



БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА

teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

ОБЩАЯ ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

КОНСТАНТИНОВА
СВЕТЛАНА ВИКТОРОВНА

БИОФАК МГУ

КОНСПЕКТ ПОДГОТОВЛЕН
СТУДЕНТАМИ, НЕ ПРОХОДИЛ
ПРОФ. РЕДАКТУРУ И МОЖЕТ
СОДЕРЖАТЬ ОШИБКИ.
СЛЕДИТЕ ЗА ОБНОВЛЕНИЯМИ
НА [VK.COM/TEACHINMSU](https://vk.com/teachinmsu).

ЕСЛИ ВЫ ОБНАРУЖИЛИ
ОШИБКИ ИЛИ ОПЕЧАТКИ,
ТО СООБЩИТЕ ОБ ЭТОМ,
НАПИСАВ СООБЩЕСТВУ
[VK.COM/TEACHINMSU](https://vk.com/teachinmsu).



БЛАГОДАРИМ ЗА ПОДГОТОВКУ КОНСПЕКТА
СТУДЕНТА БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МГУ
ЯНКОВСКОГО ДАВИДА АЛЕКСАНДРОВИЧА



Оглавление

Лекция 1. Физиология растений. Общие черты растительной и животной клеток.....	5
Основные особенности растительной физиологии.....	5
Роль физиологии растений	6
Общие органеллы эукариотических клеток.....	6
Отличия растительной клетки от животной	7
Основные компоненты растительной клетки	7
Лекция 2. Различия растительной и животной клеток	11
Клеточная стенка (КС)	12
Плазмодесмы.....	15
Вакуолярная система.....	16
Пластиды	16
Деление растительной клетки	19
Лекция 3. Биохимия. Начальные этапы дыхания	20
Введение в биохимию	20
Дыхание растений.....	23
Гликолиз.....	25
Брожение	27
Пентозофосфатный шунт (ПФС).....	28
Лекция 4. Следующие этапы дыхания	29
Цикл Кребса	29
Конверсия жиров в углеводы.....	32
Лекция 5. Конечный этап дыхания – ЭТЦ.....	35
Комплекс I. NADH-дегидрогеназный комплекс	36
Дополнительные NAD(P)H-дегидрогеназы	36
Комплекс II. Сукцинат-дегидрогеназный комплекс	37
Комплекс III. Цитохром- <i>bc₁</i> -комплекс	37
Комплекс IV. Цитохром-оксидазный комплекс	38
АТФ-синтазный комплекс	39
Альтернативная оксидаза.....	40
Дыхательные суперкомплексы	41
Лекция 6. Пигменты фотосинтеза.....	42
Хлорофиллы.....	42

Каротиноиды.....	45
Первичные процессы фотосинтеза	48
Лекция 7. Электрон-транспортная цепь фотосинтеза.....	49
Простейшие схемы фотосинтеза бактерий	49
Строение электрон-транспортной цепи хлоропластов	50
Лекция 8. Регуляция работы ЭТЦ фотосинтеза. Темновая стадия фотосинтеза.....	55
Альтернативные виды электронного транспорта	55
Изменение структуры мобильной антенны.....	56
Виолаксантиновый цикл	58
Темновая стадия фотосинтеза	59
Лекция 9. Метаболические пути, связанные с темновой стадией фотосинтеза.....	63
Конечные продукты фиксации углекислого газа	63
Фотодыхание	63
C4-фотосинтез.....	65
CAM-фотосинтез	70
Лекция 10. Транспорт веществ в клетке.....	72
Транспорт ионов в клеточной стенке.....	72
Проницаемость мембран клеток	72
Первично активный транспорт.....	75
Вторично активный транспорт.....	79
Пассивный транспорт: ионные каналы	80
Классификация элементов минерального питания	81
Лекция 11. Азотный, серный и фосфорный обмен растений.....	82
Формы азота, доступные растениям	82
Восстановление нитратов	83
Симбиотическая фиксация азота.....	86
Транспорт соединений азота	88
Метаболизм соединений серы.....	90
Глутатион.....	92
Фосфорное питание.....	93
Лекция 12. Железо, калий, кальций. Водный обмен.....	95
Железо.....	95
Калий	96

Кальций.....	96
Функции воды в растениях.....	98
Механизмы движения воды.....	99
Поглощение воды корнем.....	102
Транспирация и гуттация.....	102
Лекция 13. Гормоны растений. Часть 1.....	105
Свойства гормонов растений.....	105
Ауксины.....	105
Цитокинины.....	111
Гиббереллины.....	114
Лекция 14. Гормоны растений. Часть 2.....	117
Абсцизовая кислота.....	117
Этилен.....	120
Брассиностероиды.....	122
Стриголактоны.....	124
Жасмонаты.....	126
Салицилаты.....	127
Лекция 15. Рецепция света.....	128
Фитохромы.....	128
Криптохромы.....	131
Фототропины.....	133
Рецепторы Zeitlupe.....	135
Рецептор UVR8.....	136
Фотопериодизм.....	137

Лекция 1. Физиология растений. Общие черты растительной и животной клеток

У **физиологии** есть несколько **определений**. В большом энциклопедическом словаре сказано, что физиология – это наука о жизнедеятельности целого организма и его отдельных частей: клеток, органов, функциональных систем. Определение из учебника «Физиология растений» Полевого В. В. гласит, что физиология – это наука о функциональной активности организмов. В китайском языке слово «физиология» описывается тремя иероглифами, обозначающими «жизнь», «логика» и «познание», то есть физиология – это познание логики жизни.

Рассмотрим, какое **место** занимает **физиология** в иерархии естественно-научных исследований. На вопрос «что происходит?» отвечает классическая биология. Если мы говорим о растениях, это классическая ботаника, если о животных – классическая зоология, если о том, какие вещества производят растения внутри себя, то фитохимия. На вопросы «как происходит?», например, как это сформировалось эволюционно, отвечают теория эволюции, на вопрос, почему организм именно такой, отвечает генетика, а на вопрос, как они делают разные вещества, отвечает биохимия. И, наконец, на вопрос, «зачем это всё?», объединяющий «что?» и «как?», отвечает физиология.

Основные особенности растительной физиологии

Растения – автотрофы, причём фотоавтотрофы, то есть организмы, которые синтезируют из неорганических соединений органические вещества с использованием энергии света. Основные **особенности растительной физиологии** – автотрофность и прикрепленный образ жизни. Из них во многом вытекают остальные свойства жизнедеятельности растений.

В курсе будут рассматриваться исключительно наземные растения (Embryophyta), подавляющее большинство из которых не способны к активному перемещению. Так, например, семечко прорастает в условиях, которые заданы раз и навсегда; растение не способно уйти в поисках лучшей почвы, воды или света, от которых зависит целиком и полностью. Растение может прорасти под пологом леса или в чистом поле, причём в обоих случаях над ним может расти большой сосед, листья которого ограничат доступ проростка к свету. Если к растению приблизится враг, оно не сможет бежать, поэтому у него существует множество приспособлений, чтобы отпугнуть или отравить неприятеля, а кроме того, оповестить окружающее растительное сообщество об опасности.

Рассмотрим, какие физиологические особенности следуют из прикрепленного образа жизни. Во-первых, это наличие **фотосинтеза**. Во-вторых, **особенности минерального питания**, так, например, количество соединений азота и фосфора в почве будет, как правило, лимитирующим фактором. Если почва бедная, и этих соединений мало, растение будет взаимодействовать с грибами и микроорганизмами, многократно увеличивая за счет мицелия площадь поверхности соприкосновения с почвой.

С этими же особенностями связана **метамерность строения** - растение словно собрано из кубиков, где кубики представлены листом, почкой в пазухе листа и междоузлием. В большинстве случаев **рост растения продолжается всю жизнь**, и кубики постоянно надстраиваются.

С автотрофностью и прикрепленным существованием связаны **особенности эмбрионального развития** и расселения – **расселение зачатками** (спора, семя, различные элементы вегетативного размножения). Семечко содержит растение в миниатюре (за некоторыми исключениями), снабжённое запасом питательных веществ, в хорошей упаковке, которая позволяет ему, с одной стороны, сохраниться в неблагоприятных условиях, а с другой прорасти в благоприятных.

С этим же связана **стратегия устойчивости**, причём на разных уровнях, начиная от биохимии, и заканчивая морфологией. На морфологическом уровне это выражается в виде появления колючек, толстого эпидермиса, суккулентного строения листа и многого другого. А на биохимическом уровне – в виде многократного дублирования биохимических путей, ферментов, появления множества обходных биохимических путей – шунтов, вторичного метаболизма. Если *первичный метаболизм* – это всё, что жизненно необходимо для жизни каждой растительной клетки, то *вторичный* же – экологическая надстройка к первичному для взаимодействия с окружающей средой (хотя со временем понимание роли вторичного метаболизма всё более расширяется). Зачастую эти метаболиты являются ядами или отпугивающими вещества, хотя порой, наоборот, они используются для привлечения насекомых-опылителей.

Роль физиологии растений

Так называемая **“космическая роль растений”** заключается в возможности акцептировать энергию солнечного света и превращать ее в энергию химических связей, такую, которую могли бы использовать гетеротрофные живые организмы.

Кроме того, растения постоянно связывают углекислый газ в ходе фотосинтеза. Это один из парниковых газов, и его концентрация в атмосфере постоянно растёт, что, на самом деле, положительно отражается на интенсивности набора растительной массы, потому что главный фермент фотосинтеза – РубисКО – эволюционно сформировался в те времена, когда кислорода в атмосфере было мало, а углекислого газа очень много. Для этого фермента современная концентрация CO_2 достаточно низка.

Физиология растений – это научная основа **современного растениеводства**, сельского хозяйства. В последнее время развиваются такие разделы физиологии растений как растительная биотехнология и культура растительных клеток.

Общие органеллы эукариотических клеток

Рассмотрим **органеллы, общие для эукариотических клеток**. Это **ядро** – большая генетическая библиотека, которая содержит основную часть генома (свои геномы содержатся также в митохондриях и хлоропластах); **эндоплазматический ретикулум** – сеть разветвлённых каналов, место синтеза липидов, а также большинства

белков, которые предназначены для секреции или других органелл; **аппарат Гольджи** – система цистерн и везикул, отвечающая за сортировку и модификацию белков и липидов, получаемых от эндоплазматического ретикулума в пузырьках; **митохондрии** – энергетические станции клетки, синтезирующие также ряд важных веществ; **пероксисомы** – одномембранные органеллы, место окислительных процессов, часто связанных с появлением активных форм кислорода; **лизосомы (литические вакуоли)**, содержащие гидролитические ферменты; **цитоскелет** – набор белковых микротрубочек, микрофиламентов и промежуточных филаментов (например, ядерные ламины); **плазмалемма** – мембрана, которая отделяет внутреннее содержимое клетки от окружающей среды.

Отличия растительной клетки от животной

Теперь рассмотрим основные отличия растительной клетки от животной. Во-первых, у растительных клеток есть **клеточная стенка** – механический каркас, который оказывает давление на плазмалемму и позволяет клетке поддерживать форму. Клеточная стенка пронизана **плазмодесмами**, которые соединяют внутренние пространства соседних клеток, образуя единое внутреннее пространство, называемое *симпластом*.

Также у растительных клеток есть различные **пластиды** – хлоропласты, хромопласты, амилопласты и т. д.

Важным отличием вакуолярной системы растений является возможность формирования крупных **запасающих вакуолей**.

Особенностью цитоскелета растений является **отсутствие центриолей**. Напротив, в растительной клетке может быть несколько центров организации микротрубочек, расположенных в разных частях клетки.

Также для растительной клетки характерна **тотипотентность**, то есть способностью любой живой растительной клетки в определённых условиях дедифференцироваться и давать начало новому растению.

Основные компоненты растительной клетки

Ядро – двумембранная органелла, мембраны которой пронизываются *ядерными порами* (рис. 1.1). Через ядерные поры могут проходить ионы, молекулы малой молекулярной массы (до 10 кДа), РНК, белки, имеющие последовательность NLS (nuclear localization signal – сигнал ядерной локализации). В ядре локализуется ДНК, поэтому здесь происходит ее репликация и транскрипция. Трансляция же, как и остальных эукариот протекает в цитозоле, таким образом, что процессы транскрипции и трансляции являются разобщенными в пространстве (рис. 1.2).

Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) – одномембранный органоид, являющийся выростом и гомологом внешней ядерной мембраны. Он образует сеть, разветвляющуюся по всей клетке, и даже проходит внутри плазмодесмы таким образом, что эндоплазматические ретикулумы всех клеток оказываются соединенными в единую сеть. Эндоплазматический ретикулум подразделяется на *шероховатый*, несущий на

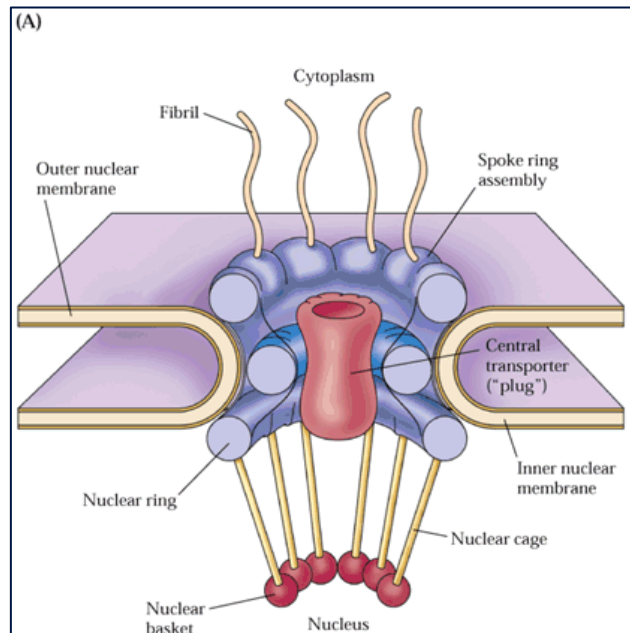


Рис. 1.1 Двумембранная ядерная оболочка, пронизанная ядерной порой.

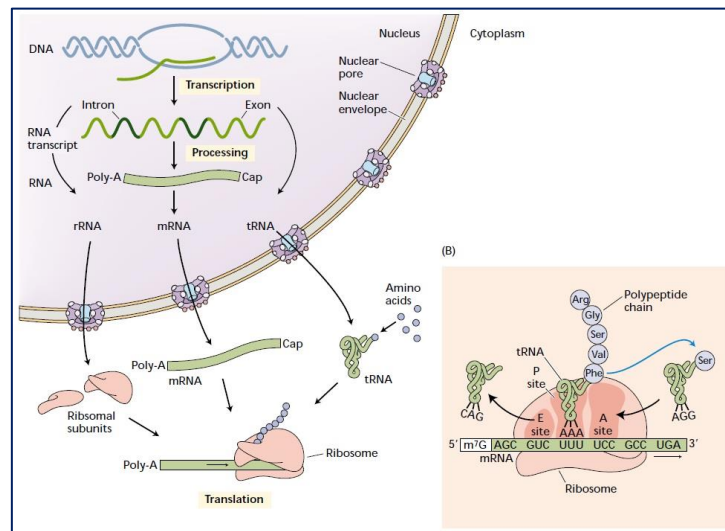


Рис. 1.2. Процессы транскрипции и трансляции разобщены: транскрипция протекает в ядре, трансляция – в цитозоле.

своей поверхности рибосомы, и *гладкий*. Белки, синтезированные на рибосомах шероховатого ЭПР, оказываются в его просвете и могут быть направлены на модификацию или в систему транспорта по мембранным системам. ЭПР связан со множеством других органелл, некоторые из которых из него и формируются (рис.1.3).

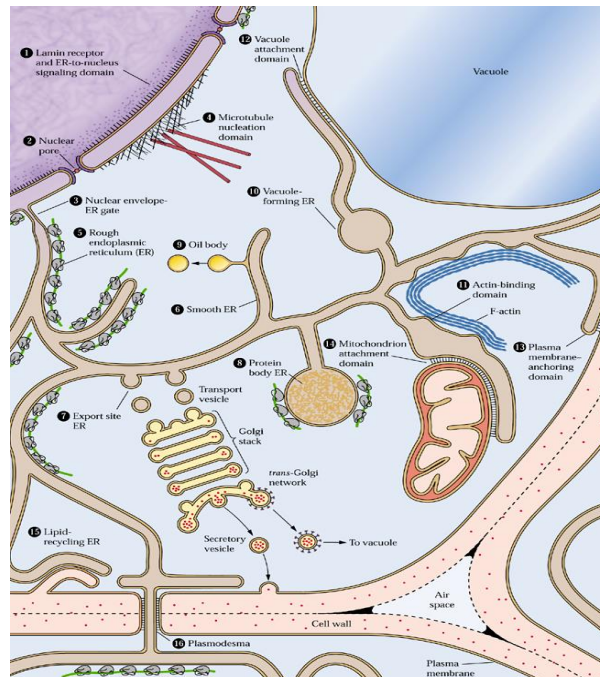


Рис. 1.3. Связь ЭПР с другими органеллами: ядром, вакуолью, митохондрией, аппаратом Гольджи, цитоскелетом. На рисунке показана связь ЭПР с внешней мембраной ядра, формирование из ЭПР жировых телец (oil body), белковых телец (protein body) и прохождение ЭПР через плазмодесму.

ЭПР выполняет широчайший спектр функций, среди которых:

- способствует правильному сворачиванию белка, правильному образованию дисульфидных мостиков;
- формирование четвертичной структуры белков;
- гликозилирование белков (присоединение к ним углеводов);
- направление белков на транспорт в аппарат Гольджи;
- хранение запасных белков;
- участвует в процессе деградации белков;
- участвует в синтезе липидов и образовании липидных капель;
- способствует межклеточному взаимодействию, проходя по плазмодесмам;
- является одним из депо ионов кальция.

Аппарат Гольджи (АГ) – совокупность одномембранных цистерн и пузырьков. АГ не образует единую пространственную сеть, вещества перемещаются между цистернами благодаря везикулярному транспорту (другая концепция гласит о том, что происходит созревание постоянно сменяющихся цистерн, однако подтвердить или опровергнуть какую-либо из гипотез пока не удалось).

АГ, как и ЭПР, выполняет богатый спектр функций:

- гликозилирование белков;
- синтез полисахаридов и протеогликанов клеточной стенки;

- участие в образовании срединной пластинки при клеточном делении (здесь образуются, например, пектины из которых она состоит);
- сортировка и дальнейший мембранный транспорт белков.

Направление транспорта из аппарата Гольджи зависит от того, какая белковая оболочка покрывает выходящие из него везикулы (рис. 1.4).

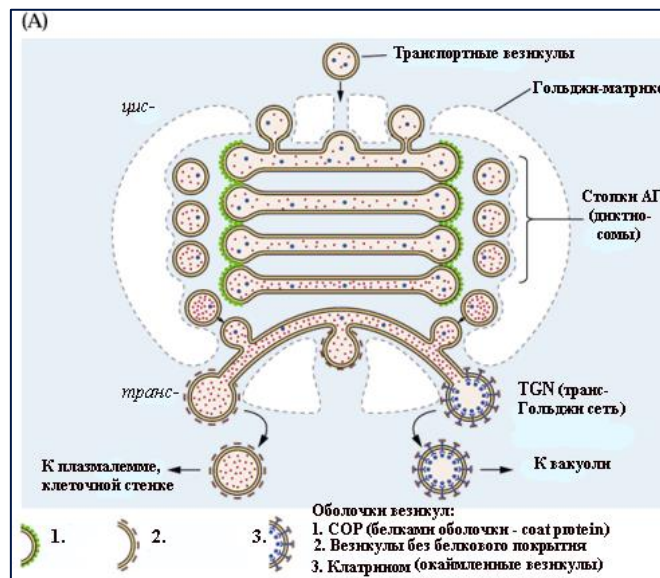


Рис. 1.4. Структура аппарата Гольджи и направление транспорта везикул в зависимости от белков их оболочки.

Цитоскелет представляет несколько систем белковых нитей. Выделяют *микротрубочки* – полые трубки диаметром 25 нм, состоящие из белка тубулина, и *микрофиламенты* диаметром около 7 нм, состоящие из двух скрученных цепочек белка актина (рис. 1.5). Помимо микротрубочек и микрофиламентов выделяют также *промежуточные филаменты*, представленные у растений как минимум ядерными ламинами, одной из функций которых является поддержание структуры ядерной оболочки.

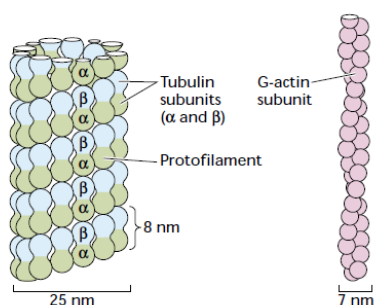


Рис. 1.5. Элементы цитоскелета: микротрубочка (слева) и микрофиламент (справа).

