

ческих и водных), так и в комплексе билирубина с альбумином. На основании близости спектральных характеристик указанных фотопродуктов сделан вывод, что и при прямом возбуждении билирубина синглетный кислород является одним из интермедиатов, участвующим в процессе фотодеструкции молекул билирубина.

Таким образом, метод прямого селективного возбуждения молекулярного кислорода в ИК-полосу его поглощения является информативным способом изучения особенностей фотохимических реакций в молекулах, протекающих с участием указанной реакционной формы кислорода.

## **ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНОВ ЧЕРЕЗ ФС1 ПРИ ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ. РОЛЬ РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ ФЕРРЕДОКСИНА**

**Пшибытко Н.Л.**

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
Минск, Беларусь, pshybytko@ibp.org.by*

Световая стадия фотосинтеза характеризуется множественностью путей электронного транспорта. Классический нециклический электронный транспорт обеспечивается последовательным функционированием фотосистемы 2 (ФС2) и ФС1. К альтернативным электронным потокам можно отнести циклический электронный транспорт вокруг ФС1, включающий отток электронов от ферредоксина или НАДФН/НАДН к пластохиноновому пулу и дальнейший поток электронов через цитохром  $b_6/f$  комплекс и пластоцианин к P700. Ферредоксин-зависимый светозависимый транспорт электронов катализируется Фд:НАДФ-оксидоредуктазой, Фд:пластохинон-оксидоредуктазой и регулируется мембранными белками тилакоидов PGR5 и PGRL1. Кроме того, Фд:НАДФ-оксидоредуктаза может поставлять электроны для восстановления пластохинонов в темноте через НАД(Ф)Н-дегидрогеназу. Поскольку альтернативные пути транспорта электронов, катализируемые ФС1, могут играть существенную роль в адаптации фотосинтетического аппарата к стрессовым условиям, цель нашей работы состояла в определении вклада различных электронных потоков в теплоиндуцированную модификацию функционирования фотосинтетического аппарата и выявлении регулирующих данный процесс механизмов.

Анализ кривых фотоокисления P700 на дальнем красном свете выявил гетерогенность ФС1. Существует два типа комплексов ФС1:  $\alpha$  и  $\beta$ , которые обнаружены на концах гран и в ламеллах стромы, соответственно, и различаются по размеру антенны и медируемым потокам электронов. В ходе онтогенеза первого листа ячменя доля P700, окисляемых по линейному пути передачи электрона, снижалась, и увеличивался вклад альтернативных потоков электрона. В результате теплового (40°C, 3ч) воздействия наблюдалось снижение уровня P700<sup>+</sup>, амплитуда быстрой фазы фотоокисления P700 возрастала. Кроме того, было выявлено значительное повышение скорости фотоокисления P700 при освещении листьев ячменя дальним красным светом. По-видимому, тепловое воздействие приводило к снижению интенсивности линейного потока электронов в результате сокращения донорного пула ФС1, и активизации альтернативных потоков электронов через ФС1. Данная реакция, может быть направлена на оптимизацию работы фотосинтетического аппарата через поддержание необходимого количества АТФ и НАДФН и их отношения.

Анализ темновой релаксации A<sub>830</sub> в миллисекундном диапазоне показал, что в ходе онтогенеза первого листа ячменя увеличивалась доля альтернативных путей транспорта электронов через ФС1. Тепловое воздействие достоверно снижало процентное отношение реакционных центров ФС1, в которых восстановление P700<sup>+</sup> осуществлялось за счет электронов, переносимых по линейному пути от ФС2. В то же время наблюдалась активизация альтернативного потока электронов от стромальных восстановителей с участием НАДФН-дегидрогеназы и подавление ферредоксин-зависимого циклического пути восстановления P<sub>700</sub><sup>+</sup>.

Интенсивность НАДФН-зависимого альтернативного потока зависит от активности и содержания НАДФН-редуктазы в хлоропластах и, конечно же, от концентрации НАДФН в строме. Поскольку в работе использовалось длительное стрессовое воздействие (3 ч), а быстрая регуляция на уровне редокс-статуса НАДФН/НАДФ<sup>+</sup> осуществляется гораздо быстрее, нами было рассмотрена транскрипция генов НАДФН-редуктазы. Пластидный геном высших растений содержит 11 генов *ndhA-ndhK*. Мы рассматривали транскрипцию двух генов, кодирующих А и F субъединицы данного фермента.

