J.M.* Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions // J. Exp. Bot. – 2006. – Т. 57. – С. 2435-2444.
- Douce R., Bourguignon J., Neuburger M., Rebeiller F.* The glycine decarboxylase system. A fascinating complex // Trends Plant Sci. – 2001. – V. 6. – P. 167-176.
- Edwards G., Walker D.* C₃, C₄: Mechanisms and Cellular and Environmental Regulation of Photosynthesis. – Berkeley, 1983. – 590 p.
- Farquhar G.D., von Caemmerer S., Berry J.A.* A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species // Planta. 1980. – V. 149. – P. 78-90.
- Farquhar G.D., von Caemmerer S., Berry J.A.* Models of photosynthesis // Plant Physiol. – 2001. – V. 125. – P. 42-45.
- Feng X., Jia Y., Cai P., Fei J., Li J.* Coassembly of photosystem II and ATPase as artificial chloroplast for light-driven ATP synthesis // ACS Nano. – 2016. – V. 10. – P. 556-561. – Doi: 10.1021/acsnano.5b05579.
- Flügge U.I., Westhoff P., Leister D.* Recent advances in understanding photosynthesis [version 1; referees: 3 approved] // F1000Research. – 2016. – 5(F1000 Faculty Rev):2890. – Doi: 10.12688/f1000research.9744.1.
- Gontero B., Córdenas M.L., Ricard J.* A functional five enzyme complex of chloroplasts involved in the Calvin cycle // Eur. J. Biochem. – 1988. – V. 173. – P. 437-443.
- Heldt H.W., Pichulla B.* Plant Biochemistry. – USA, 2011. – 622 p.
- Hulsebosch R.J., Allakhverdiev S.I., Klimov V.V., Picorel R., Hoff A.J.* Effect of bicarbonate on the S2 multiline EPR signal of the oxygen-evolving complex in photosystem II membrane fragments // FEBS Lett. – 1998. – V. 424. – P. 146-148.
- Jain S., Murugavel R., Hansen L.D.* ATP synthase and the torsional mechanism: Resolving a 50-year-old mystery // Curr. Sci. – 2004. – V. 87. – P. 16-19.
- Jordan D.B., Ogren W.L.* Species variation in kinetic properties of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase // Arch. Biochem. Biophys. – 1983. – V. 227. – P. 425-430.
- Klimov V.V., Hulsebosch R. J., Allakhverdiev S. I., Wincencjusz H., van Gorkom H.J., Hoff A. J.* Bicarbonate may be required for ligation of manganese in the oxygenevolving complex of photosystem II // Biochemistry. – 1997. – V. 36. – P. 16277-16281.
- Ladygin V.G.* Structural and functional organization of the pigment-protein complexes of the photosystems in mutant cells of green algae and higher plants // Photosynthesis. New Approaches to the Molecular, Cellular, and Organismal Levels / Ed.S.I. Allakhverdiev. – USA, 2016. – P. 179-232.
- Lenz K.E., Host G.E., Roskoski K., Noormets A., Sober A., Karnosky D.E.* Analysis of a Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf-level photosynthetic rate model for *Populus tremuloides* in the context of modeling and measurement limitations // Environ.Pollut. – 2010. – V. 158. – P. 1015-1022.
- Martin W., Scheibe R., Schnarrenberger C.* The Calvin cycle and its regulation, in Advances in Photosynthesis // Photosynthesis: Physiology and Metabolism / Eds. R.C. Leegood, T.D. Sharkey, S. von Caemmerer. – The Netherlands, 2000. – V. 9. – P. 9-51.
- Nath S.* The torsional mechanism of energy transduction and ATP synthesis as a breakthrough in our understanding of the mechanistic, kinetic and thermodynamic details // Thermochim. Acta. – 2004. – V. 422. – P. 5-17.
- Nath S.* The new unified theory of ATP synthesis/hydrolysis and muscle contraction, its manifold fundamental consequences and mechanistic implications and its applications in health and disease // Int. J. Mol. Sci. – 2008. – V. 9. – P. 1784-1840.
- Nath S., Villadsen J.* Oxidative phosphorylation revisited // Biotechnol. Bioengineer. – 2015. – V. 112. – P. 429-437.
- Nilsson H., Cournac L., Rappaport F., Messinger J., Lavergne J.* Estimation of the driving force for dioxygen formation in photosynthesis // Biochim. Biophys. Acta. – 2016. – V. 1857. – P. 23-33.
- Paul M.J., Foyer C.H.* Sink regulation of photosynthesis // J. Exp. Bot. – 2001. – V. 52. – P. 1383-1400.
- Pratt C.W., Cornely K.* Essential Biochemistry. – USA, 2014. – 856 p.
- Roy H., Andrews T.J.* Rubisco: Assembly and mechanism // Advances in photosynthesis Photosynthesis: Physiology and metabolism / Eds. R.C. Leegood, T.D. Sharkey, S. von Caemmerer. – The Netherlands, 2000. – V. 9. – P. 53-83.
- Santabarbara S., Jennings R., Zucchelli G.* Effects of quasi-equilibrium states on the kinetics of electron