Одной из важных функций цитоскелета является его использование *моторными белками*, участвующими, например, в процессах мембранного транспорта, в качестве “рельсов”.

Митохондрии – двумембранные органеллы, внутренняя мембрана которых для увеличения площади поверхности образует выросты – *кристы*. Эволюционно происходят из бактерий, а потому имеют собственную ДНК и белок-синтезирующую систему. *Наружная мембрана* является достаточно проницаемой и может пропускать даже белки размером до 10 кДа. *Внутренняя мембрана* же, необходимая для создания протонного градиента, напротив, избирательно проницаема и пропускает только те молекулы, для которых в ней имеются специальные переносчики.

Пероксисомы – одномембранные органеллы диаметром 0,5 – 1 мкм, в которых протекает множество различных биохимических процессов (как анаболических, так и катаболических), часто связанных с образованием активных форм кислорода. В отличие от животных, у которых процесс бета-окисления жирных кислот протекает в митохондриях, растения используют для этих целей пероксисому. Важной модификацией пероксисом могут являться *глиоксисомы*, необходимые для протекания одного из этапов превращения жиров в сахара. Одним из важнейших ферментов пероксисом является *каталаза*, осуществляющая превращение пероксида водорода в воду и кислород. Здесь она может присутствовать в таких количествах, что может начать образовывать кристаллы.

Плазмалемма представлена липидным бислоем, липидный состав которого отличается от такового у животных. Основными жирными кислотами являются пальмитиновая, олеиновая, линолевая и линоленовая, в то время как стеариновая кислота практически отсутствует, а арахидоновая отсутствует вовсе. Кроме того, в составе растительной плазмалеммы практически отсутствует холестерол (обнаруживается в следовых количествах). Основными же стериновыми веществами здесь являются фитостеролы: кампостерол, ситостерол и стигмастерол.

В плазмалемму встроено большое количество белков, необходимых для выполнения различных функций, среди которых: транспорт веществ через клеточную мембрану, связывание плазмалеммы с клеточной стенкой и многие другие. Кроме того, в клеточной мембране перемещаются целлюлозо-синтазные комплексы, образующие фибриллы целлюлозы при построении клеточной стенки.

В отличие от животной плазмалеммы, растительная энергизируется в первую очередь за счёт протонного градиента (протоны выкачиваются протонными помпами из цитозоля в сторону клеточной стенки), а ее мембранный потенциал более высокий и составляет 100 – 250 мВ. Кроме того, растительная плазмалемма участвует в формировании плазмодесм и находится под воздействием тургорного давления, препятствующего проникновению воды в клетку.

Лекция 2. Различия растительной и животной клеток

На прошлой лекции обсуждались общие свойства и общие органеллы животных и растительных клеток, на этой же будут рассмотрены их различия.

Клеточная стенка (КС)

Клеточная стенка представляет собой механический каркас из полисахаридов, белков и ароматических веществ, который, однако, у молодых клеток весьма лабилен. Это свойство важно для последующего роста клетки растяжением. КС имеет сложную структуру и состав, по её порам может транспортироваться вода с растворенными в ней веществами. КС обеспечивает защитную функцию, как с механической точки зрения, так и с биохимической (например, в КС содержится фермент хитиназа, расщепляющая хитин – молекулу клеточной стенки грибов). При поражении клетки и её клеточной стенки олигосахариды, образовавшиеся из молекул, входящих в состав КС, могут являться сигнальными веществами для запуска процессов растительного иммунитета.

Клеточная стенка образует трёхмерную сеть из “арматурных” фибрилл целлюлозы, погруженных в полимерный матрикс из множества веществ (рис. 2.1).

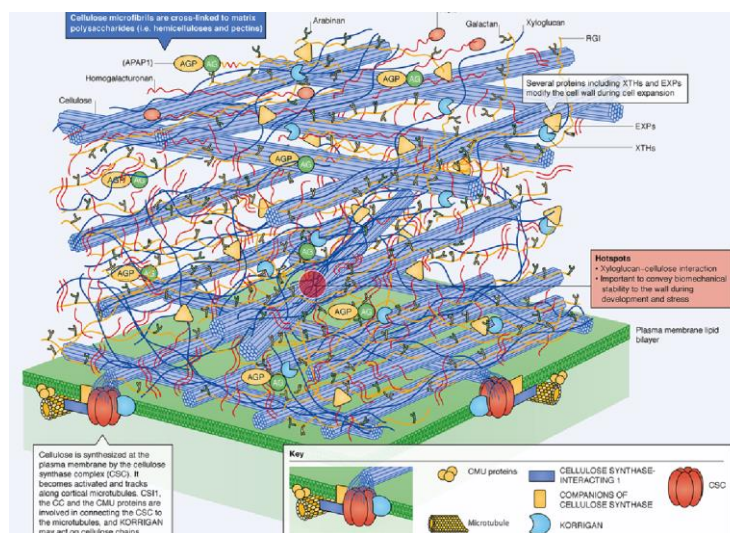


Рис. 2.1. Модель клеточной стенки. Зеленым обозначена плазматическая мембрана. На нижней сноске проиллюстрировано, как целлюлозо-синтазный комплекс, двигаясь по микротрубочкам образует фибрилли целлюлозы (крупные синие тяжи). Углеводы отмечены желтыми и красными линиями, белки – кружками и овалами.

Всё разнообразие полисахаридов клеточной стенки построено из всего 11 вариантов моносахаридов, которые могут быть синтезированы из глюкозы. Некоторые из этих вариантов несут карбоксильную группу, важную, например, для связывания ионов металлов.

Целлюлоза представляет собой линейную молекулу из бета-D-глюкоз, связанных $\beta(1 \rightarrow 4)$ -гликозидными связями (рис. 2.2).

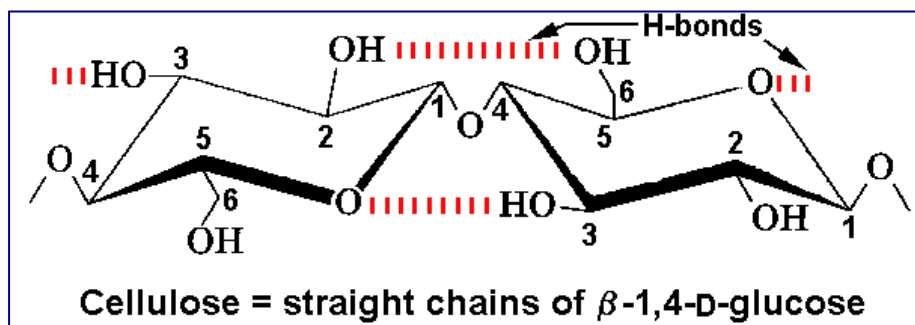


Рис. 2.2. Структура молекулы целлюлозы. Красным обозначены водородные связи, придающие молекуле дополнительную прочность.

Молекулы целлюлозы не лежат по отдельности. На рис. 2.1, 2.4 хорошо видно, что целлюлозо-синтазный комплекс как будто “сплетает косичку” из отдельных молекул так, что образуются достаточно сложные структуры, в форме которых целлюлоза присутствует в клеточной стенке (рис. 2.3).

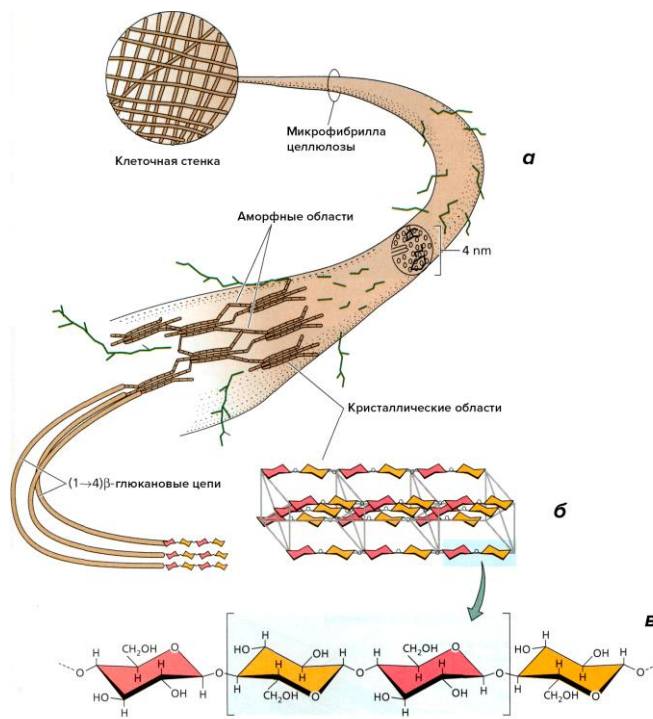


Рис. 2.3. Иерархия структур из целлюлозы.

Синтез целлюлозы (как и другого важного полимера КС каллозы) происходит экстраклеточно (внеклеточно) благодаря упоминавшемуся ранее розеточному целлюлозо-синтазному комплексу. Это трансмембранный комплекс, берущий для своей работы сахарозу со стороны цитоплазмы и синтезирующий целлюлозу на внешней стороне (рис. 2.4).

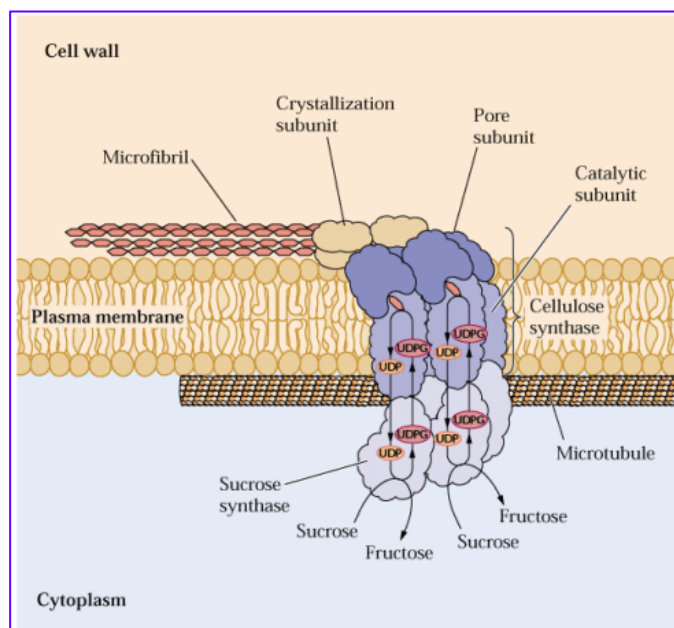


Рис. 2.4. Целлюлозо-синтазный комплекс, перемещающийся с помощью вспомогательных белков по микротрубочке. Глюкоза в составе сахарозы передается на UDP (уридиндифосфат), который передает ее на синтез целлюлозы со стороны клеточной стенки. Комплекс представляет собой “башню” из трёх частей: сахарозосинтазы, каталитической и поровой субъединиц целлюлозосинтазы.

Сшивочные гликаны (гемицеллюлозы) – это разветвленные гетерополимеры, составленные из богатого разнообразия моносахаров, связанным с систематическим положением данного растения. *Ксилоглюканы* можно обнаружить в первичной клеточной стенке двудольных и половины разнообразия однодольных. Основная цепочка ксилоглюканов представлена полимерной глюкозой, в боковых же цепях могут находиться глюкоза, галактоза, фукоза и ксилоза. *Глюкуроноарабиноксиланы* – полисахариды первичной клеточной стенки коммелиноидных однодольных (бромелиевые, пальмы, имбирь и другие). Сшивочные гликаны значительно короче молекул целлюлозы. Они связываются с фибриллами целлюлозы посредством водородных связей, связывая отдельные фибриллы целлюлозы в единый каркас. Места контакта фибрилл целлюлоз, где они сшиты гликанами называют биохимическими горячими точками (biochemical hotspot). Именно их ослабление является важным этапом для роста клетки растяжением.

Пектины – полимеры галактуроновой кислоты (*галактуронаны*) или галактуроновой кислоты и рамнозы (*рамногалактуронаны*). Благодаря карбоксильным группам галактуроновой кислоты, пектины могут связывать ионы, а в первую очередь ионы кальция, образуя при этом прочные сшивки (замковые зоны). Плотностью этих сшивок определяется размер пор клеточной стенке – чем плотность больше, тем меньше будут поры в клеточной стенке. Метилированием или деметилированием карбоксильных групп можно добиться меньшей или большей способности пектинов связывать кальций, а, следовательно, этими способами можно регулировать плотность замковых зон. Исходно пектины синтезируются в аппарате Гольджи в метилированном виде, но затем

специальный фермент отщепляет метильную группу в виде метанола, освобождая карбоксил. Пектины выполняют множество функций:

- определяют размер пор клеточной стенки;
- неся отрицательно заряженные карбоксильные группы, определяют поверхностный заряд клеточной стенки;
- определяют адгезионные и ионообменные свойства клеточной стенки;
- из пектинов состоит срединная пластинка, образующаяся в ходе деления клетки;
- на пектинах фиксируются некоторые ферменты клеточной стенки;
- формируют депо для ионов кальция;
- продукты деградации пектинов, вызванной атакой патогенов, играют сигнальную роль в растительном иммунитете.

Белки клеточной стенки могут быть разделены на два класса в соответствии с выполняемыми функциями. *Структурные белки* сильно гликозилированы и обогащены пролином, глицином и гидроксипролином. Ферменты в клеточной стенке могут выполнять ряд различных свойств, среди которых: модификация структурных элементов клеточной стенки, защита от активных форм кислорода, окисление фенольных соединений и др. Кроме того, в клеточной стенке могут присутствовать защитные ферменты, например, упоминавшаяся ранее хитиназа.

Лигнины – сеть ковалентно сшитых ароматических соединений – фенолпропаноидов (кумаровый, кониферилловый и синаповый спирты), полимеризующихся благодаря радикальным реакциям. Сшивки перечисленных мономеров имеют нерегулярную структуру. Полимеризация происходит благодаря ферментам, входящим в состав клеточной стенки. Лигнины могут быть обнаружены преимущественно во вторичных клеточных стенках некоторых тканей (ксилема, склеренхима). Важно отметить, что после лигнификации клетка погибает. Лигнин придает ткани большую механическую прочность.

Суберин является полимером жирных кислот или спиртов с ароматическими веществами, входящим в состав вторичной клеточной стенки некоторых тканей (экзо- и энтодерма, феллема). Как и лигнин обладает нерегулярной структурой. Определяет гидрофобность клеточной стенки, создавая тем самым барьер, что будет важно при обсуждении нижнего концевое двигателя в лекции по водному обмену растений.

Кутин – полимер жирных кислот и спиртов, определяющий гидрофобные свойства внешнего слоя клеток эпидермиса и защищающий покрываемые органы от потери влаги.

Плазмодесмы

Плазмодесмы проходят сквозь клеточные стенки, соединяя цитоплазмы и эндоплазматические ретикулы клеток растений (рис. 2.5), объединяя практически всё растение (за исключением некоторых клеток апикальных меристем и замыкающих клеток устьиц). Такое суммарное пространство, образуемое цитоплазмами всех объединенных клеток, называют *симпластом*. Суммарное пространство объединенных

эндоплазматических ретикулов называют *эндопластом*. А суммарное пространство всех клеточных стенок и межклетников называют *апопластом*. Таким образом, вещества могут перемещаться по апо-, сим- или эндопласту.

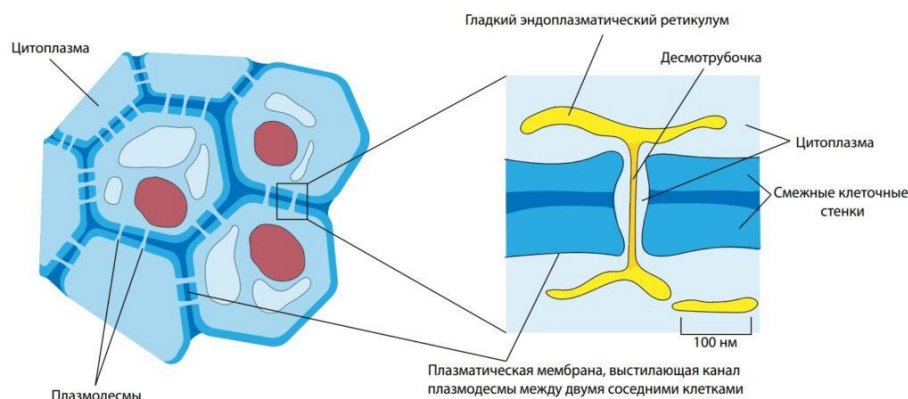


Рис. 2.5. Плазмодесмы и их строение. Примерно такую картину, как та, что изображена слева можно наблюдать на микропрепарате эндосперма семени хурмы.

Вакуолярная система

Выделяют два типа вакуолей: запасные и литические. Вакуоли могут выполнять множество функций:

- хранение ионов, сахаров, пигментов (антоцианы или беталаины), аминокислот, вторичных метаболитов;
- лизис веществ - литические вакуоли содержат кислые гидролитические ферменты: протеазы, нуклеазы, гликозидазы, липазы;
- защита от патогенов и травоядных (благодаря хранению упомянутых вторичных метаболитов);
- пигментация различных органов (благодаря упомянутым антоцианам или беталаинам);
- изолирование и детоксикация токсичных веществ благодаря наличию на мембране вакуоли (*тонопласте*) специальных переносчиков;
- регуляция pH и концентрации ионов в клетке;
- вакуоли участвуют в создании тургорного давления.

Пластиды

Пластиды возникли в результате эндосимбиоза, а поэтому им присуще наличие двумембранной оболочки, собственного генома и белоксинтезирующей системы.

Хлоропласты осуществляют фотосинтез и характеризуются хорошо развитой мембранной системой (рис. 2.6). Кроме того, в хлоропластах происходят некоторые этапы минерального питания.

Пропластида (в англоязычной литературе также “пропласт”) – предшественник всех пластид, который можно обнаружить в клетках зародыша или меристематических

клетках. Характеризуется неразвитой мембранной системой и выглядит как маленький двумембранный пузырек.

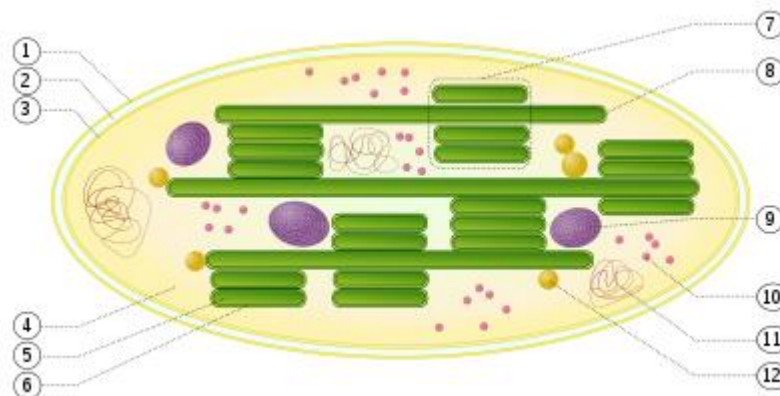


Рис. 2.6. Строение хлоропласта. Граны – стопки из тилакоидов. Граны соединяются друг с другом посредством ламелл. В хлоропластах могут присутствовать различные включения – липидные капли, крахмальные зерна. Обратите внимание, мембранная система не соединяется с внутренней мембраной хлоропласта. Изображение не отражает реального строения граны, тилакоиды которой, по всей видимости, образуют единое пространство (существуют разные гипотезы того, как это может происходить, но вопрос остается открытым).

Хромопласты – пластиды, накапливающие большое количество каротиноидов, придающих им красную или оранжевую окраску. Хромопласты могут быть обнаружены в лепестках или плодах многих растений.

Геронтопласты – стареющие хлоропласты, хлорофилл в составе которых подвергся деградации, из-за чего они сменили окраску с зеленой на красную или желтую. Обнаруживаются в осенних листьях.

Лейкопласты – бесцветные пластиды, обнаруживаемые в нефотосинтезирующих клетках (например, клетках корня). Участвуют в синтезе липидов и изопреноидов, включая вторичные метаболиты.

Амилопласты – бесцветные пластиды, накапливающие крахмал. Могут быть обнаружены в запасующих органах (например, клубни картофеля). Интересной функцией амилопластов является участие рецепции гравитропизма в клетках корневого чехлика корня, где их крахмальные зерна выступают в качестве статолитов. Механизм данного явления до сих пор неизвестен, однако гипотеза была подтверждена благодаря созданию мутантов по образованию крахмальных зерен, у которых наблюдались серьезные проблемы с гравитропизмом.

Протеинопласты – пластиды, запасующие белки. Могут быть обнаружены, например, в семенах, запасующих белки (сем. Бобовые).

Элайоласты – пластиды, запасующие липидные капельки. Могут быть обнаружены, например, в семенах масличных культур.

Этиопласты – пластиды, обнаруживаемые в тканях, находящихся в состоянии этиоляции, когда растение испытывает серьезный дефицит освещения (например, семя, пробивающееся сквозь почву или проросший картофель). Такое растение активно ожидает появления света, ведь ресурсы семени или клубня ограничены. Поэтому в этиопластах находится строго упорядоченная структура – *проламеллярное тело*, из которого при появлении света моментально начнут развиваться мембранные структуры хлоропласта (рис. 2.7).