Обнаружено, что в результате 3 ч прогревания растений при 40°C существенно активизировалась транскрипция обоих изученных генов. В то же время, через 1,5 ч нагревания данной активации еще не наблюдалось. Из приведенных данных следует, что активизация транскрипции генов НАДФН-дегидрогеназы происходит не в результате непосредственного воздействия на данный фермент и процессы,

связанные с его функцией, а есть следствие регуляторных механизмов, когда активизация электронных потоков, медируемых данным ферментом, есть адаптация хлоропластов к сложившимся условиям существования. В нашем случае, активизация потока электронов от НАДФН к пластохиноновому пулу, по-видимому, поддерживала необходимый редокс-статус пластохинонового пула и транстилакоидный протонный градиент. Снижение интенсивности ферредоксин-зависимого циклического пути транспорта электронов при тепловом воздействии, по-видимому, было обусловлено инактивацией ферредоксин:НАДФ<sup>+</sup>-оксидоредуктазы. С другой стороны, возможно, изменялось непосредственно редокс-состояние ферредоксина, что и замедляло поток электронов от P<sub>700</sub><sup>+</sup> как по линейному, так и по циклическому пути.

В этой связи было изучено изменение редокс-состояния P<sub>700</sub> в присутствии искусственного окислителя ферредоксина – дихлорфенолиндофенола (ДФИФ). Инфильтрация ДФИФ усиливала ферредоксин-зависимый поток электронов и повышала его до контрольного уровня. Повышение уровня окисленности ферредоксина восстанавливало термоиндуцированное подавление электронного транспорта на акцепторной стороне ФС1, главным образом, за счет восстановления Фд-зависимого циклического электронного транспорта.

Для выяснения влияния уровня окисленности ферредоксина на функционирование всей электрон-транспортной цепи хлоропластов было оценено влияние инфильтрации ДФИФ на изменение уровня восстановленности пластохинонового пула, потоки электронов в ФС2 при тепловом шоке. Предварительная обработка листьев ДФИФ повышала уровень восстановленности фотоактивных пластохиноновых молекул. Т.е., при активизации циклического ферредоксин-зависимого электронного транспорта мы не наблюдали термоиндуцированного снижения уровня восстановленности фотоактивных пластохиноновых молекул, что свидетельствует о том, что подавление именно этого транспорта при тепловом воздействии было причиной повышения уровня окисленности данных молекул.

Анализ темновой кинетики релаксации флуоресценции Хл *a* показал, что добавление ДФИФ практически не влияло на фазы реокисления Q<sub>A</sub><sup>-</sup> в контрольных проростках ячменя. В то же время присутствие ДФИФ при термоинактивации снимало эффект теплового воздействия на функционирование ФС2. Т.о., присутствие ДФИФ, снижающего уровень восстановленности ферредоксина, при термоинактивации приводило к повышению уровня окисленности пластохинонов, а это в свою очередь препятствовало инактивации ФС2 на донорной стороне. По-видимому,

избыточный поток электронов, протекающий через ФС1, при тепловом шоке приводит к перевосстановлению пула ферредоксина. Это может приводить к инактивации ферредоксин:НАДФН-оксидазы. Поэтому можно предположить, что одной из основных причин термоиндуцированного нарушения электронного потока в хлоропластах является осложнение оттока электронов на участке ФС1, возможно от P700 по ферредоксин-зависимому пути.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (Б10Р-171, Б12Р-180).

## **ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КАРОТИНОИДОВ В ОРГАНИЗАЦИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИИ НАДМОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА, ВКЛЮЧАЮЩЕГО ПРОТОХЛОРОФИЛЛИД-ОКСИДОРЕДУКТАЗУ И ХЛОРОФИЛЛ-СИНТЕТАЗУ**

**Рассадина В.В., Вершиловская И.В., Корень И.А.**

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
Минск, Беларусь, [valentina\\_rassadina@rambler.ru](mailto:valentina_rassadina@rambler.ru)*

Исследование кинетики этерификации эндогенного хлорофиллида (Хд) в постэтиолированных листьях ячменя позволило предположить существование в мембранах этиопластов надмолекулярного комплекса, осуществляющего заключительные стадии биосинтеза хлорофилла (Хл) – фотовосстановление Пд и этерификацию возникающего Хд, состоящего из 8 молекул НАДФН-протохлорофиллид (Пд)-оксидоредуктазы (ПОР), связанных с Пд и НАДФН, и 1 молекулы Хл-синтетазы, предзагруженной геранилгеранилдифосфатом [1 – 3]. В рамках обсуждаемого комплекса после полного фотовосстановления Пд650 одна из восьми молекул возникшего Хд (около 12% от общего содержания Хд) за счет пространственной близости с Хл синтетазой, предзагруженной геранилгераниолом, превращается в Хл в течение секунд (быстрая фаза), тогда как в этерификации оставшегося пигмента отмечается лаг-фаза (1-3 мин), обусловленная временем, необходимым на перезагрузку Хл синтетазы геранилгераниолом. После лаг-фазы оставшаяся часть Хд этерифицируется в течение 20 – 40 мин (основная фаза).

Настоящая работа посвящена изучению роли каротиноидов в организации и функционировании постулируемого надмолекулярного комплекса, а также в сопряжении активности начальных – биосинтез