- transfer and radical pair stabilisation in photosystem I // *The Biophysics of Photosynthesis* / Eds. J. Golbeck, A.van der Est. – New York, 2014. – P. 241-274.
- Savikhin S., Jankowiak R.* Mechanism of primary charge separation in photosynthetic reaction centers // *The Biophysics of Photosynthesis* / Eds. J. Golbeck, A.van der Est. – New York, 2014. – P. 193-240.
- Schnarrenberger C., Flechner A., Martin W.* Enzymatic evidence for a complete oxidative pentose phosphate pathway in chloroplasts and an incomplete pathway in the cytosol of spinach leaves // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 108. – P. 609-614.
- Schulze S., Westhoff P., Gowik U.* Glycine decarboxylase in C₃, C₄ and C₃-C₄ intermediate species // *Current Opin. iPlant Biol.* – 2016. – V. 31. – P. 29-35.
- Shi N., Li X., Fan T., Zhou H., Zhang D., Zhu H.* Artificial chloroplast: Au/chloroplast-morph-TiO₂ with fast electron transfer and enhanced photocatalytic activity // *Intern. J. Hydrogen Energy.* – 2014. – V. 39. – P. 5617-5624.
- Stemler A., Govindjee.* Bicarbonate ion as a critical factor in photosynthetic oxygen evolution // *Plant Physiol.* – 1973. – V. 52. – P. 119-123.
- Stettler M., Eicke S., Mettler T., Messerli G., Hurltensteiner S., Zeeman S.C.* Blocking the metabolism of starch breakdown products in Arabidopsis leaves triggers chloroplast degradation // *Mol. Plant.* – 2009. – V. 2. – P. 1233-1246. – Doi: 10.1093/mp/ssp093.
- Tolbert N.E.* The C₂ oxidative photosynthetic carbon cycle // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1997. – V. 48. – P. 1-25.
- Umena Y., Kawakami K., Shen J.R., Kamiya N.* Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å // *Nature.* – 2011. – V. 473. – P. 55-60.
- Vinyard D.J., Brudvig G.W.* Progress toward a molecular mechanism of water oxidation in photosystem II // *Annu. Rev. Phys. Chem.* – 2017. – V. 68. – P. 101-116.
- Voet D., Voet J.G.* *Biochemistry.* – USA, 2011. – P. 846.
- Wydrzynski T., Govindjee.* A new site of bicarbonate effect in photosystem II of photosynthesis: evidence from chlorophyll fluorescence transients in spinach chloroplasts // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1975. – V. 387. – P. 403-408.
- Yagi M., Yamazaki H., Aoki T., Narita K.* Synthetic models of photosynthetic water oxidizing complex (OEC): O₂ evolution from water by heterogeneous manganese-oxo complexes // *Photosynthesis: Theory and applications in energy, biotechnology and nanotechnology* / Eds. T.B. Buchner, N.H. Ewingen. – New York, 2009. – P. 179-192.
- Young K.J., Brennan B.J., Tagore R., Brudvig G.W.* Photosynthetic water oxidation: insights from manganese model chemistry // *Acc. Chem. Res.* – 2015. – V. 48. – P. 567-574.
- Zeinalov Y.* Mechanisms of photosynthetic oxygen evolution and fundamental hypotheses of photosynthesis // *Handbook of photosynthesis* / Ed. M. Pessarakli. – Boca Raton, 2005. – P. 21-37.

*Поступила в редакцию
02.11.2017 г.*

PROBLEMATIC QUESTIONS IN BIOCHEMISTRY OF PHOTOSYNTHESIS

V. V. Ivanishchev

*Lev Tolstoy Tula State Pedagogical University
(Tula, Russia)
E-mail: avdey_VV@mail.ru*

The article is devoted to the analysis of modern information in the field of biochemical mechanisms of photosynthesis. It is shown that our knowledge of these processes is still incomplete or limited. This concerns the process of oxygen release during photosynthesis, CO₂ assimilation, manifestations of C₂-photosynthesis. It is noted that the modern interpretation of the chemiosmotic theory is still not completed. Herewith a single (admittedly) mechanism of ATP formation is due to different modes of operation of electron transport chain of photosynthesis, referred as non-cyclic, cyclic and pseudocyclic electron transport. It is concluded that in general, numerous and diverse results of study of photosynthetic process are still insufficient to master them for use in biotechnological purposes.

Key words: *photosynthesis, oxygen release, chemiosmotic theory, CO₂ assimilation, photosynthesis products*

ПРОБЛЕМНІ ПИТАННЯ В БІОХІМІЇ ФОТОСИНТЕЗУ

В. В. Іванищев

*Федеральна державна бюджетна освітня установа вищої освіти
«Тульський державний педагогічний університет ім. Л.М. Толстого»
(Тула, Росія)
E-mail: avdey_VV@mail.ru*

Стаття присвячена аналізу сучасних відомостей у галузі біохімічних механізмів фотосинтезу. Показано, що наші знання про ці процеси все ще неповні або обмежені. Це стосується процесу виділення кисню при фотосинтезі, асиміляції CO₂, проявів C₂-фотосинтезу. Відзначено, що сучасне тлумачення хеміосмотичної теорії завершене не повністю. При цьому єдиний (за загальним визнанням) механізм утворення АТФ зумовлений різними режимами роботи електрон-транспортного ланцюга фотосинтезу, що позначаються як нециклічний, циклічний і псевдоциклічний транспорт електронів. Зроблено висновок, що в цілому численні і різноманітні результати дослідження фотосинтетичного процесу все ще недостатні для того, щоб оволодіти ними для використання в біотехнологічних цілях.

Ключові слова: *фотосинтез, виділення кисню, хеміосмотична теорія, асиміляція CO₂, продукти фотосинтезу*