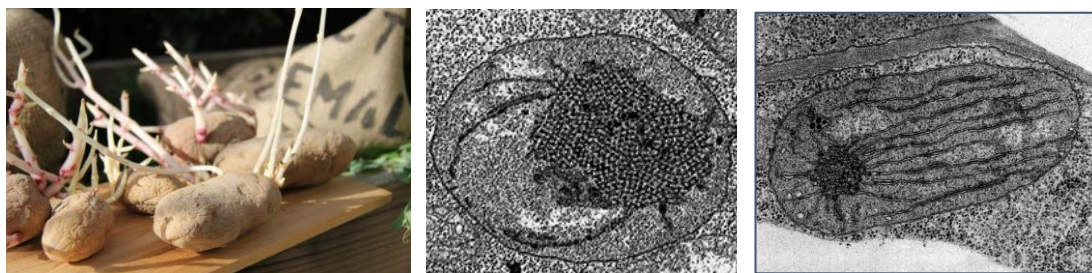


Рис. 2.7. Слева - этиолированные проростки клубней картофеля сильно удлинились в попытках выбраться к свету (как только они его достигнут, то пока еще бесцветные клетки будут подвержены повреждающему действию света, поэтому они накапливают защитные пигменты, заметные на фотографии); центр - электронная микрофотография этиопласта с хорошо видимым проламеллярным телом; справа – сборка мембранных структур хлоропласта из проламеллярного тела при выходе из состояния этиоляции.

Пластиды легко могут превращаться друг в друга при смене условий жизни данной ткани (рис. 2.8). Процесс этого превращения контролируется ядром.

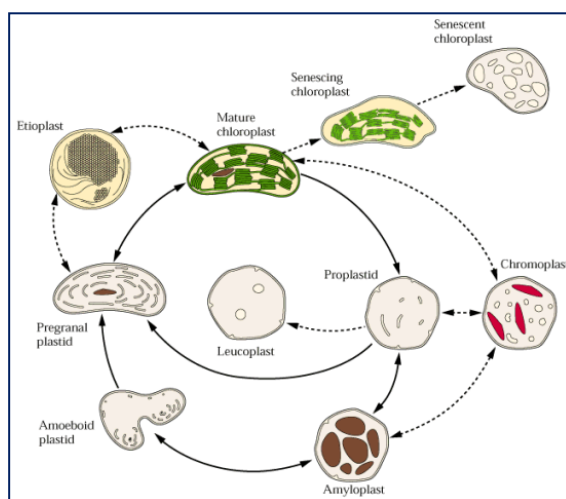


Рис. 2.8. Взаимопревращения пластид.

В клетке растений происходит взаимодействие **трёх геномов**: ядерного, митохондриального и пластидного. *Митохондриальный геном* один из самых больших среди всех эукариот, но большая его часть представлена некодирующими последовательностями. Обладает специфичной структурой – может быть разделен на

набор линейных и кольцевых плазмид различного размера. *Хролопластный геном* имеет меньшие размеры, но содержит больше генов. В большинстве случаев представлен одной кольцевой хромосомой. Кодировать две РНК-полимеразы: фагового и бактериального типа. В случае обоих геномов прослеживается эволюционная тенденция на перенос генов из митохондрий и хлоропластов в ядро. Зачастую единый белковый комплекс, работающий в этих органеллах, частично кодируется ядром, а частично органеллами. Между тремя геномами происходит непрерывное взаимодействие. *Ретроградным сигналингом* называют влияние состояния митохондрий и хлоропластов на экспрессию ядерных генов.

Деление растительной клетки

Процесс деления представлен на рис. 2.9. Процесс митоза растительной клетки принципиально отличается двумя вещами: отсутствием centrioles и началом формирования клеточной стенки, представленным созданием срединной пластинки. При этом по микротрубочкам пузырьки, содержащие пектины, перемещаются от аппарата Гольджи к месту появления будущей клеточной стенки. При этом совокупность специфически ориентированных микротрубочек, везикул и прочих элементов данного процесса называется *фрагмопластом*.

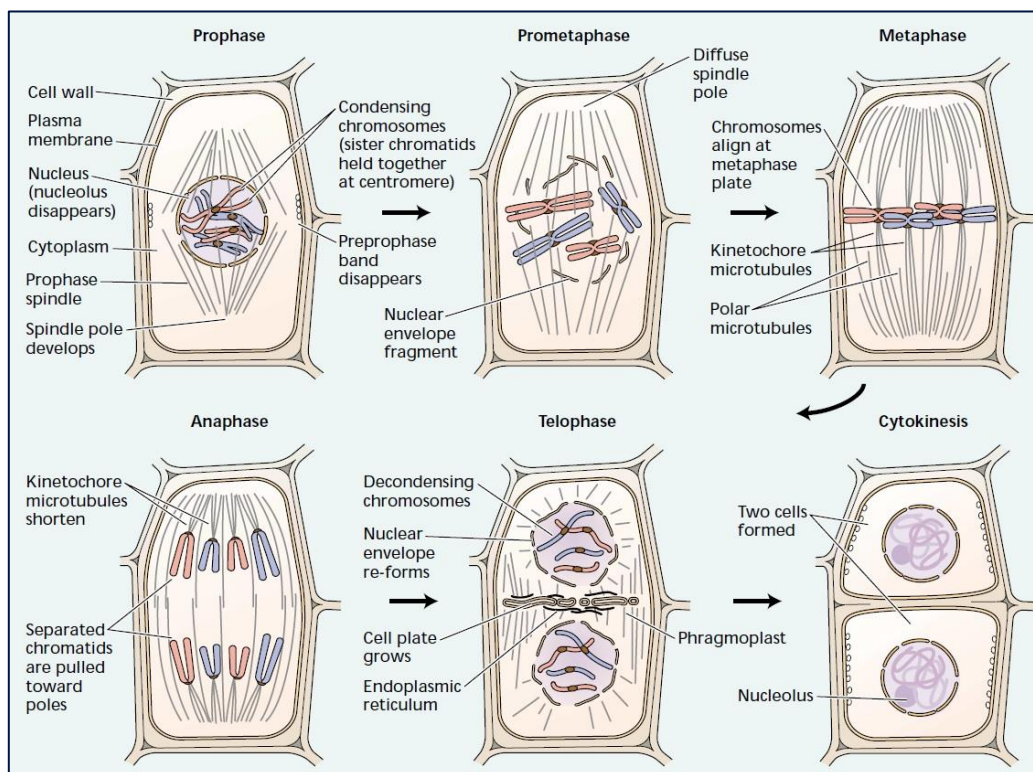


Рис. 2.9. Процесс митоза растительной клетки.

Лекция 3. Биохимия. Начальные этапы дыхания

Введение в биохимию

Прежде чем начать обсуждение биохимических процессов, протекающих в растениях, обсудим “правила игры”, выражающиеся в законах термодинамики – раздела физики, изучающего превращения различных форм энергии. Ниже приводятся несколько упрощенные формулировки этих законов.

Первый закон. Энергия Вселенной не может ни создаваться, ни исчезать. Энергия Вселенной постоянна.

Второй закон. Энтропия Вселенной всегда возрастает. Существует объективная тенденция к увеличению хаоса и беспорядка.

Третий закон. Энтропия равна нулю лишь для совершенного кристалла при температуре абсолютного нуля.

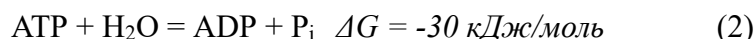
Удобной характеристикой для оценки самопроизвольности реакций является изменение их свободной энергии Гиббса (1):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

где ΔG – изменение свободной энергии Гиббса, ΔH – изменение энтальпии в ходе процесса, T – температура, ΔS – изменение энтропии.

Для реакций, протекающих самопроизвольно, изменение энергии Гиббса отрицательно, а для реакций не протекающих самопроизвольно – положительно. При образовании упорядоченных структур энергия Гиббса положительна, и реакции не могут идти самопроизвольно. Чтобы их производить требуется сопряженная реакция, чья отрицательная энергия Гиббса будет “использована” на проведение термодинамически невыгодной реакции. Тогда суммарное изменение энергии Гиббса двух реакций будет отрицательным, и они вместе будут протекать самопроизвольно.

Примером такой сопряженной реакции является реакция гидролиза АТФ (2):



Нужно заметить, что указанное изменение энергии Гиббса будет варьироваться в зависимости от концентрации реагентов и продуктов, температуры или рН.

В клетках, кроме многих прочих реакций, необходимо проводить окислительно-восстановительные реакции. Для оценки изменения их энергии Гиббса используется следующая формула (3):

$$\Delta G = -nF\Delta E \quad (3)$$

где n – число перенесенных электронов, F – число Фарадея, ΔE – изменение окислительно-восстановительного потенциала.

В клетках существуют универсальные переносчики электронов – NAD^+ и его фосфорилированная форма – NADP^+ . (рис. 3.1).

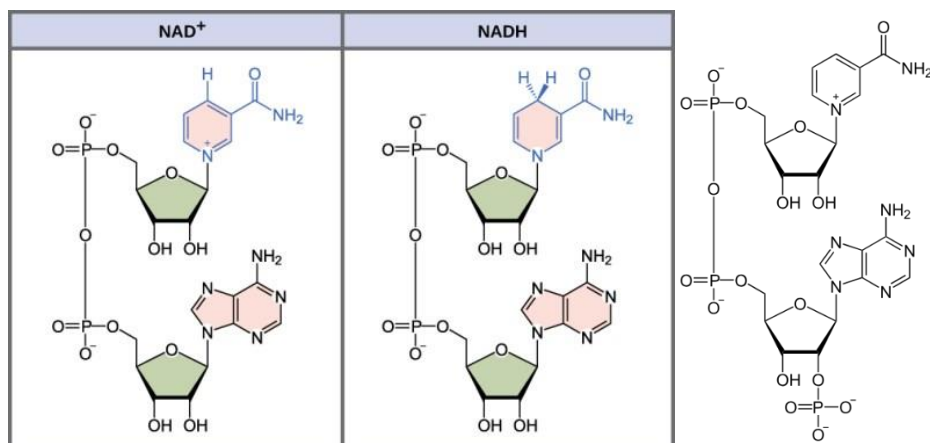


Рис. 3.1. Слева показана молекула NAD^+ ; в центре – ее восстановленная форма. Справа изображена молекула NADP^+

Окислительно-восстановительный потенциал (E) позволяет оценить возможность передачи электронов между определенными частицами. Электрон может передаваться от вещества из полуреакции с бóльшим значением потенциала к веществу с из полуреакции с меньшим значением. Значения потенциалов для некоторых полуреакций, протекающих в клетках, представлены на рис. 3.2.

Half-reaction	E'° (V)		
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (at standard conditions, pH 0)			0.000
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816	$\text{Crotonyl-CoA} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{butyryl-CoA}$	-0.015
$\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$	0.771	$\text{Oxaloacetate}^{2-} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{malate}^{2-}$	-0.166
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0.421	$\text{Pyruvate}^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{lactate}^-$	-0.185
$\text{Cytochrome } f (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } f (\text{Fe}^{2+})$	0.365	$\text{Acetaldehyde} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{ethanol}$	-0.197
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (ferricyanide) + $e^- \longrightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	0.36	$\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{FADH}_2$	-0.219*
$\text{Cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0.35	$\text{Glutathione} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow 2 \text{ reduced glutathione}$	-0.23
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.295	$\text{S} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{S}$	-0.243
$\text{Cytochrome } a (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } a (\text{Fe}^{2+})$	0.29	$\text{Lipoic acid} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{dihydrolipoic acid}$	-0.29
$\text{Cytochrome } c (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } c (\text{Fe}^{2+})$	0.254	$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{Cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0.22	$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{Cytochrome } b (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } b (\text{Fe}^{2+})$	0.077	$\text{Acetoacetate} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \beta\text{-hydroxybutyrate}$	-0.346
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{ubiquinol} + \text{H}_2$	0.045	$\alpha\text{-Ketoglutarate} + \text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{isocitrate}$	-0.38
$\text{Fumarate}^{2-} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{succinate}^{2-}$	0.031	$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (at pH 7)	-0.414
		$\text{Ferredoxin} (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{ferredoxin} (\text{Fe}^{2+})$	-0.432

Рис. 3.2. Значения стандартного электрохимического потенциала для некоторых полуреакций. Из объяснения выше понятно, что слева реакции перечислены в порядке уменьшения окислительных свойств веществ, а справа – в порядке увеличения восстановительных.

Важно вспомнить ряд изменения степени окисления углерода в его соединениях на примере одноуглеродных соединений (рис. 3.3).

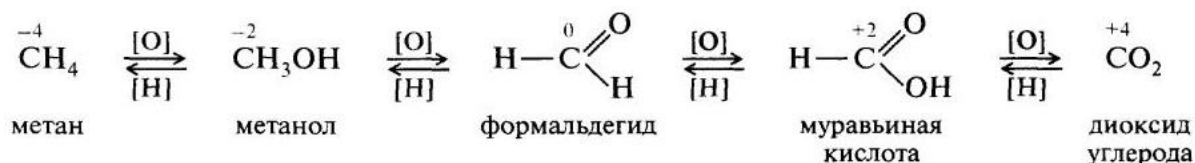


Рис. 3.3. Степени окисления углерода. [H] означает “восстановление”, [O] – окисление. Может показаться странным, что степень окисления углерода в формальдегида равна нулю, однако следует понимать, что “степень окисления” - это удобная, но не совсем реалистичная модель.

Ферменты - специализированные белки (за редкими исключениями), которые, являясь катализаторами, во много раз ускоряют реакции, не подвергаясь при этом необратимым химическим превращениям. Ферменты могут содержать различные кофакторы (гемы, атомы металлов и многое другое). Многие ферментативные реакции являются обратимыми, тогда направление реакции зависит от концентраций субстрата и продукта реакции. Схематичное строение фермента представлено на рис. 3.4.

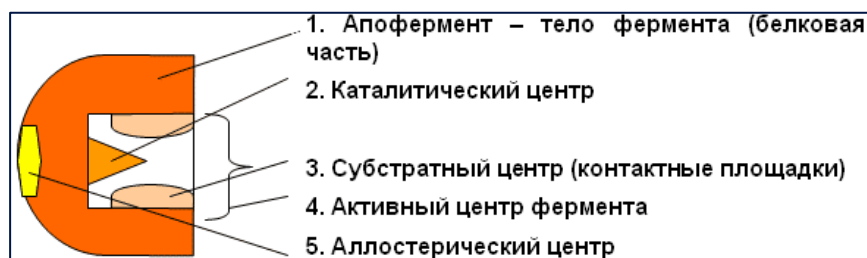


Рис. 3.4. Схематичное строение фермента.

Ферменты классифицируются в соответствии с выполняемыми ими функциями и типом осуществляемой реакции. Выделяют *семь классов ферментов*:

- I. оксидоредуктазы, катализирующие окислительно-восстановительные реакции;
- II. трансферазы, катализирующие перенос химических групп между молекулами;
- III. гидролазы, катализирующие гидролиз химических связей;
- IV. лиазы, катализирующие реакции с образованием кратных связей;
- V. изомеразы, катализирующие реакции изомеризации;
- VI. лигазы, катализирующие образование связей C-C, C-N, C-O, C-S;
- VII. транслоказы, катализирующие перенос частиц через мембраны.

На самом деле, классификация ферментов значительно более сложная - для каждого класса ферментов выделяют множество подклассов. Ниже представлена полная

классификация фермента фосфофруктокиназы – фермента, катализирующего перенос фосфатной группы от АТФ на фруктозо-6-фосфат (рис. 3.5).

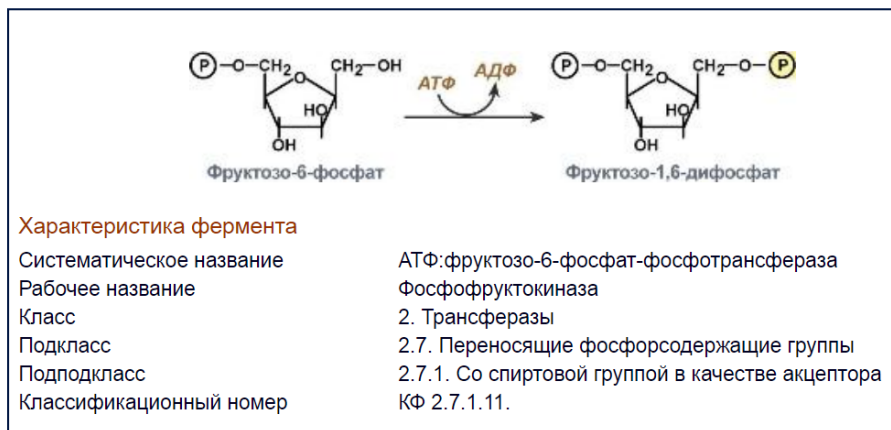


Рис. 3.5. Классификация фермента фосфофруктокиназы и реакция, катализируемая этим ферментом.

Дыхание растений

Дыхание заключается в постепенном окислении органических веществ с целью получения энергии в виде АТФ. Рассмотрим глобальную схему дыхания (рис. 3.6).

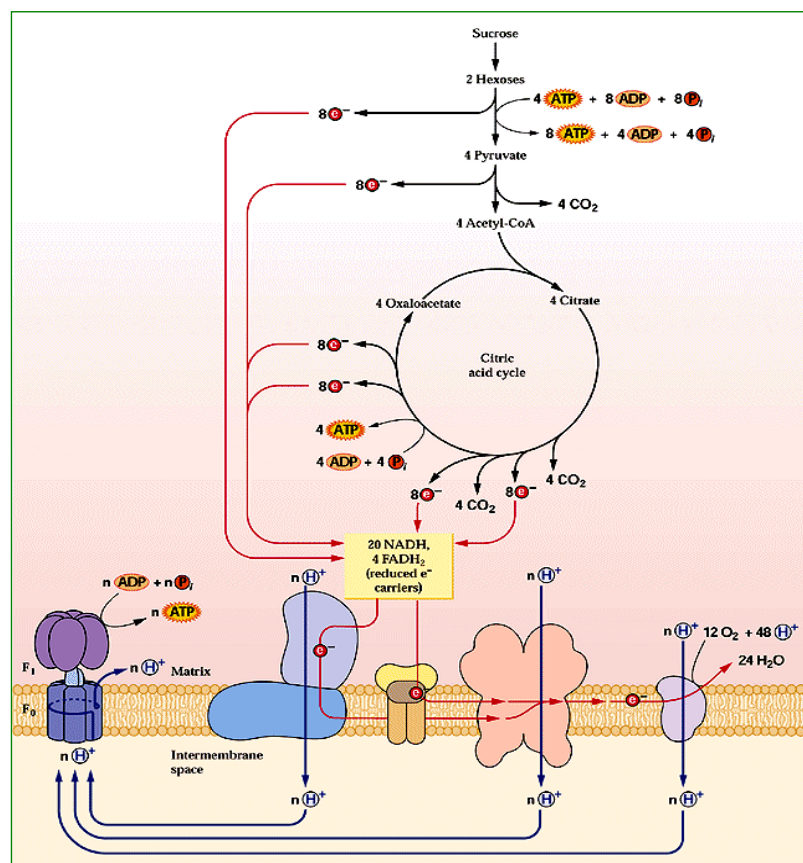


Рис. 3.6. Глобальная схема процессов дыхания. Объяснение будет дано ниже.

Основным транспортным углеводом в большом количестве растений является сахароза. Это связано с тем, что нередуцирующие сахара являются более устойчивыми и могут быть безопасно транспортированы на большие расстояния. Поэтому мы начнем описание схемы дыхания именно с неё.

После попадания сахарозы в клетку она расщепляется на две гексозы (сахара, содержащие шесть атомов углерода), которые затем вступают в процесс, известный как *гликолиз*, в котором происходит образование двух молекул пировиноградной кислоты (ПВК, пируват), содержащих по три атома углерода. В ходе гликолиза образуется две молекулы АТФ (в расчете на одну гексозу) и две молекулы NADH, являющихся двухэлектронными переносчиками. Затем ПВК претерпевает реакцию декарбоксилирования, в ходе которой образуется ацетил-кофермент А, углекислый газ и молекула NADH. *Ацетил-кофермент А* (ацетил-КоА) представляет собой остаток уксусной кислоты, присоединенный к специальному переносчику – коферменту А (рис. 3.7).

