

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*

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

5-аминолевулиновой кислоты (АЛК), и заключительных стадий хлорофиллообразования. Для изменения содержания каротиноидов растения ячменя (*Hordeum vulgare* L. сорт Гонар) выращивали в темноте на вермикулите, увлажненном растворами норфлуразона (100 мкМ) – специфического ингибитора десатурации фитоена, или амитрола (125 мкМ) – специфического ингибитора циклизации ликопена. Контрольные растения выращивали на водопроводной воде. Для фотопревращения Пд отрезки этиолированных листьев освещали электронной фотовспышкой (120 Дж, 2 мс). Содержание пигментов определяли по спектрам поглощения экстрактов листьев по [3], содержание АЛК в (пост)этиолированных листьях – по [4].

Показано, что выращенные в темноте в присутствии норфлуразона растения содержат около 15% каротиноидов от их уровня в контроле, а в присутствии амитрола – 75 % и 15 % (при температуре выращивания 25°C и 18°C, соответственно). Изменение содержания и состава каротиноидов в этиолированных проростках сопровождается увеличением уровня темного предшественника Хл – Пд, примерно на 14% в случае использования норфлуразона и более чем на 200% в присутствии амитрола. Прирост Пд в обоих вариантах осуществляется за счет фотонеактивного пигмента. Обработка норфлуразоном практически не влияет на уровень Пд650, тогда как амитрол вызывает снижение уровня фотоактивного пигмента на 50%. Освещение листьев фотовспышкой приводит к полному фотовосстановлению Пд650 во всех типах растений.

Скорость ресинтеза Пд и предельный уровень накопления этого пигмента в дефицитных по каротиноидам листьях выше, чем в контроле. Скорость и уровень накопления АЛК в (пост)этиолированных обработанных гербицидами растениях также в 2-4 раза выше, чем в контроле.

Кинетика этерификации Хд в обработанных норфлуразоном листьях характеризуется исчезновением быстрой фазы и лаг-фазы реакции, указывающей на то, что (в отличие от контроля) сразу после появления Хд значительно меньшее количество его молекул может участвовать в реакции этерификации. Поскольку в обесцвеченных листьях скорость этерификации Хд в основной фазе реакции сохраняется на уровне контроля, можно предположить, что изменение кинетической кривой этерификации Хд в первые секунды после освещения не связано с доступностью геранилгеранилпирофосфата к Хл синтетазе, а может быть вызвано изменением взаиморасположения в пластидных мембранах, обогащенных фитоеном, молекул ПОР, связывающих Пд650, и молекул Хл синтетазы.

В обработанных амитролом растениях быстрая фаза реакции остается четко выраженной, количество этерифицированного в ней пигмента

составляет около 20% от общего содержания Хд, лаг-фаза несколько увеличена, а скорость этерификации в основной фазе реакции замедлена по сравнению с контролем. Следовательно, появление в присутствии амитрола в мембранах этиопластов ликопена, скорее всего, не препятствует формированию надмолекулярного комплекса, постулируемого для нативных этиолированных листьев. Увеличение доли реагирующего в быстрой фазе Хд, в этом случае может быть связано с уменьшением числа молекул ПОР в расчете на молекулу Хл синтетазы. Изменение соотношения между ПОР и Хл синтетазой в сторону уменьшения количества молекул ПОР было продемонстрировано нами ранее в зеленеющих и зеленых листьях.

Приведенные данные позволяют сделать вывод, что образование и функционирование надмолекулярного комплекса мембраносвязанных ферментов – ПОР и Хл синтетазы, реализуется с участием каротиноидов. Обсуждаемые данные указывают на то, что присутствие в пластидах лейкосоединения – фитоена (обработка норфлуразоном), не достаточно для организации «правильно» функционирующего комплекса, тогда как появление в мембранах более позднего предшественника каротиноидов – ликопена (обработка амитролом), возможно, является минимально необходимым условием, позволяющим ферментам заключительных стадий хлорофиллообразования «собраться» в комплекс, обеспечивающий быстрый (в течение секунд) доступ молекул Хд к Хл синтетазе и, соответственно, появление быстрой фазы реакции этерификации.

Данные об активации темновых стадий биосинтеза Хл – образовании АЛК и ресинтезе Пд, позволяют сделать вывод, что модификация каротиноидного состава внутрипластидных мембран, вызывающая изменения в структурно-функциональной организации заключительных стадий хлорофиллообразования, приводит также и к нарушению сопряжения начальных и конечных этапов процесса биосинтеза протохлорофиллового пигмента, что выражается в синтезе избыточных количеств АЛК и, соответственно, Пд.

Таким образом, впервые экспериментально показано, что формирование надмолекулярного комплекса с участием ферментов ПОР и Хл синтетазы *in vivo* осуществляется с участием каротиноидов и является необходимым условием, позволяющим реализовать ретроингибирующее действие темного продукта цепи – Пд, на активность локализованного в строме пластид водорастворимого комплекса, катализирующего начальный этап биосинтеза Хл – образование АЛК.

## Литература

1. Domanskii V., Rüdiger W. On the nature of the two pathways in chlorophyll formation from protochlorophyllide // *Photosynthesis Research*. – 2001. – Vol. 68. – P.131-139.
2. Domanskii V., Rassadina V., Gus-Mayer S, Wanner G, Schoch S., Rüdiger W. Characterization of two phases of chlorophyll formation during greening of etiolated barley leaves // *Planta*. – 2003. – V. 216. – P.475-483.
3. Rassadina V., Domanskii V., Averina N., Schoch S., Rüdiger W. Correlation between chlorophyllide esterification, Shibata shift and regeneration of protochlorophyllide650 in flash-irradiated etiolated barley leaves // *Physiol. Plantarum*. – 2004. – V. 121. – P.556-567.
4. Mauzerall, D., Granick S. The occurrence and determination of 5-aminolevulinic acid and porphobilinogen in Urine // *J. Biol. Chem.* – 1956. – Vol. 219. – P. 435–446.

## ВЛИЯНИЕ СВЕТА РАЗНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА СОДЕРЖАНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ У СПИРУЛИНЫ

Самович Т.В.

*ГНУ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,  
Минск, Беларусь*

Изучено влияние света разного спектрального состава на содержание антиоксидантов у цианобактерии спирулины (*Spirulina platensis*).

Для изучения влияния источников желтого и красного света на количество антиоксидантов в ее биомассе использованы газоразрядные ртутные лампы низкого давления фирмы Philips TL-D36W/60 красного (620-680 нм) и TL-D36W/62 желтого (575-585 нм) света при их использовании для освещения опытных проб, комбинируя с лампами дневного света. Контрольные пробы освещали 4 лампами дневного света нового поколения этой же фирмы TL-D36W/54-765 (4 500 лк). Варианты освещения: 1) 75% белого + 25% желтого света, 2) 50% желтого + 50% белого света, 3) 50% белого + 25 желтого + 25% красного света, 4) 75% желтого + 25% красного света, 5) 50% белого + 50% красного света.

Содержание каротиноидов в биомассе цианобактерии заметно не изменялось в вариантах освещения 1 и 2, и составляло 98% по отношению к контролю. Только в пробах варианта № 5 оно увеличивалось на