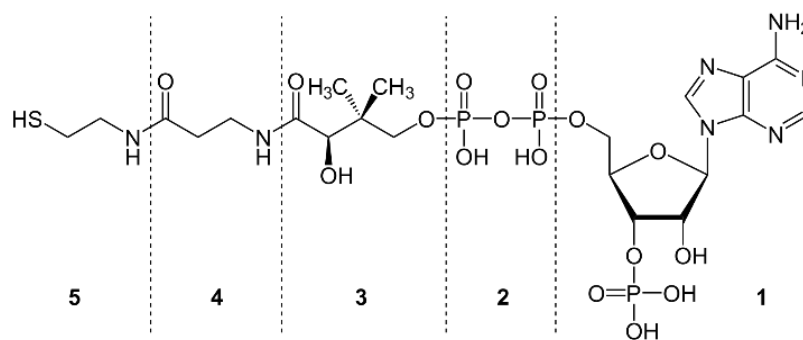


Рис. 3.7. Строение кофермента А, где 1 – фосфорилированный аденозин, 2 – пиродифосфат, 3 – пантотевая кислота, 4 – бета-аланин, 5 – бета-меркаптоэтанолламин. Бета-аланин и пантотевая кислота образуют пантотеновую кислоту. Остаток уксусной кислоты присоединяется через серу, формируя тиоэфирную связь. Такая связь является макроэргической подобно тем, которые обнаруживаются между остатками фосфорной кислоты в молекуле АТФ.

Образовавшийся ацетил-КоА вступает в цикл Кребса, в ходе которого полностью окисляется до двух молекул углекислого газа. В ходе цикла Кребса образуется одна молекула АТФ (у растений), три молекулы NADH и один FADH₂. FADH₂ – ещё один переносчик электронов (рис. 3.8), который в отличие от NADH всегда ковалентно присоединен к белковой молекуле.

Образовавшиеся во всех процессах переносчики электронов передают их на *электрон-транспортную цепь* митохондрий, в ходе работы которой создается электрохимический градиент протонов, тратящийся затем на синтез молекул АТФ специальным белковым комплексом – АТФ-синтазой.

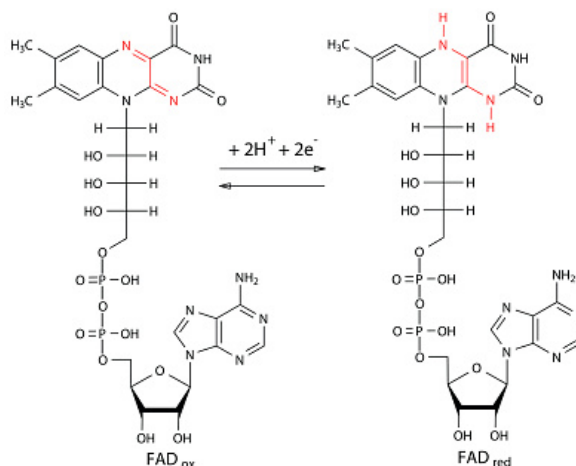


Рис. 3.8. FAD и его восстановленная форма FADH₂.

Гликолиз

Процесс гликолиза у растений происходит в двух компартментах: в цитозоле и пластидах. В хлоропластах гликолиз протекает только в темноте.

Описание гликолиза у растений принято начинать с вариантов расщепления сахарозы до моносахаридов. Существует два варианта с использованием сахарозосинтазы или инвертазы. В этих вариантах получают различные продукты, но все они могут вступать в общий путь гликолиза.

Рассмотрим общую схему гликолиза (рис. 3.9).

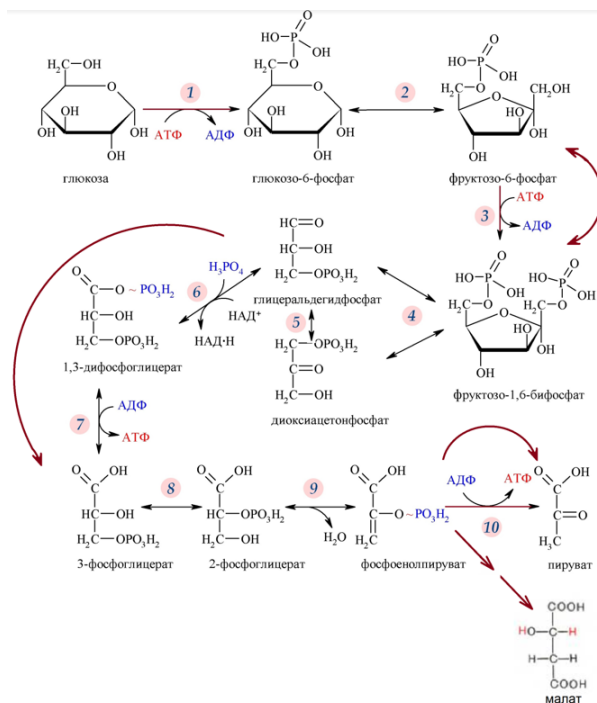


Рис. 3.9. Гликолиз растений.

В ходе подготовительной стадии гликолиза происходит “активация” гексозы двумя остатками фосфорной кислоты. При этом происходит затрата двух молекул АТФ. Затем происходит реакция, катализируемая ферментом альдолазой, в ходе которой гексоза распадается на две триозы. На второй стадии гликолиза происходит синтез NADH и четырех молекул АТФ (в расчете на одну гексозу).

У растений есть несколько шунтирующих реакций, то есть таких, которые являются дополнительными к основным путям и могут начать работать в определенных условиях (рис.3.10).

Первая из них шунтирует реакцию превращения фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-бисфосфат. Фермент, использующийся в данной реакции – *пирофосфат-зависимая фосфофруктокиназа*, которая, как ясно из названия, использует пирофосфат в качестве источника остатка фосфорной кислоты. В отличие от животных, сразу расщепляющих пирофосфат до двух фосфатов, клетки растений могут накапливать пирофосфат.

Вторая реакция шунтирует сразу две реакции. Фермент *нефосфорилирующая глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа* окисляет глицеральдегид-3-фосфат до 3-фосфоглицерата без получения молекулы АТФ. Кроме того, в результате реакции образуется не NADH, а NADPH.

Третья шунтирующая реакция заключается в дефосфорилировании фосфоенолпирувата с помощью *фосфоенолпируват-фосфатазы* без образования молекулы АТФ. Эта реакция, как и предыдущая, активируется в условиях недостатка фосфора.

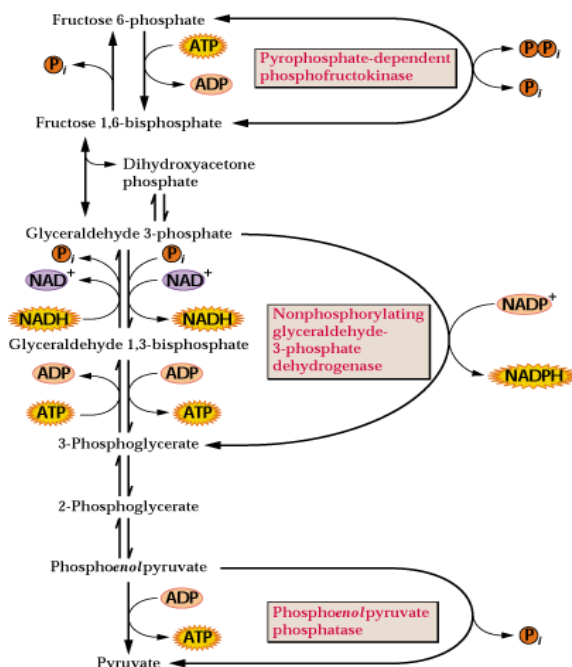


Рис. 3.10. Шунты гликолиза и ферменты, обеспечивающие их.

Помимо ПВК у растений продуктом гликолиза может также быть и малат, образующийся благодаря работе двух ферментов: фосфоенолпируват-карбоксилазы и малат-дегидрогеназы (рис. 3.11).

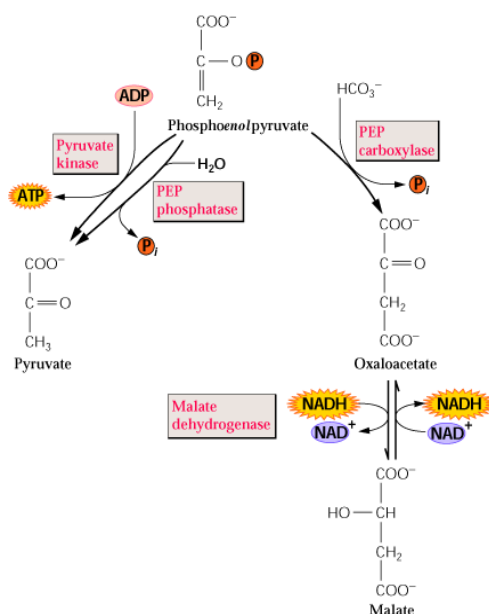


Рис. 3.11. Два возможных продукта гликолиза: пируват и малат.

Брожение

В условиях недостатка кислорода (в семени при прорастании или в органах, погруженных в воду) в клетках происходит накопление пирувата и NADH , который необходимо каким-либо образом превратить в NAD^+ , чтобы вновь осуществлять гликолиз и получать АТФ. Для этого существуют процессы брожения. В растениях реализуются как минимум две разновидности его разновидности: молочнокислое и спиртовое брожение.

В ходе молочнокислого брожения происходит образование молочной кислоты (лактата) из пирувата (рис. 3.12). Такой вид брожения является менее предпочтительным, так как в его ходе образуется кислота, накапливающаяся в цитозоле и меняющая его рН.

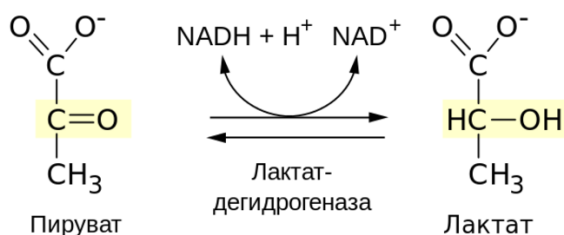


Рис. 3.12. Молочнокислое брожение.

Более предпочтительным является спиртовое брожение, в ходе которого происходит декарбоксилирование пирувата с образованием ацетальдегида, с

последующим его восстановлением до этанола (рис. 3.13). Этанол может выходить из цитозоля в клеточную стенку, меньше влияя на физиологию клетки.

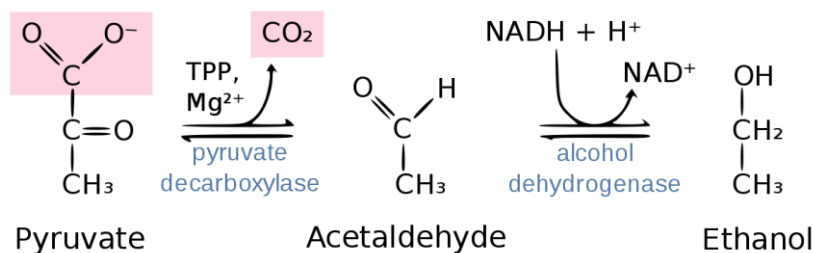


Рис. 3.13. Спиртовое брожение.

Пентозофосфатный шунт (ПФС)

Пентозо-фосфатный путь шунтирует гликолиз (рис. 3.14). В ходе него происходит окисление глюкозы с образованием двух молекул NADPH и ряд последовательных превращений, в ходе которых происходит перенос двух- или трёхуглеродных фрагментов с помощью ферментов транскетолаз и трансальдолаз, соответственно.

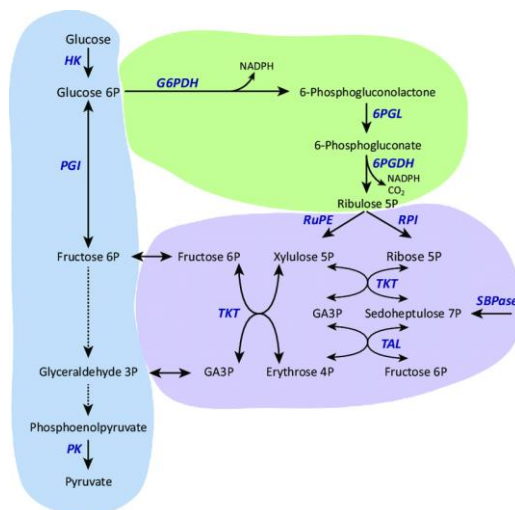


Рис. 3.14. Пентозофосфатный путь как шунт гликолиза, выделенного синим цветом. На первом этапе (зеленый) происходит окисление глюкозы, а на втором – молекулярные перестановки, в ходе которых могут образовываться интермедиаты гликолиза.

Помимо создания NADPH функцией ПФШ является создание C5- и C6-сахаров, использующихся в множестве синтезов: коферментов, нуклеотидов, флавоноидов, полисахаридов клеточной стенки.

Как и гликолиз, протекает не только в цитозоле, но и в пластидах. В хлоропластах оба процесса могут протекать только в темноте.

Лекция 4. Следующие этапы дыхания

Цикл Кребса

Цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), цикл лимонной кислоты) – серия последовательных реакций, в ходе которых происходит окисление ацетильных остатков до углекислого газа и образование восстановительных эквивалентов (NADH/NADPH , FADH_2). ЦТК протекает в митохондриях.

Циклу Кребса предшествует образование ацетил-КоА из пирувата, который был получен в ходе гликолиза. Данную реакцию осуществляет сложно устроенный **пируват-дегидрогеназный комплекс**, состоящий из трёх типов субъединиц: E1 – пируват-дегидрогеназа, E2 – дигидролипоилтрансацилаза, E3 – дигидролипоилдегидрогеназа (рис. 4.1). Каждая субъединица содержится в комплексе в большом количестве так, что комплекс может достигать значительных размеров.

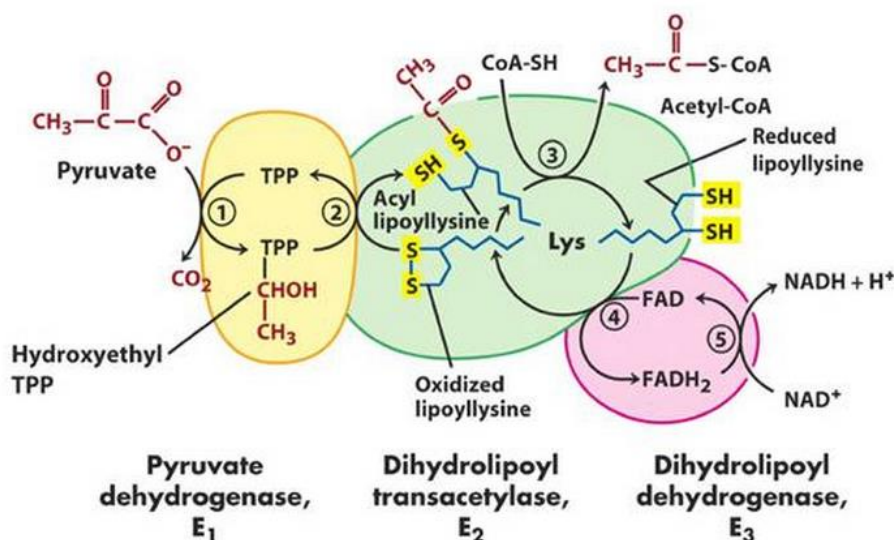


Рис. 4.1. Субъединицы пируватдегидрогеназного комплекса и выполняемые ими функции.

Работу комплекса можно сравнить с конвейером или танцем. На первом этапе C2-фрагмент переносится с пирувата на тиаминпирофосфат – кофермент, присоединенный к E1, при этом происходит выделение углекислого газа. Затем происходит перенос фрагмента на липоевую кислоту, присоединенную к лизину белка E2. Липоевая кислота и остаток лизина образуют “длинную руку”, перемещающуюся в дальнейших процессах. При присоединении C2-остатка к липоевой кислоте происходит окисление остатка и восстановление S-S-связи в кислоте. Окисленный C2-фрагмент присоединяется к коферменту A с образованием ацетил-КоА. Последний этап осуществляется E3-субъединицей, которая окисляет липоевую кислоту, вновь создавая её S-S-связь. При этом происходит перенос электронов на FAD . Образовавшийся FADH_2 переносит электроны на NAD^+ с образованием NADH .

Анаплеротические реакции – реакции, повышающие концентрацию интермедиатов ЦТК. Для растений характерен вход в цикл Кребса не только со стороны ацетил-КоА, но и благодаря образовавшимся в ходе реакций, представленных на рис. 3.11, малату и оксалоацетату, которые являются интермедиатами ЦТК.

Последовательность реакций цикла Кребса представлена на рис. 4.2.

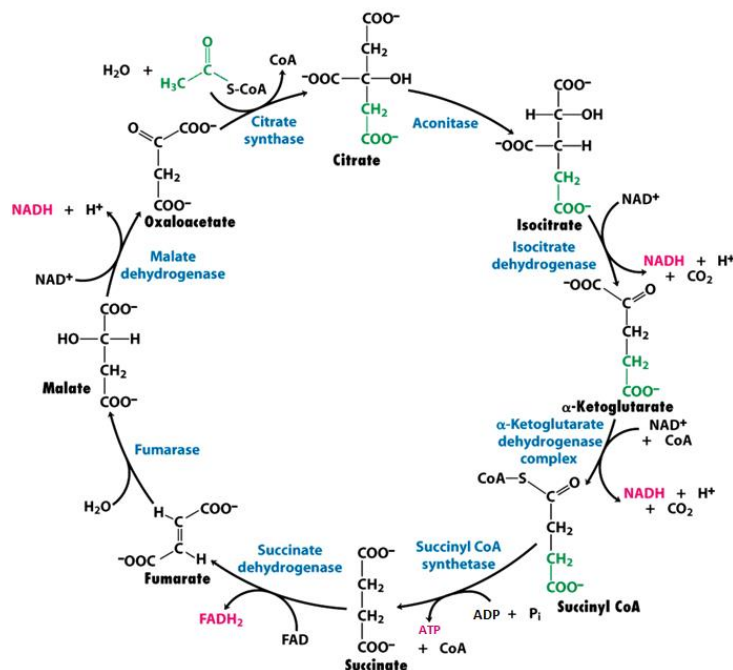


Рис. 4.2. Цикл Кребса. Судьба ацетильного остатка прослеживается благодаря выделению зелёным цветом. Это не совсем корректно ввиду симметрии молекулы цитрата. Метод меченых атомов ожидаемо показал, что вероятность окисления участка присоединенного C2-фрагмента составляет 50%.

Первым этапом ЦТК является присоединение ацетильного остатка ацетил-КоА к молекуле оксалоацетата (щавелевоуксусной кислоте) благодаря *цитрат-синтазе*. При этом образуется молекула цитрата (лимонная кислота). Необратимость реакции обеспечивается разрывом макроэргической тиоэфирной связи молекулы ацетил-КоА.

Затем фермент *аконитаза* осуществляет изомеризацию цитрата в изоцитрат благодаря реакции дегидратации с образованием ненасыщенного цис-аконитата – промежуточного соединения, которое сразу же подвергается гидратации с образованием изоцитрата.

На следующем этапе происходит окисление и декарбоксилирование изоцитрата до молекулы альфа-кетоглутарата (оксоглутарата). При этом образуется CO_2 и молекула NADH. Реакцию осуществляет фермент *изоцитрат-дегидрогеназа*.

Следующая реакция осуществляется *альфа-кетоглутарат-дегидрогеназным комплексом*, чье строение и принцип работы сходны с таковыми у пируват-

дегидрогеназного комплекса. Здесь происходит потеря скелетом одного атома углерода с образованием молекулы углекислого газа, образование NADH и присоединение к остатку кофермента А.

Образовавшаяся на сукцинил-КоА макроэргическая связь может быть далее использована ферментом *сукцинил-КоА-лигазой* (-синтетазой по старой номенклатуре) для образования другой макроэргической связи в молекуле АТФ, что является особенностью реакции в растительных клетках, тогда как у большинства животных здесь образуется ГТФ. В результате реакции образуется сукцинат (янтарная кислота).

На следующем этапе происходит окисление молекулы сукцината с переносом электронов на FAD, который присоединен к *сукцинат-дегидрогеназному комплексу*, локализирующемуся на внутренней мембране митохондрий в отличие от других ферментов ЦТК, находящихся в матриксе.

К образовавшемуся фумарату фермент *фумараза* присоединяет молекулу воды, в результате чего получается малат (яблочная кислота).

Благодаря *малат-дегидрогеназе* происходит окисление малата до оксалоацетата с образованием NADH. Здесь цикл замыкается.

Растительный ЦТК характеризуется более медленным протеканием и наличием разных режимов работы на свету и в темноте.

В ходе цикла Кребса образуются интермедиаты с различными числом атомов углерода, которые могут давать основу для синтеза многих других веществ (рис. 4.3), например, аминокислот, порфиринов, азотистых оснований и многих других.

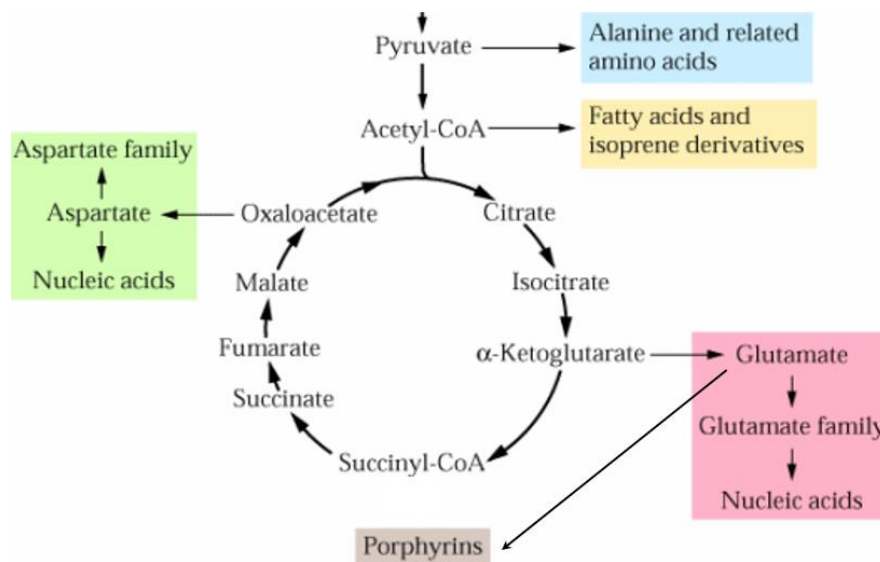


Рис. 4.3. Синтетические пути, связанные с циклом Кребса.

Кроме того, ЦТК связан с многими другими метаболическими путями, такими как гликолиз, глюконеогенез и теми, которые будут изучены далее в курсе: С4-фотосинтез и метаболизм азота.

Конверсия жиров в углеводы

Конверсия жиров в углеводы, которая практически не осуществляется в клетках животных, у растений имеет важное физиологическое значение, например, при превращении запасенных в семенах масличных растений липидов в углеводы, необходимые для построения клеточной стенки в клетках проростка.

Этот процесс включает в себя четыре этапа: гидролиз липидов, бета-окисление жирных кислот, глиоксилатный цикл и глюконеогенез. Данные метаболические пути используются не только при конверсии жиров, однако мы рассмотрим их на этом примере.

Гидролиз липидов осуществляется различными липазами, которые могут последовательно отщеплять жирные кислоты от запасенных триацилглицеридов с образованием свободного глицерола (рис. 4.4). Жирные кислоты далее вступают в бета-окисление, а глицерин – в гликолиз или глюконеогенез (в случае конверсии жиров), через образование интермедиата этих процессов – дигидроксиацетонфосфата (рис. 4.5).

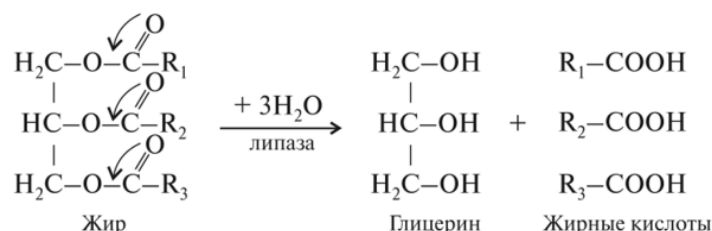


Рис. 4.4. Различные липазы могут осуществлять гидролиз триацилглицеролов.



Рис. 4.5. Процесс включения глицерола в гликолиз или глюконеогенез. Верна и обратная последовательность реакций, однако в ней дефосфорилирование глицерол-фосфата осуществляется глицерол-фосфат фосфатазой.

Бета-окисление жирных кислот (цикл Кноопа — Линена) получило свое название ввиду того, что при этом процессе происходит окисление и разрыв связи между альфа- и бета-атомами жирной кислоты (рис. 4.6). Существуют и другие пути окисления жирных кислот (альфа-, омега-окисление), которые нами рассматриваться не будут.

Бета-окисление жирных кислот у растений протекает в *пероксисомах*, в то время как у животных этот процесс происходит в митохондриях. Реакции бета-окисления изображены на рис. 4.7. В ходе данного процесса образуется FADH_2 и NADH . Жирная кислота будет вновь и вновь вступать в цикл, каждый раз теряя по два атома углерода, который будет уходить в виде ацетил-КоА, до тех пор, когда на последнем шаге из C_4

соединения (масляной кислоты) не образуется два ацетил-КоА. Таким образом, жирные кислоты являются богатейшим источником восстановительных эквивалентов и ацетил-кофермента А. Большие количества пероксида водорода, образующиеся при этом, будут удаляться с помощью фермента каталазы.

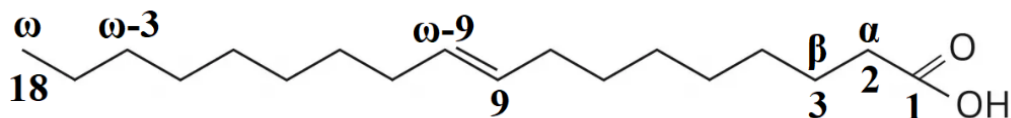


Рис. 4.6. Особенности номенклатуры жирных кислот на примере C18 жирной кислоты - олеиновой. Цифры нумеруют атомы углерода, начиная с карбоксильной группы, в то время как нумерация, основанная на буквах греческого алфавита, начинается с атома углерода следующего после карбоксильной группы. При этом, последний атом любой жирной кислоты будет обозначаться как "омега", а расстояние до него будет рассчитываться в сторону карбоксильной группы – например, олеиновая кислота является омега-9 жирной кислотой, то есть ее двойная связь располагается в 9 атомах углерода от конца.

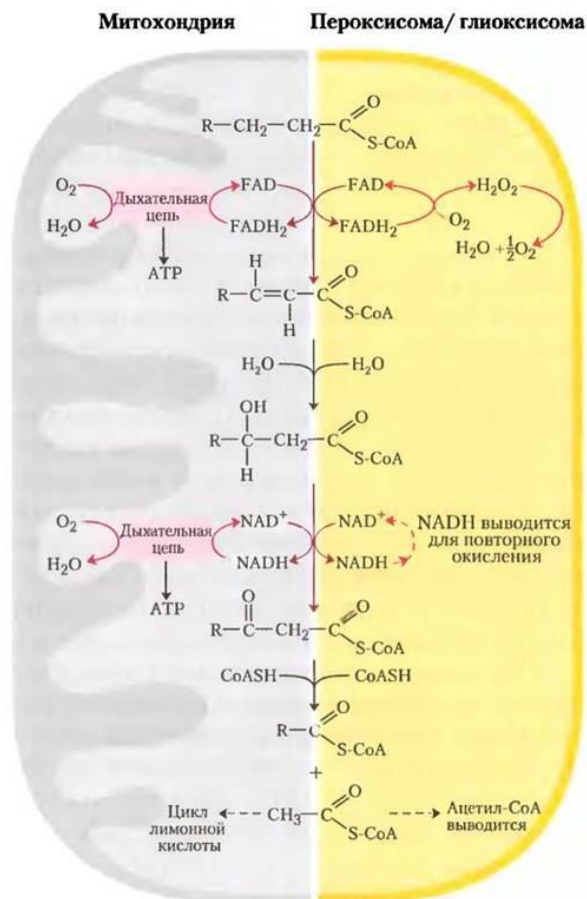


Рис. 4.7. Сравнение бета-окисления жирных кислот у животных в митохондриях и у растений в пероксисомах.

Глиоксилатный цикл (глиоксилатный шунт) может рассматриваться как шунт цикла Кребса и является важнейшим этапом конверсии жиров в углеводы. Реакции шунта представлены на рис. 4.8. Поскольку в ходе него образуется значительное количество сукцината, который может быть транспортирован в митохондрию, совокупность его реакций можно рассматривать как *анаэроботические*. Шунт протекает в пероксисомах, которые часто, в данном случае, называются *глиоксисомами*.

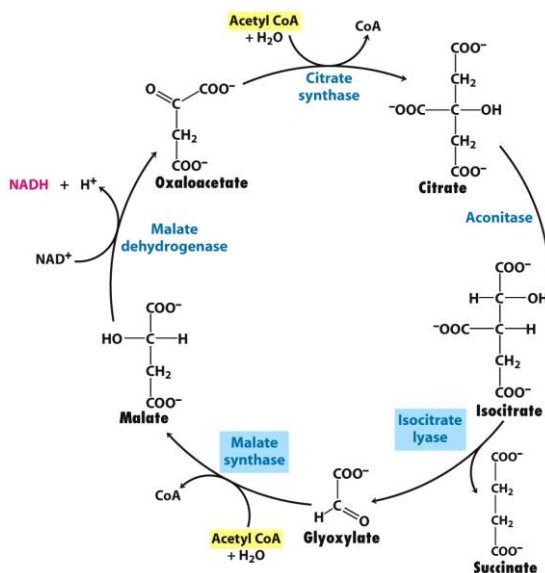


Рис. 4.8. Глиоксилатный цикл.

Процесс конверсии жиров в углеводы суммарно представлен на рис. 4.9.

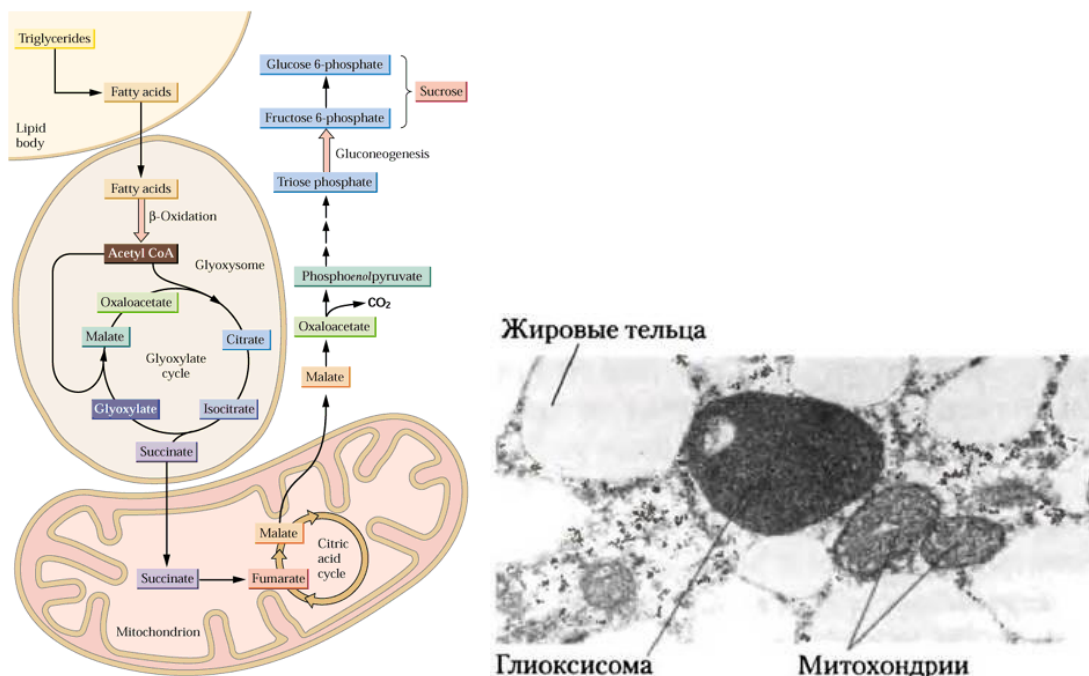


Рис. 4.9. Конверсия жиров как взаимодействие процессов, происходящих в жировых тельцах, глиоксисоме, митохондриях и цитозоле.

Лекция 5. Конечный этап дыхания – ЭТЦ

Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий – совокупность белковых комплексов и специальных переносчиков (рис. 5.1), расположенных на внутренней мембране митохондрий, осуществляющая серию последовательных окислительно-восстановительных реакций и использующая полученную энергию на работу по переносу протонов через внутреннюю мембрану (из матрикса в межмембранное пространство), создавая таким образом электрохимический градиент протонов, который может быть использован для создания молекул АТФ.

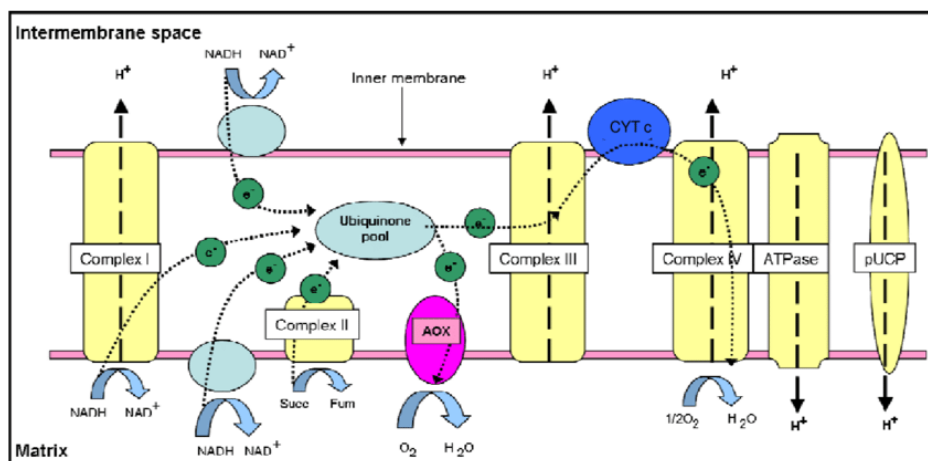


Рис. 5.1. ЭТЦ митохондрий у растений. В ходе работы белковых комплексов ЭТЦ происходит перенос протонов из матрикса (внизу) через внутреннюю мембрану митохондрий в межмембранное пространство (наверху).

Представленные белковые комплексы и мобильные переносчики содержатся в различном количестве, что обеспечивает наиболее эффективную работу ЭТЦ в целом. Можно примерно выделить следующую стехиометрию - 1 комплекс I : 3 комплекс III : 7 комплекс IV : 9 переносчик цитохром C : 50 переносчик убихинон.

Легко заметить, что **убихиноны** – липофильные молекулы, перемещающиеся во внутренней мембране (рис. 5.2, слева), содержатся в большом количестве. Их совокупность называют *пулом убихинонов* (pool – бассейн).

Другие переносчики - **цитохромы c** (рис. 5.2, справа) имеют белковую природу и перемещаются по поверхности внутренней мембраны со стороны межмембранного пространства. Цитохромы содержат гем с железом в качестве кофактора.

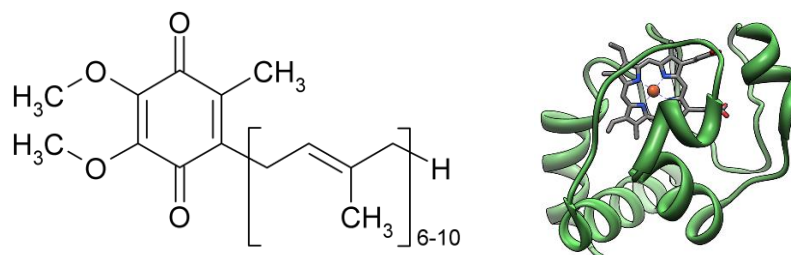


Рис. 5.2. Молекула убихинона (слева) и структура цитохрома c.

Комплекс I. NADH-дегидрогеназный комплекс

NADH – дегидрогеназный комплекс состоит из двух частей - так называемых “матриксной и мембранной руки” в зависимости от своей преимущественной локализации (рис. 5.3).

NADH передает свои электроны на “матриксную руку”, где расположен ковалентно присоединенный к белку переносчик FMN (флавиномононуклеотид), который затем переносит электроны на цепочку из железно-серных кластеров. Затем в мембранной части “матриксной руки” происходит передача электронов на двухэлектронный переносчик – убихинон, который вместе с двумя электронами захватывает из матрикса два протона.

При передаче электронов по цепи переносчиков происходит потеря энергии, которая используется “мембранной рукой” на совершение работы по переносу протонов через внутреннюю мембрану.

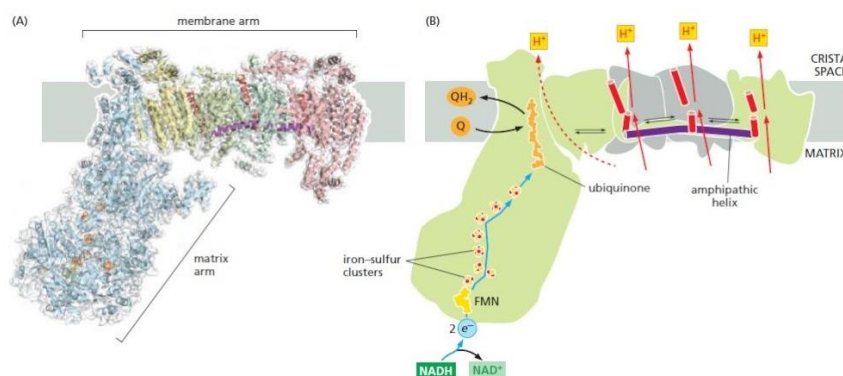


Рис. 5.3. Структура NADH-дегидрогеназного комплекса.

Дополнительные NAD(P)H-дегидрогеназы

Особенностью ЭТЦ растений является наличие NADH и NADPH дегидрогеназ как со стороны матрикса, так и со стороны межмембранного пространства. Они передают электроны с NADH или NADPH на пул убихинонов.

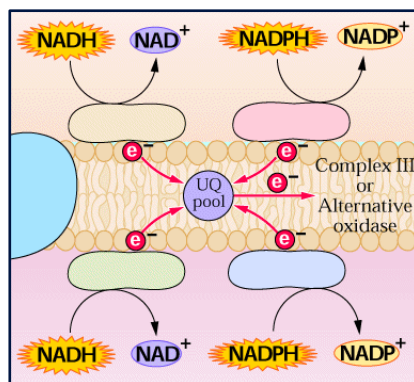


Рис. 5.4. Дополнительные NAD(P)H-дегидрогеназы.

Комплекс II. Сукцинат-дегидрогеназный комплекс

Данный комплекс уже рассматривался ранее в качестве одного из ферментов цикла Кребса, осуществляющего превращение сукцината в fumarat и являющегося единственным ферментом ЦТК, расположенным на внутренней мембране митохондрии.

При описанном превращении происходит перенос электронов на FAD комплекса, который затем переносит электроны на серию железо-серных кластеров, которые отдают электроны на убихинон (рис. 5.5). В составе комплекса также находится гем-содержащий цитохром b, роль которого пока не до конца ясна.

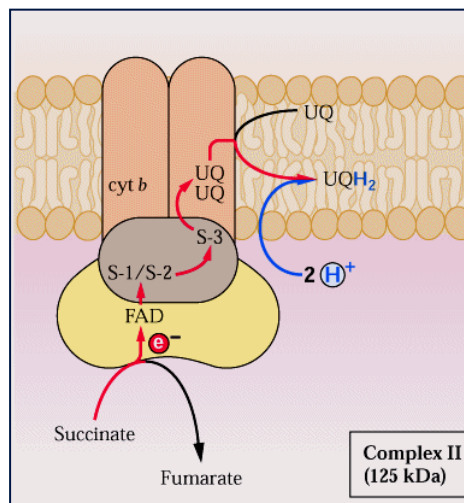


Рис. 5.5. Структура сукцинат-дегидрогеназного комплекса.

Комплекс III. Цитохром-*bc*₁-комплекс

Цитохром-*bc*₁-комплекс (убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза) представляет собой гомодимер двух белковых комплексов, каждый из которых содержит до 11 белков. Здесь содержатся цитохромы *b*, цитохром *c*₁ (которые и дали название комплексу). Ключевым белком комплекса является белок Риске, обеспечивающий процесс, известный как Q-цикл (рис. 5.6).

Первым этапом Q-цикла является перенос двух электронов с восстановленного убихинона (убихинол) на комплекс; при этом убихинон отдает взятые ранее в матриксе протоны в межмембранное пространство, участвуя в создании градиента. **Первый электрон** от убихинола попадает на железо-серный центр белка Риске, далее за счет изменения конформации восстановленного белка Риске этот электрон передается на цитохром *c*₁ и затем на мобильный переносчик цитохром *c*. **Второй электрон** от убихинола передается на гемы цитохрома *b*, чтобы затем быть переданным на другой убихинон; при этом принявший один электрон убихинон становится семихиноном.

Во втором акте новый убихинол передает электроны на комплекс, высвобождая протоны в межмембранное пространство. Вновь происходит разделение потоков электронов, один из которых помещается на второй цитохром *c*, а другой восстанавливает семихинон до убихинола (восстановленного убихинона), принимающего два протона из

матрикса. В дальнейшем полученный убихинол может претерпевать все те же превращения, что и остальные убихинолы, полученные, например, при работе NADH-дегидрогеназного комплекса.

В результате 2-х тактов работы цитохром-*bc₁*-комплекса в межмембранное пространство попадают 4 протона, восстанавливаются 2 цитохрома с и получается 1 восстановленный убихинон (QH₂) (рис.5.6).

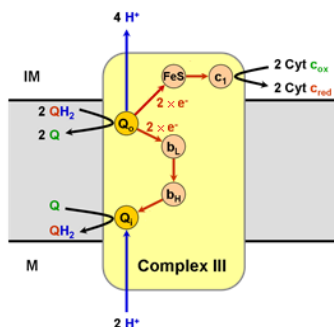


Рис. 5.6. Упрощенная суммарная схема Q-цикла.

Комплекс IV. Цитохром-оксидазный комплекс

Цитохром-оксидазный комплекс (цитохром-*a/a₃*-комплекс) осуществляет перенос электронов на кислород с образованием воды и перенос протонов из матрикса в межмембранное пространство (рис. 5.7 слева). Учитывая, что электроны на комплекс передаются с одноэлектронного переносчика цитохрома с, а кислород требует четыре электрона, чтобы быть превращенным в две молекулы воды, можно предположить, что работа комплекса является четырехтактной (требуется четыре цитохрома). Пока происходит этот процесс, существует риск образования опасных активных форм кислорода. Чтобы этого не происходило, комплекс имеет сложную систему работы, включающую в себя ионы железа и меди и остаток тирозина, удерживающие “промежуточные” формы кислорода на его пути в превращение в молекулу воды (рис. 5.7 справа).

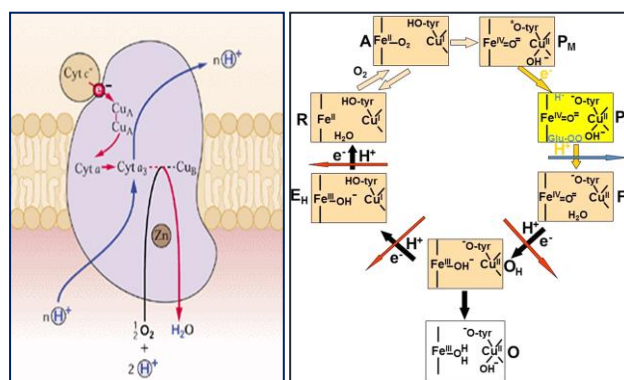


Рис. 5.7. Устройство цитохром-оксидазного комплекса (слева) и предполагаемый механизм его работы (справа).

Как и комплексы I и III осуществляет работу по переносу протонов помимо того, что использует протоны из матрикса для создания молекулы воды.

АТФ-синтазный комплекс

АТФ-синтазный комплекс – белковый комплекс, обеспечивающий синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата (P_i) благодаря использованию накопленного в ходе работы ЭТЦ протонного градиента (рис. 5.8). Состоит из множества субъединиц, часть из которых погружена в мембрану, а часть “возвышается” в матрикс.

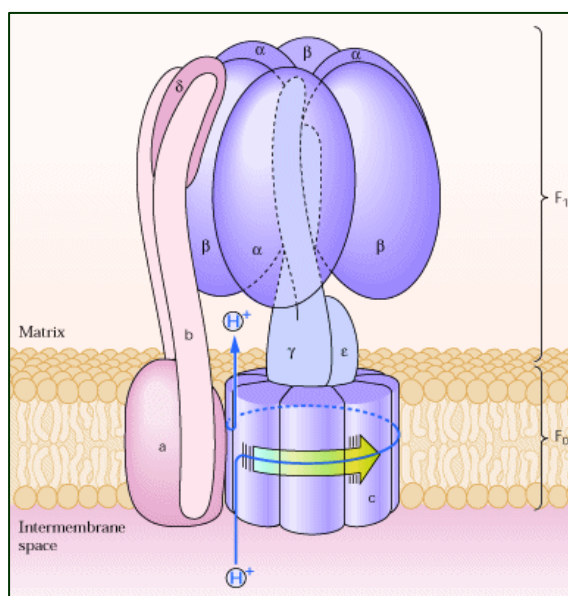


Рис. 5.8. Структура АТФ-синтазного комплекса.

Прохождение протонов через субъединицы АТФ-синтазы по градиенту концентрации используется для вращения субъединицы γ , что приводит к изменению конформации и последовательному изменению состояний каталитических центров β -субъединиц. В каждый момент времени три каталитических центра β -субъединиц АТФ-синтазы находятся в трех разных состояниях: центр связан с АДФ и P_i , центр содержит синтезированную АТФ, центр выталкивает синтезированную АТФ и принимает новые АДФ и P_i . Интересно, что АТФ-синтез тратит энергию не на синтез АТФ, а на выталкивание этой молекулы из каталитического центра. Это связано с тем, что реакция синтеза АТФ обратима и нужно потратить энергию на то, чтобы сдвинуть это равновесие “вытолкнув” синтезированную молекулу АТФ прежде, чем она разрушится.

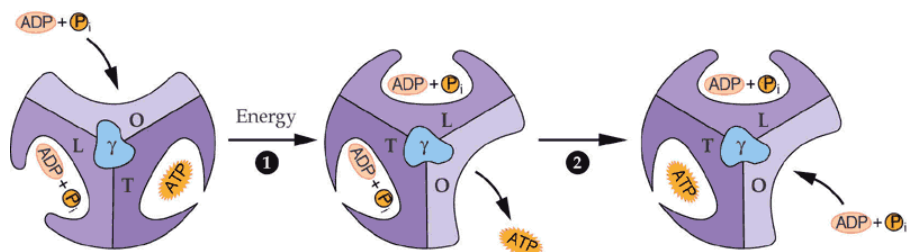


Рис. 5.9. Механизм синтеза АТФ в трёхтактной работе АТФ-синтазы.

Альтернативная оксидаза

Альтернативная оксидаза (рис. 5.10 справа) была открыта при изучении *цианид-резистентного дыхания*. Дело в том, что IV комплекс ЭТЦ блокируется действием цианидов и схожих ядов (например, азидов). Однако у растений имеется еще один, не связанный с IV комплексом путь, обусловленный наличием у них альтернативной оксидазы, на которую не действует цианид. Альтернативная оксидаза принимает электроны с убихинонов и передает их на кислород в обход III и IV комплекса (рис. 5.11) что и обуславливает низкую эффективность дыхания с ее использованием. Избыток энергии при этом диссипирует в тепло, из-за чего некоторые растения научились использовать её для термогенеза, который может, например, быть использован для привлечения опылителей за счёт улучшения распространения газообразных веществ при нагревании, как это происходит в соцветии представителей семейства Ароидных (рис. 5.10 слева).

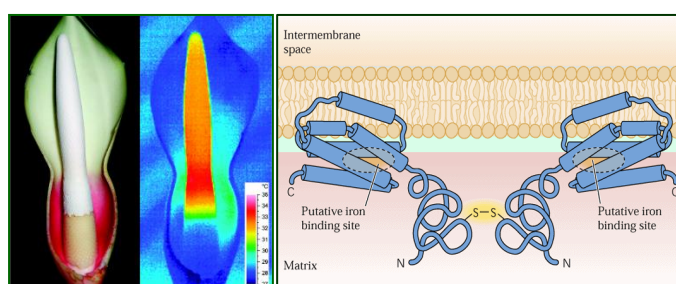


Рис. 5.10. Термогенез в соцветии представителя семейства Ароидных (слева) и структура альтернативной оксидазы (справа).

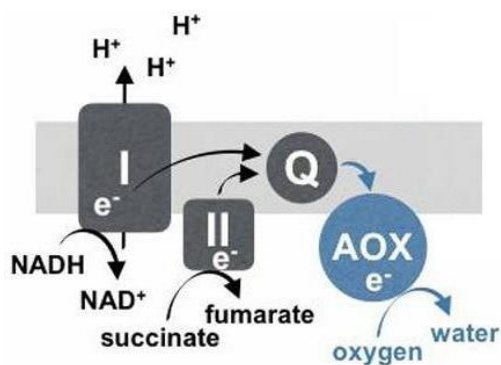


Рис. 5.11. Альтернативная оксидаза шунтирует ЭТЦ.

Таким образом, альтернативная оксидаза выполняет множество функций:

- создание альтернативного пути для переноса электронов и разгрузки ЭТЦ;
- поддержание окислительно-восстановительного баланса за счёт быстрой ликвидации избытков NADH и NADPH;
- быстрый, но неэффективный синтез АТФ в условиях стресса;
- способствует снижению активных форм кислорода;
- термогенез у некоторых групп растений.

Дыхательные суперкомплексы

Комплексы дыхательной цепи могут объединяться, образуя суперкомплексы – *респирасомы* (рис. 5.12). Объединение комплексов в единую структуру способствует более слаженной работе электрон-транспортной цепи. Так, например, снижается расстояние, на которое необходимо диффундировать переносчикам электронов.

Состав суперкомплексов может варьироваться. Изменяя состав респирасомы, можно регулировать работу ЭТЦ. В состав респирасомы как правило входят I, III и IV комплексы цепи, в то время как альтернативная оксидаза, дополнительные NADH-дегидрогеназы не встречаются в респирасомах.

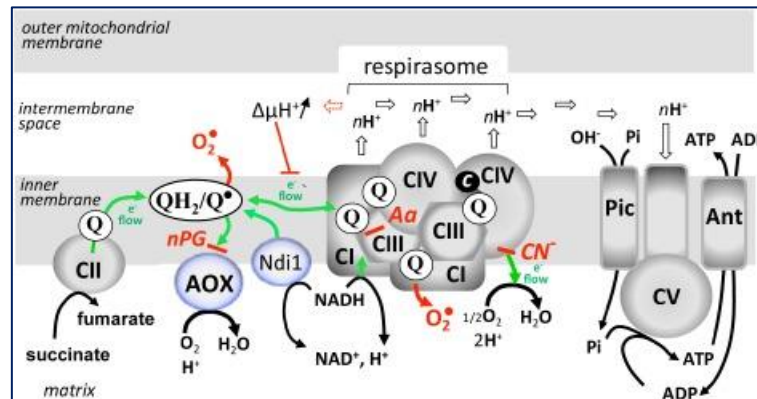


Рис. 5.12. Схема переноса электронов по дыхательной цепи в соответствии с моделью респирасомы.

Помимо респирасом в митохондриях можно обнаружить другие суперкомплексы, например, образуемые АТФ-синтазами. В данном случае, димеризованные АТФ-синтазы (рис. 5.13) могут способствовать изгибанию мембраны, в чем некоторые исследователи видят способ образования крист.

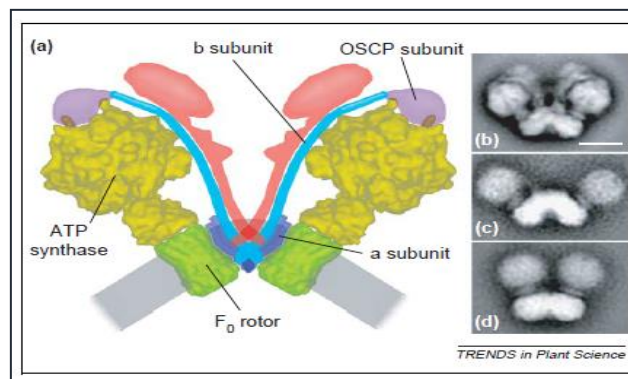


Рис. 5.13. Димер АТФ-синтаз.

Лекция 6. Пигменты фотосинтеза

Будучи автотрофами, растения способны использовать псевдонеиссякаемый источник энергии – солнечный свет, с целью преобразования этой энергии в энергию химических связей.

Хлорофиллы

Для улавливания квантов света живые организмы используют специальные пигменты. Нужно заметить, что не все пигменты, присутствующие в высших растениях участвуют в фотосинтезе. Фотосинтетическими пигментами растений являются хлорофиллы *a* и *b* и каротиноиды.

Хлорофиллы – уникальные молекулы (рис. 6.1), способные поглощать кванты света и использовать полученную энергию на проведение фотохимических реакций. Хлорофиллы способны обратимо окисляться, отдавая, а затем принимая электрон. При этом, находясь в возбужденном состоянии, хлорофилл проявляет сильные восстановительные свойства, а при потере возбужденного электрона является сильным окислителем.

Хлорофилл представляет собой замкнутый тетрапирол с атомом магния в центре (Mg-порфирин). Важными составными частями молекулы являются:

- *18-членная система сопряженных связей*, участвующая в улавливании квантов света;
- *атом магния*, определяющий симметрию молекулы и ее окислительно-восстановительные свойства;
- *пятичленное форбиновое кольцо (V кольцо)*, содержащее две важные группы – карбонильную при C9, участвующую в электронных переходах, и кетоэфирную при C10, участвующую в димеризации хлорофиллов в реакционных центрах фотосистем;
- *гидрофобный фитольный хвост*, присоединенный к тетрапирольному кольцу через сложноэфирную связь, участвующий в связывании молекулы с липофильными участками белков.

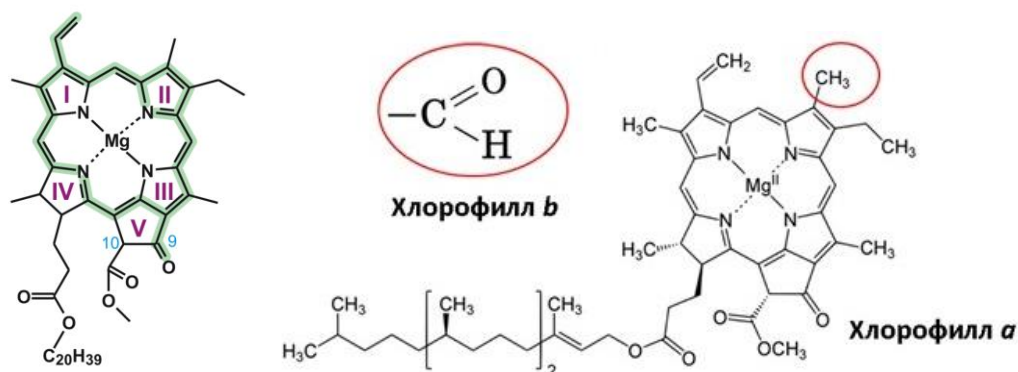


Рис. 6.1. Структура хлорофиллов.

Хлорофилл способен к обратимым фотохимическим окислительно-восстановительным превращениям и участвует в осуществлении **реакции Красновского** (рис. 6.2), которая предполагает, что димер хлорофилла *a*, представляющий собой реакционный центр фотосистем, способен переходить в возбужденное состояние под действием кванта света, передавать электрон на акцептор электрона, а затем забирать электрон от донора.

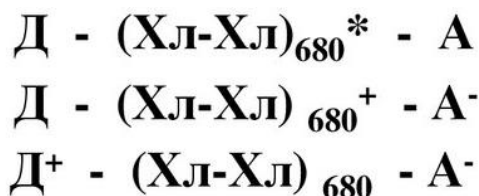


Рис. 6.2. Реакция Красновского. *D* – донор, $(Xл-Xл)_{680}$ – димер хлорофилла *a* с максимумом поглощения 680 нм, *A* – акцептор. Звездочкой указано возбужденное состояние молекулы хлорофилла.

Биосинтез хлорофилла (рис. 6.3) начинается с глутаминовой кислоты, которая превращается в *5-аминолевулиновую кислоту* (АЛК). Реакция синтеза 5-АЛК является важнейшей регуляторной точкой в синтезе тетрапиролов. Две 5-АЛК соединяются с образованием пирольного соединения – порфобилиногена. Четыре порфобилиногена образуют затем тетрапирольную структуру, в которую затем включается *ион магния* (другой фермент может включить ион железа – в этом случае будет синтезироваться молекула гема). Затем следует реакция образования хлорофиллида *a*, которая у покрытосеменных растений является *светозависимой*. На следующей стадии присоединяется фитольный хвост, и образуется молекула хлорофилла *a*, которая может окисляться с образованием хлорофилла *b*. Ввиду наличия светозависимой реакции, в темноте биосинтез хлорофилла останавливается.

Все пигменты характеризуются своеобразными **спектрами поглощения**. Пигменты фотосинтеза поглощают видимый свет, так как он характеризуется оптимальной энергией (1-3 эВ) и в большом количестве преодолевает атмосферу. Максимумы поглощения хлорофиллов лежат в области синих (400-450 нм) и красных (640-700 нм) длин волн (рис. 6.4). Максимум поглощения молекулы зависит не только от ее собственных свойств, но и от среды, которая ее окружает. Так, например, связывание молекулы с белком будет изменять спектральные свойства пигмента.

Диаграмма (схема) Яблонского демонстрирует возможные переходы между электронными состояниями молекул. Основные состояния молекул при этом изображаются толстыми линиями, а колебательные подуровни – тонкими. При поглощении менее энергизованного красного кванта света молекула хлорофилла приобретает дополнительную энергию и переходит из состояния S_0 в состояние S_1 , а при поглощении синего кванта, несущего бóльшую энергию, молекула переходит из состояния S_0 в состояние S_2 . При переходе молекулы на колебательные подуровни, часть энергии переходит в тепло, а молекула “спускается” на S_1 или S_2 уровень, соответственно (рис. 6.5).

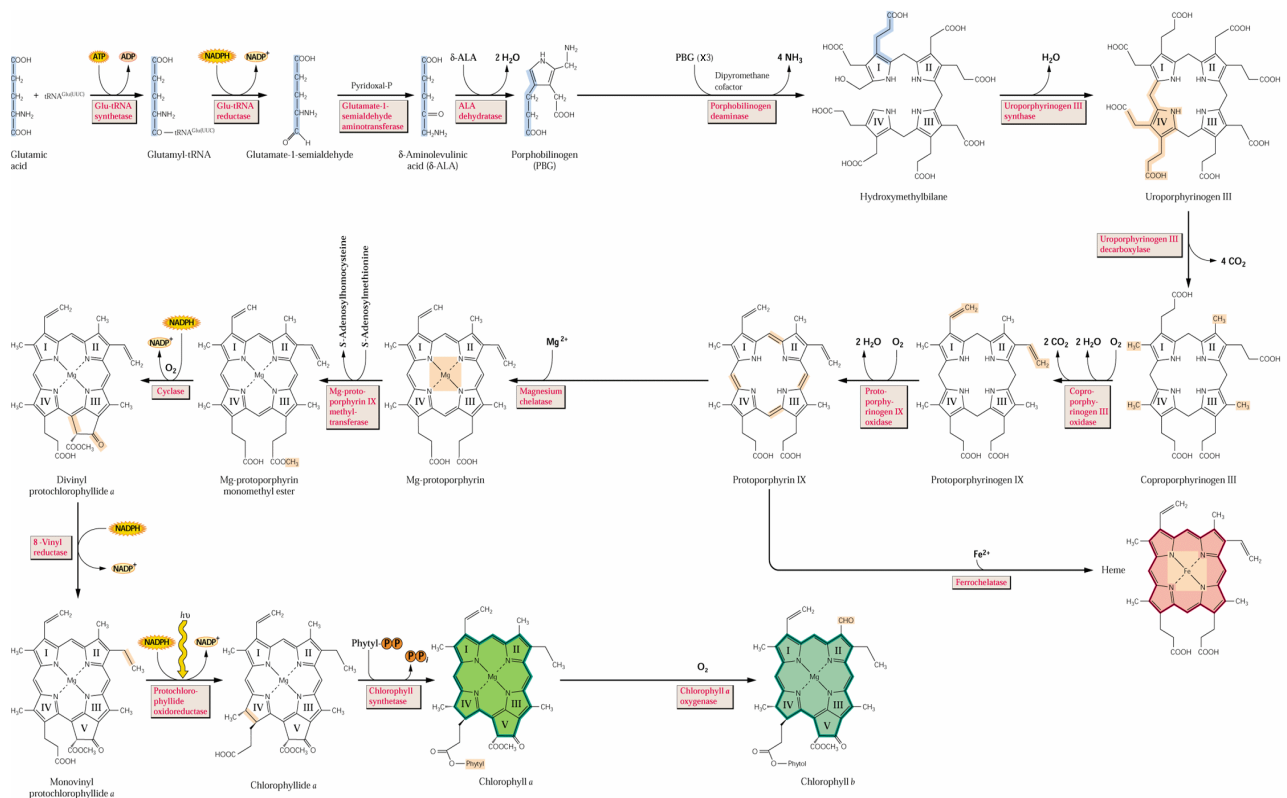


Рис. 6.3. Биосинтез хлорофиллов.

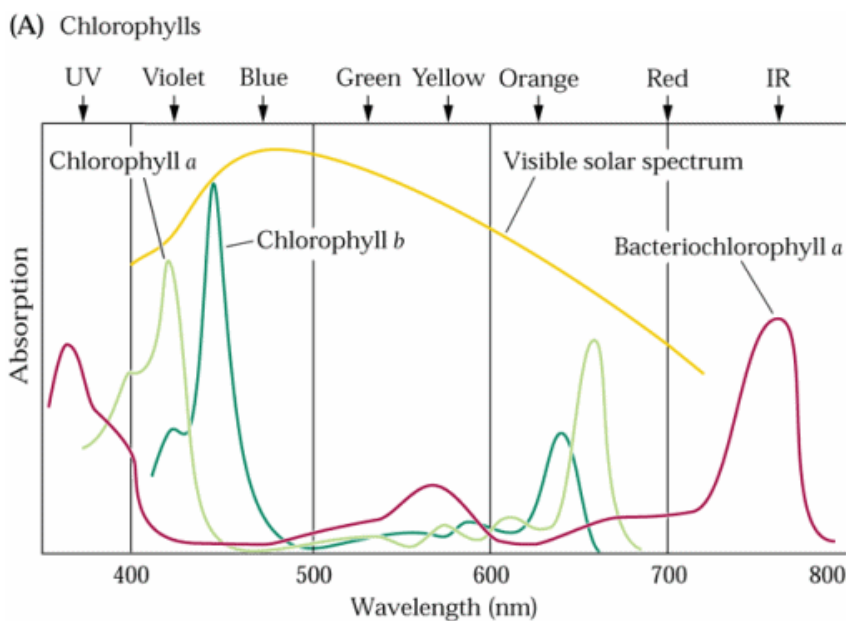


Рис. 6.4. Спектры поглощения хлорофиллов а и b, а также встречающегося в некоторых бактериях бактериохлорофилла а. Спектры поглощения демонстрируют эффективность поглощения пигментом света данной длины волны (нм). Желтой линией показана область видимого света.

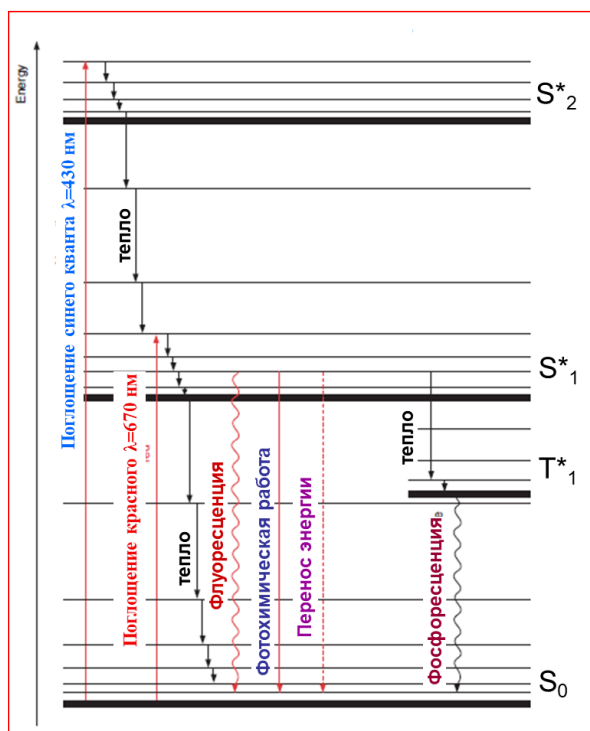


Рис. 6.5. Диаграмма Яблонского.

При улавливании хлорофиллом кванта синего света, часть энергии диссипирует в тепло, и молекула переходит из состояния S_2 в состояние S_1 . В свою очередь, из состояния S_1 в основное состояние S_0 молекула может перейти различными способами: испустив энергию в виде тепла, испустив квант света (флуоресценция), перенеся энергию на другой пигмент или совершив фотохимическую работу (реакцию Красновского). Кроме того, молекула хлорофилла может перейти в триплетное состояние T_1 , которое может потерять энергию, рассеяв ее в виде тепла или испустив квант света. В данном случае, этот процесс называют фосфоресценцией, а не флуоресценцией.

Каротиноиды

Большое химическое разнообразие каротиноидов обеспечивается различиями в строении концевых групп, где могут отсутствовать или присутствовать различные по строению кольца, различиями в количестве ненасыщенных связей, изомерии молекул и наличию или присутствию атомов кислорода.

По химической структуре каротиноиды представляют собой тетратерпеноиды, то есть молекулы, имеющие изопреноидное происхождение и содержащие 40 атомов углерода. Каротиноиды, не содержащие кислород, называются *каротинами*, а каротиноиды, содержащие атомы кислорода – *ксантофиллами*. Способность к поглощению квантов света зависит от числа сопряженных двойных связей, которые варьируются у разных молекул.

Синтез каротиноидов, как и других изопреноидов, начинается с пятиуглеродных изопентилдифосфата (IPP) и диметилаллилдифосфата (DMAPP) (рис. 6.6). Восемь таких

пятиуглеродных “кубиков” образуют молекулу фитоена (фитоина), содержащую 40 атомов углерода, которая после ряда превращений будет подвергаться циклизации с образованием бета-каротина. Бета-каротин может подвергаться окислению, при котором в молекулу внедряются атомы кислорода, с образованием ксантофилла – зеаксантина, способного превращаться во множество других ксантофиллов.

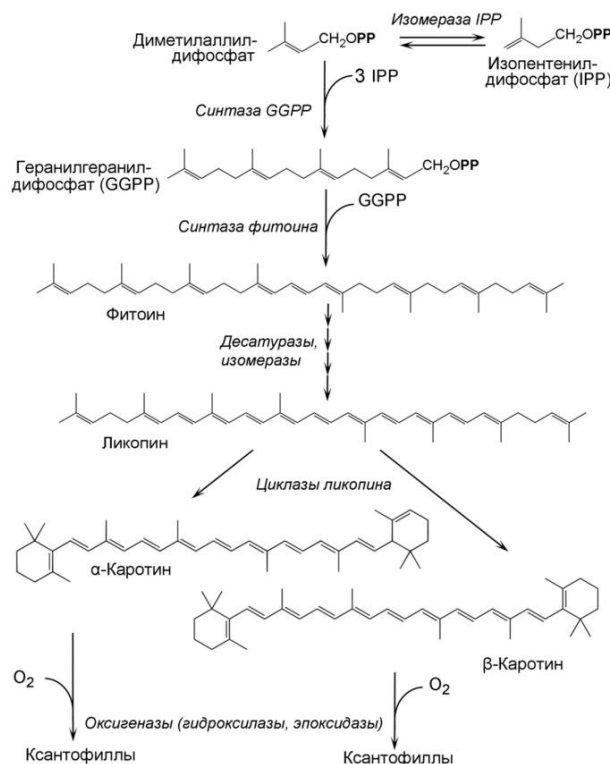


Рис. 6.6. Биосинтез каротиноидов.

Каротиноиды отличаются от хлорофиллов по спектрам поглощения (рис. 6.7). Они способны поглощать свет в недоступной для хлорофиллов зеленой области и передавать полученную энергию на хлорофилл.

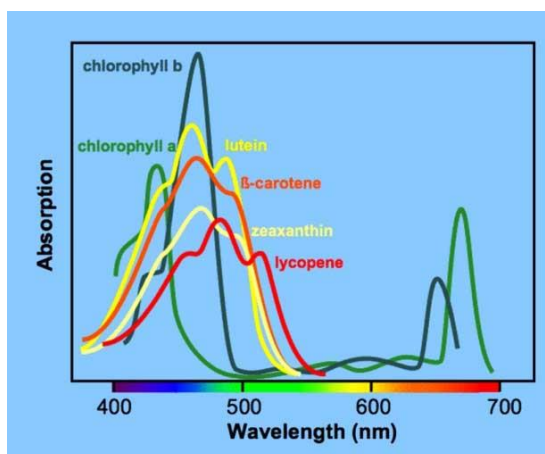


Рис. 6.7. Спектры поглощения хлорофиллов и ряда каротиноидов.

Каротиноиды выполняют огромное **разнообразие функций**. Каротиноиды - обязательные **структурные** компоненты фотосинтетических мембран хлоропластов. Они входят в состав мембран и в состав белковых комплексов. При этом, различные каротиноиды будут по-разному влиять на свойства мембран. Так, например, гидрофобные каротины растворяются в гидрофобном слое мембраны, а ксантофиллы, обладающие полярными кольцами, пересекают мембрану, придавая ей дополнительную жесткость (рис. 6.8). Таким образом, мембраны, содержащие каротины будут более текучими, а мембраны, содержащие ксантофиллы – менее текучими, что может быть полезно при повышенных температурах, которые повышают текучесть мембран.

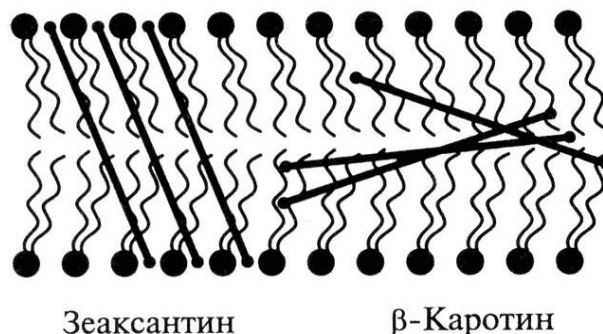


Рис. 6.8. Ориентация каротиноидов в липидных мембранах.

Кроме того, каротиноиды входят в состав белковых комплексов, где одной из их функций является поддержание стабильности белковой структуры.

Помимо структурных функций, каротиноиды выполняют множество **защитных**, оберегая фотосинтетические мембраны от ультрафиолета, высоких интенсивностей света и активных форм кислорода.

В некоторых случаях, хлорофилл, находящийся в состоянии S_1 не может совершить передачу энергии в течение определенного времени, и тогда возбуждение передается каротиноиды, которые диссипируют его в тепло (рис. 6.9.1). В противном случае, молекула хлорофилла переходит из состояния S_1 в триплетное состояние T_1 . Как и в предыдущем примере, каротиноиды принимают избыточную энергию, переходя в триплетное состояние, и диссипируют ее в тепло (рис. 6.9.2). Если же этого не произошло, то триплетный хлорофилл может вступить в радикальную реакцию. В этом случае, радикал передается на каротиноид, который подвергается деградации вместе с белковой молекулой, в которую встроен (рис. 6.9.3). Кроме того, триплетный хлорофилл может отдавать энергию на кислород. В таком случае образуется активная форма кислорода – синглетный кислород, который отличается повышенной реакционной способностью. Каротиноиды могут “гасить” это состояние и диссипировать энергию в тепло (рис. 6.9.4).

В соответствии с реакцией Красновского, после разделения зарядов хлорофилл должен получить электрон от донора. Если этого не происходит в течение длительного времени, каротиноид может пожертвовать электрон на молекулу хлорофилла (рис. 6.10).

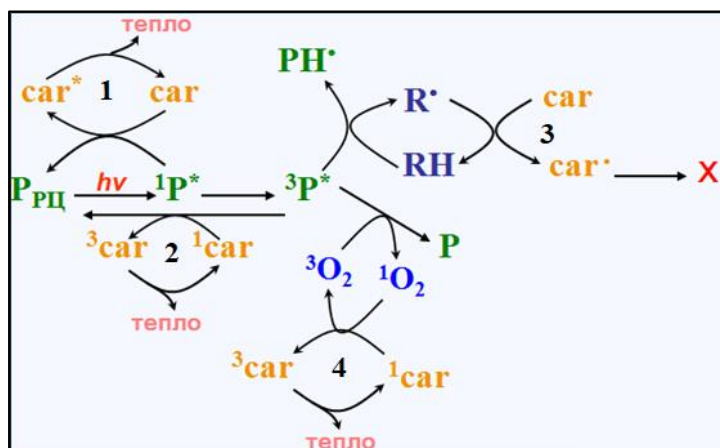


Рис. 6.9. Защитные функции каротиноидов. P – реакционный центр, содержащий молекулы хлорофиллов. Цифровые индексы обозначают электронное состояние: 1 – синглетное S_1 , 3 – триплетное T.

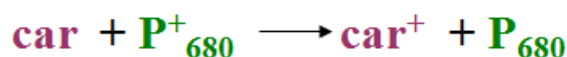


Рис. 6.10. Так называемая, “жертвенная” функция каротиноидов.

Важнейшей функцией каротиноидов является способность переноса полученной от квантов света энергии к реакционному центру. Каротиноиды способны передавать энергию на другие каротиноиды или на хлорофиллы. 99% всех хлорофиллов, находящихся на фотосинтетических мембранах, выполняют функции улавливания и переноса энергии к 1% хлорофиллов, находящихся в реакционных центрах. Важная закономерность передачи энергии между пигментами заключается в том, что, как и любой другой процесс, процесс миграции энергии должен сопровождаться потерей энергии. Поэтому энергия может передаваться от пигмента с более коротковолновым максимумом поглощения к пигменту с поглощением в более длинноволновой области, так как чем больше длина волны кванта, тем меньшую энергию он несет.

Первичные процессы фотосинтеза

Первичные процессы фотосинтеза состоят из трех этапов, различающихся по времени (рис. 6.11). Первый и самый быстрый процесс – поглощение кванта света; второй – процесс разделения зарядов между реакционным центром и первичным акцептором электронов; третий и самый медленный – передача электрона от донора на реакционный центр и от акцептора на электрон-транспортную цепь фотосинтеза.

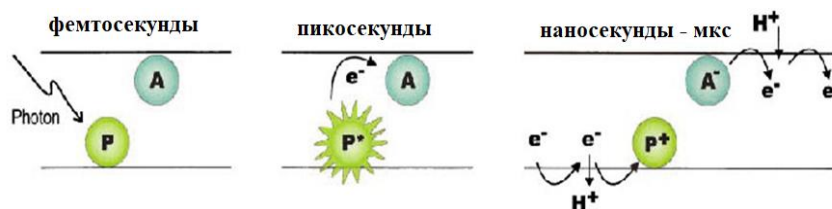


Рис. 6.11. Первичные процессы фотосинтеза.

Лекция 7. Электрон-транспортная цепь фотосинтеза Простейшие схемы фотосинтеза бактерий

Для более глубокого понимания устройства электрон-транспортной цепи у высших растений рассмотрим ряд простейших вариантов ЭТЦ у некоторых бактерий.

Пурпурные бактерии (полифилетическая группа) способны осуществлять циклический транспорт электронов в своей ЭТЦ, что позволяет генерировать протонный градиент, используемый для синтеза молекул АТФ. Но при таком транспорте электронов (рис. 7.1, слева) не происходит образования восстановительных эквивалентов, таких как NADPH.

Зеленые серные бактерии (*Chlorobiaceae*) используют фотосистему, гомологичную фотосистеме I высших растений. Фотосистема зеленых серных бактерий может передавать электроны на белок ферредоксин (Fd), который, в конечном счете, передает их на образование NADPH (рис. 7.1, справа). В рассмотренном случае, происходит синтез восстановительных эквивалентов, но не происходит синтеза АТФ (однако зеленые серные бактерии способны переходить на циклический транспорт, подобный тому, который наблюдается у пурпурных бактерий, и создавать протонный градиент). В качестве донора электронов многие зеленые серные бактерии могут использовать сероводород, который преобразуется в молекулярную серу.

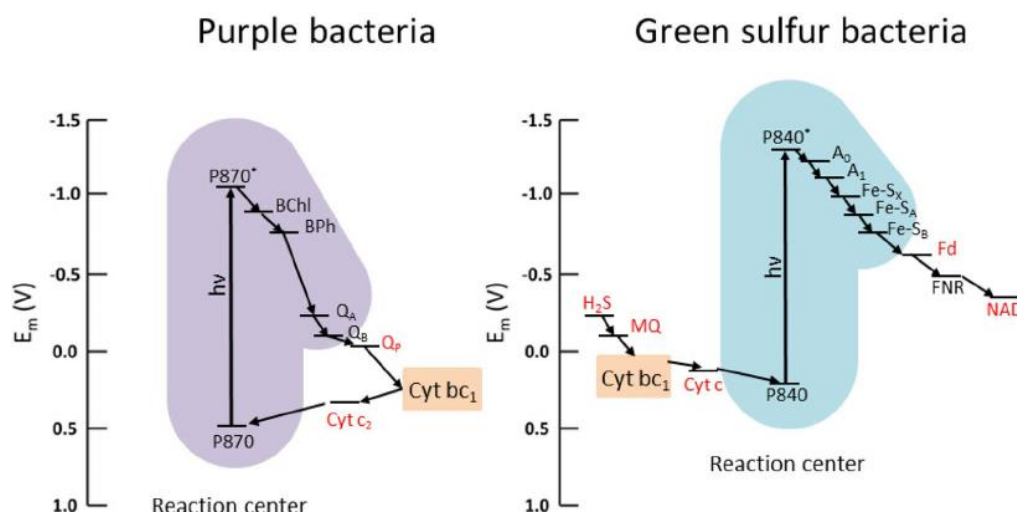


Рис. 7.1. Устройство электрон-транспортной цепи пурпурных бактерий (слева) и зеленых серных бактерий (справа). E_m – редокс-потенциал (В).

Для осуществления нециклического транспорта электронов, приводящего к синтезу восстановительных эквивалентов, организмам необходимо “выбрать” донор электронов. При этом существует ряд требований:

1. донор электронов должен быть способен передавать электрон окисленному реакционному центру (E_0' донора должен быть меньше E_0' РЦ+);
2. продукты окисления донора не должны быть слишком токсичными;

3. донор должен находиться в среде обитания организма в большом количестве и быть доступным.

Сероводород хорошо подходит по данным параметрам: его окислительно-восстановительный потенциал равен $-0,23$ В, следовательно, сероводород достаточно легко отдает электрон. Продукт окисления – молекулярная сера, легко выходит из реакционной смеси, выпадая в нетоксичный осадок. Однако сероводород в больших количествах содержится в специфических условиях, не подходящих для жизни высших растений.

Вода обладает слишком высоким редокс-потенциалом ($+0,82$ В) и очень тяжело окисляется. Продукт окисления – кислород, является сильным окислителем, что делает его достаточно опасным. Однако вода в больших количествах встречается повсеместно, что стало решающим фактором в эволюции окислительного (приводящего к синтезу кислорода) фотосинтеза.

Строение электрон-транспортной цепи хлоропластов

Энергии одного кванта света не будет хватать для окисления воды, синтеза восстановительных эквивалентов и получения АТФ. Решением данной проблемы стало создание ЭТЦ на основе двух фотосистем, которое произошло около 2,5 млрд. лет назад у цианобактерий. Устройство ЭТЦ цианобактерий и высших растений представлено на рис. 7.2 на диаграмме известной как “Z-схема фотосинтеза”.

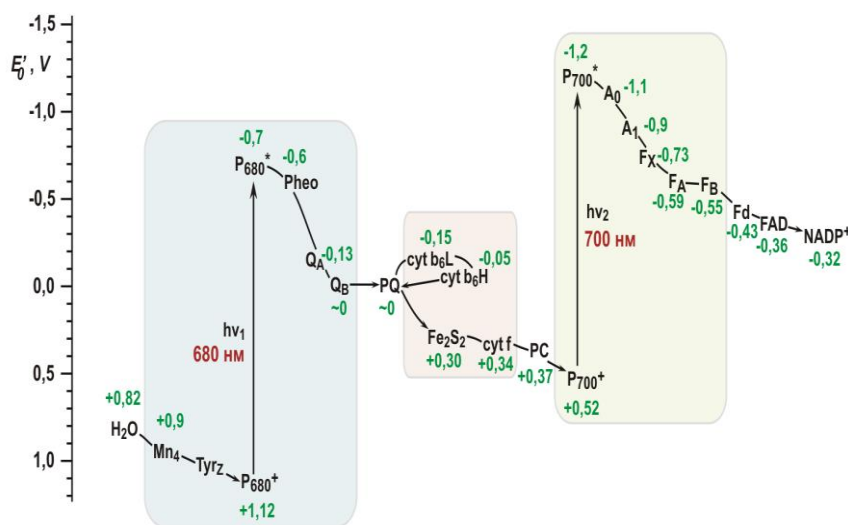


Рис. 7.2. Z-схема фотосинтеза. Диаграмма напоминает повёрнутую набок букву “Z”. Белковые комплексы, где находятся электронные переносчики, отмечены разными цветами: фотосистема II – синий, комплекс цитохром b_6/f – оранжевый, фотосистема I – зелёный. Для каждого электронного переносчика подписано значение окислительно-восстановительного потенциала.

ЭТЦ хлоропластов во многом похожа на ЭТЦ митохондрий. Для многих белков этих ЭТЦ прослеживается гомология, являющаяся доказательством эволюционного родства

систем. ЭТЦ хлоропластов локализуется на внутренней мембранной системе хлоропластов. Непроницаемая для протонов мембрана тилакоидов позволяет генерировать протонный градиент – благодаря работе комплексов ЭТЦ происходит перенос протонов из стромы хлоропластов в люмен, а АТФ-синтаза использует энергию протонного градиента для синтеза АТФ (рис. 7.3).

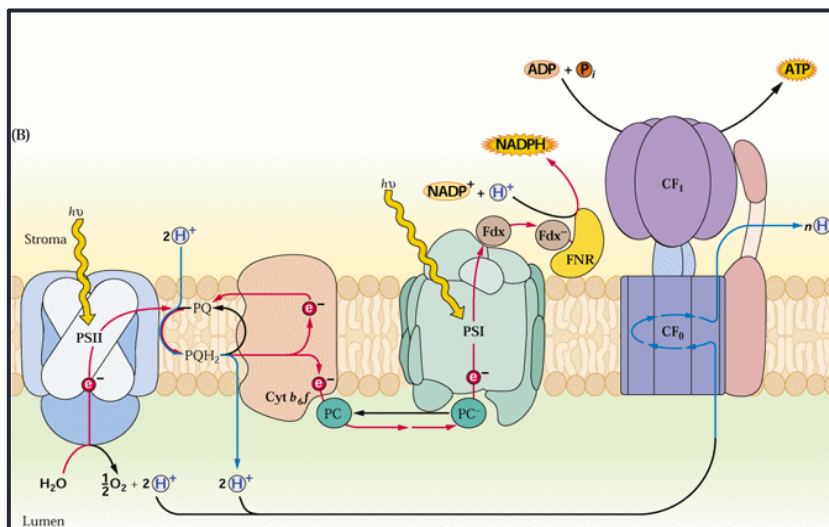


Рис. 7.3. Устройство ЭТЦ хлоропласта.

Фотосистема II (ФС II) состоит из множества белков. Ядро ФС II составляют два белка – D1 и D2. Реакционный центр ФСII – P680 представляет собой димер хлорофилла а с максимумом поглощения в красной области 680нм. Большая часть электронного транспорта в нормальном состоянии протекает на белке D1, в связи с чем он наиболее подвержен негативным эффектам, возникающим в ходе работы реакционного центра и ЭТЦ. При активной работе ЭТЦ D1-белок ломается и заменяется каждые 20 – 30 минут. Поэтому синтез белка D1 днём происходит постоянно.

Под действием света электрон реакционного центра P680 переходит в возбужденное состояние, P680 становится сильным восстановителем и возбужденный электрон переносится на первичный акцептор электрона в фотосистеме II – *феофитин*. С феофитина электрон переносится на хинон Qa, а затем на гидрофобный двухэлектронный переносчик – пластохинон (рис. 7.4). Как и убихиноны митохондрий, пластохиноны формируют пул в гидрофобной фазе липидной мембраны (рис. 7.5).

Отдавший электрон реакционный центр фотосистемы является сильным окислителем и способен отнимать электроны от молекулы воды благодаря работе *водоокисляющего комплекса*, в составе которого располагается марганцевый кластер, содержащий 4 иона марганца, способных изменять свои степени окисления (рис. 7.6, справа). В процессе *фотоокисления воды* образуется 4 электрона, способных восстановить окисленный реакционный центр 4 раза (всякий раз под действием света из реакционного центра удаляется по 1 электрону). Поэтому в опыте, где измерялось выделение молекул кислорода в ответ на действие вспышек света, молекула кислорода выделялась на каждую четвертую вспышку (рис. 7.6, слева).

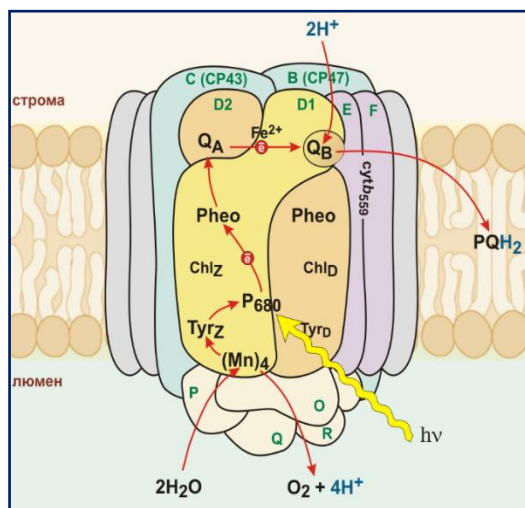


Рис. 7.4. Структура фотосистемы II.

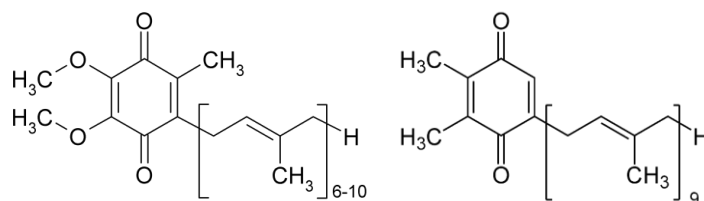


Рис. 7.5. Убихинон ЭТЦ митохондрий (слева) и пластохинон хлоропластов (справа).

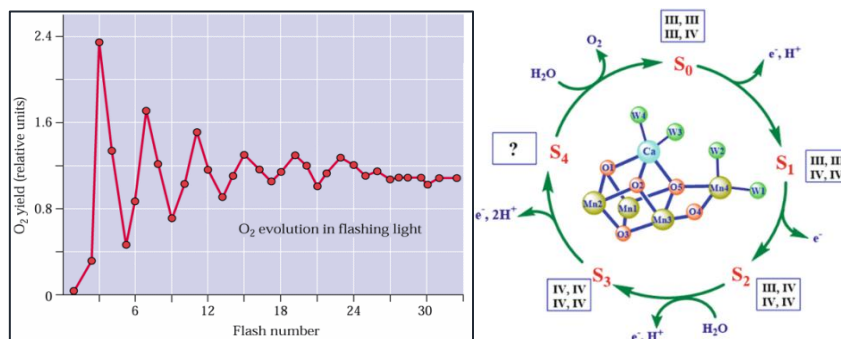


Рис. 7.6. Слева – выделение молекулы кислорода в ответ на каждые четыре вспышки света. Справа – структура марганцевого кластера и стадии его работы. Римские цифры демонстрируют изменение степеней окисления атомов марганца.

Для улучшения передачи энергии на реакционный центр фотосистема обладает системой антенн. При этом часть антенных белков остается постоянно присоединенной к комплексу, а часть представляет из себя *мобильные антенны*, способные отсоединяться от ФС II в условиях высоких интенсивностей света (рис. 7.7). Мобильные антенны так же называются светособирающими комплексами II (ССК II, или LHC II).

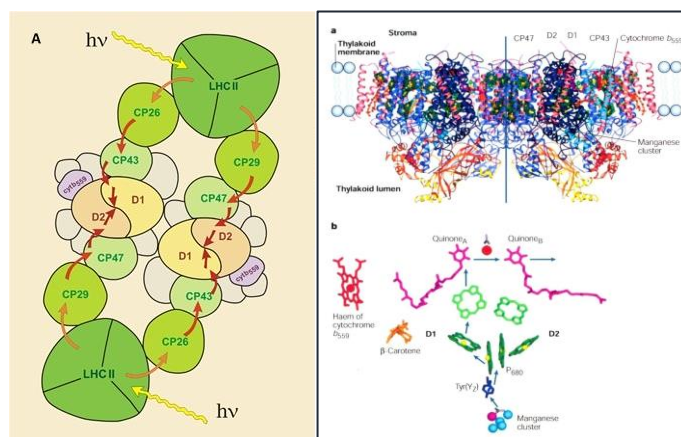


Рис. 7.7. Слева – внутренние антенны ФС II (белки CP47 и CP43), внешние антенны (белки CP29, CP26) и мобильные антенны (светособиравующий комплекс II – LHC II) – вид “сверху”. Справа – модель строения ФС II, снизу показана ориентация небелковых структур.

Пластохиноны переносят электроны на комплекс **цитохром-*b₆/f***. Здесь происходит *Q*-цикл, работающий по тому же принципу, который был описан для аналогичного комплекса в митохондриях.

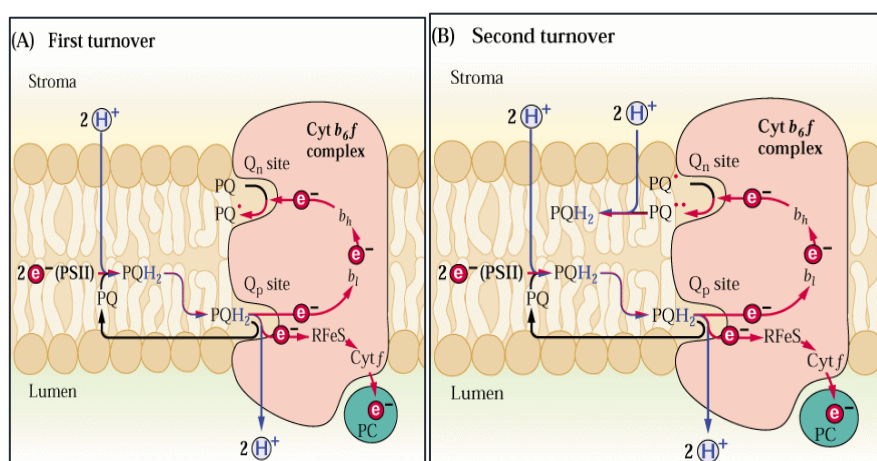


Рис. 7.8. *Q*-цикл комплекса цитохром-*b₆/f*.

С цитохромного комплекса электроны переносятся на белковый переносчик гомологичный цитохрому *c* митохондрий – **пластоцианин**, Cu-содержащий белок локализованный в люмене тилакоида (рис. 7.9). Как и цитохром, пластоцианин является одноэлектронным переносчиком и передает электрон на **фотосистему I**. Пластоцианин имеет отрицательный поверхностный заряд, а ФС I благодаря одной из своих субъединиц образует место докинга, обладающего положительным поверхностным зарядом.

Ядро ФС I образовано белками А и В, в которых работают две эквивалентные электрон-транспортные цепи. Реакционный центр ФС I – P700, димер хлорофилла а с максимумом поглощения в красной области 700нм. Первичным акцептором электронов в ФС I являются молекулы хлорофилла *a* (A₀). Следующий элемент ЭТЦ ФС I –

филлохинон, или витамин К (рис. 7.9). После ФС I электроны попадают на одноэлектронный переносчик *ферредоксин* (Fd). Фермент *ферредоксин-NADP⁺-оксидоредуктаза* передает 2 электрона от двух Fd на создание NADPH.

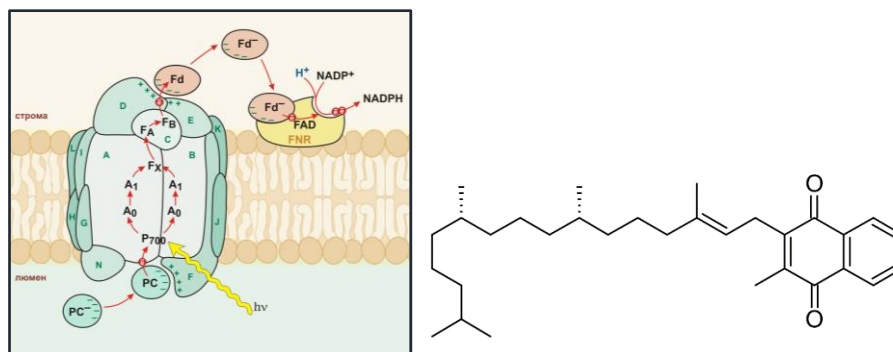


Рис. 7.9. Слева: заключительные этапы световой стадии и строение ФС I. Справа: молекула филлохинона (витамин К).

Лекция 8. Регуляция работы ЭТЦ фотосинтеза. Темновая стадия фотосинтеза

Альтернативные виды электронного транспорта

ЭТЦ хлоропласта – хорошо регулируемая растением система. В определенных условиях, например, в условиях избытка света, может происходить запуск различных альтернативных видов транспорта (рис. 8.1).

Нециклический (линейный) вид транспорта (рис. 8.1.1) был рассмотрен нами в предыдущей лекции. В ходе него происходит образование восстановительных эквивалентов (NADPH), и благодаря работе белковых комплексов генерируется протонный градиент, используемый АТФ-синтазой для синтеза АТФ.

Циклический транспорт электронов реализуется при переносе электронов с ферредоксинов на пластохиноны (рис. 8.1.2). Ферментная система, осуществляющая данный вид транспорта, изучена не до конца. В случае циклического транспорта происходит образование протонного градиента, а, следовательно, АТФ, но восстановительных эквивалентов не образуется.

Псевдоциклический транспорт включает образование активных форм кислорода, когда электроны с ферредоксинов переносятся на молекулы кислорода (рис. 8.1.4). *Реакцией Мелера* называют реакцию образования супероксид-анион-радикала при восстановлении кислорода. Образовавшаяся активная форма кислорода устраняется благодаря ферменту *супероксид-анион дисмутаза (SOD)*, при этом образуется пероксид водорода, превращаемый в воду *пероксидазой (POX)*. В ходе работы этого фермента происходит окисление аскорбиновой кислоты (AsA) до дегидроаскорбиновой кислоты (DHA).

Хлоропластное дыхание (хлородыхание) (рис. 8.1.5) обусловлено наличием двух необычных ферментов: *NDH* – дегидрогеназа, гомологичная комплексу I дыхательной цепи, забирает электроны у ферредоксина, восстанавливает пластохиноны и переносит протоны через мембрану, и *пластидной терминальной оксидазы (PTOX)*, осуществляющей перенос электронов с пластохинонов на кислород. PTOX гомологична митохондриальному ферменту альтернативной оксидазе.

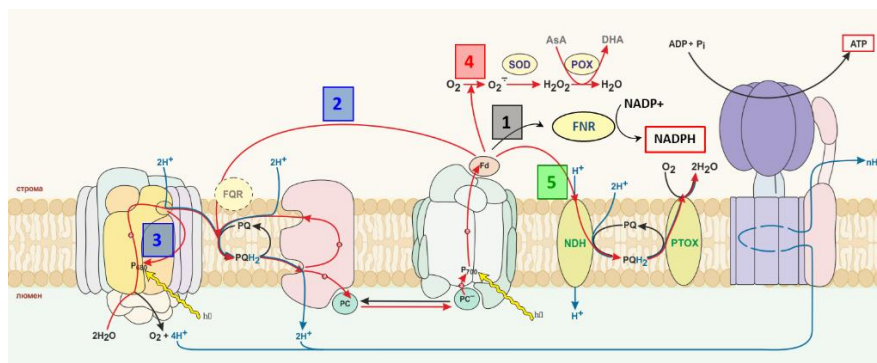


Рис. 8.1. Альтернативные виды электронного транспорта.

Помимо описанных ранее видов электронного транспорта, ЭТЦ хлоропластов может принимать участие в процессах минерального питания и регуляции метаболизма клетки (рис. 8.2).

Ферредоксин способен передавать электроны на ферменты **сульфит- и нитрит-редуктазы**, осуществляющие превращение сульфита в сульфид и нитрита в аммоний, соответственно.

Тиоредоксины – небольшие регуляторные белки, существующие в двух формах - окисленной или восстановленной. Способность участвовать в окислительно-восстановительных реакциях обусловлена обратимым образованием дисульфидной связи между двумя остатками цистеинов в белке. Восстановленная форма тиоредоксина способна отдавать электроны на другие белки, регулируя их. Тиоредоксин активирует активазу РуБисКО (рис. 8.11), ряд ферментов цикла Кальвина (рис. 8.14) и пластидную терминальную оксидазу (рис. 8.1).

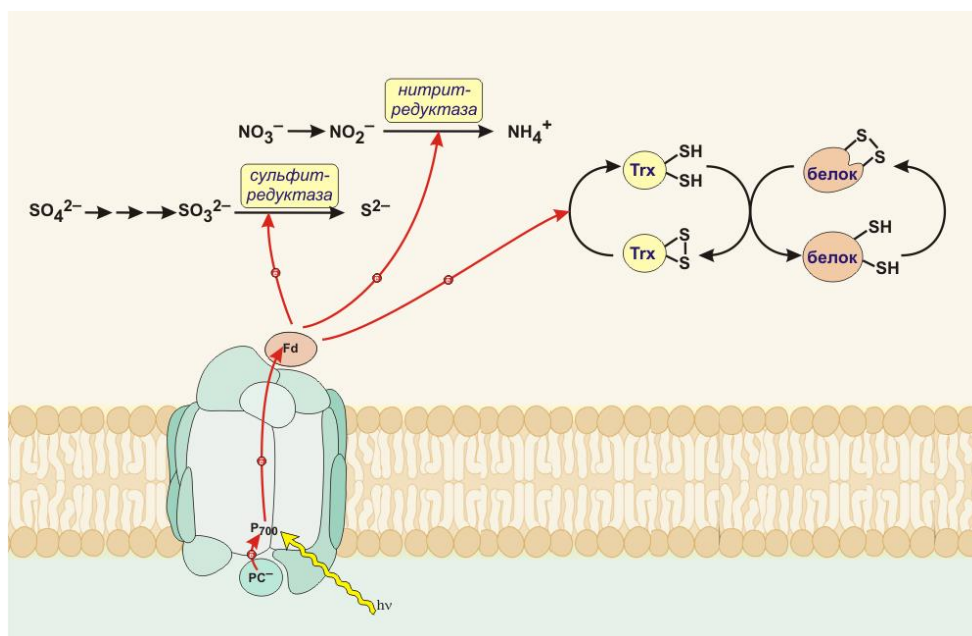


Рис. 8.2. Участие ЭТЦ хлоропласта в процессах минерального питания и клеточной регуляции.

Изменение структуры мобильной антенны

Тилакоидная мембрана характеризуется гетерогенностью распределения белковых комплексов (рис. 8.3). *Фотосистемы II* и *свето-собирающие комплексы II* располагаются в местах стекинга тилакоидных мембран и обуславливают его образование, влияя, таким образом, на образование гран. *Комплекс цитохром-b₆/f* практически равномерно распределяется по всей тилакоидной мембране. *Фотосистемы I* и *АТФ-синтазные комплексы*, обладающие крупными внемембранными доменами, преимущественно располагаются на торцевых и маргинальных сторонах мембран.

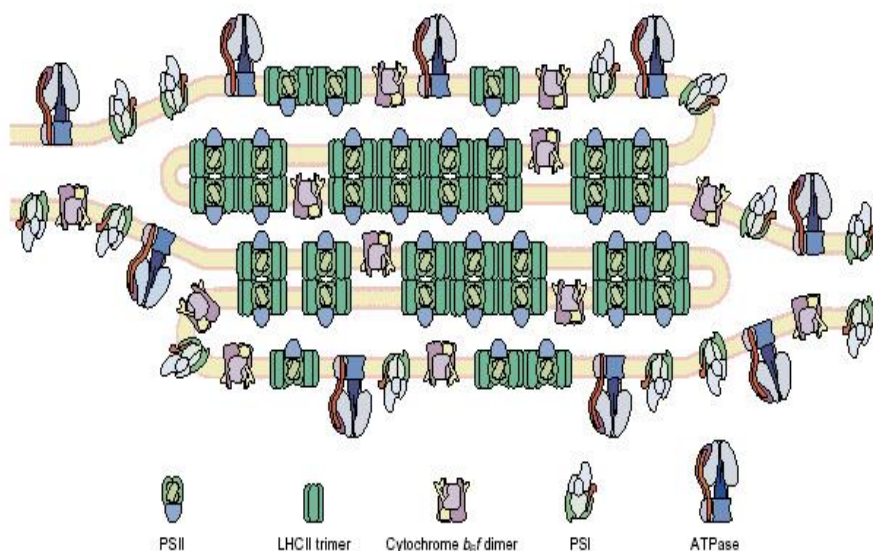


Рис. 8.3. Гетерогенная организация тилакоидных мембран.

В условиях нормального освещения тримеры светособирающих комплексов II соединены с фотосистемой II при помощи димеров белка *PsbS*, и энергия переносится с мобильных антенн в реакционный центр. В условиях переосвещенности и при закислении люмена тилакоидов *PsbS* мономеризуется и энергия перестает передаваться от тримеров ССК II (рис. 8.4).

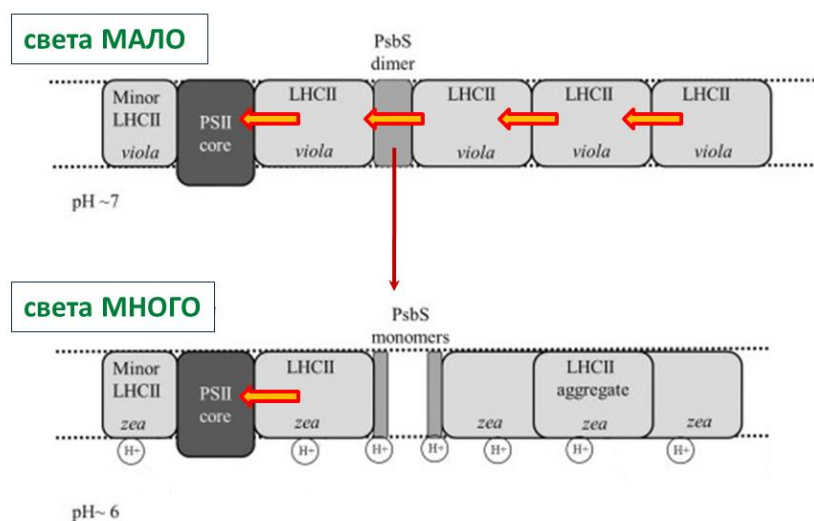


Рис. 8.4. Роль белков *PsbS* в регуляции переноса энергии от мобильных антенн.

При повышенной интенсивности освещения тримеры ССК II диссоциируют от ФС II и происходит частичное нарушение гранальной структуры тилакоидов, так как именно ССК II обуславливают образование стекингов тилакоидных мембран в гранах (рис. 8.5).

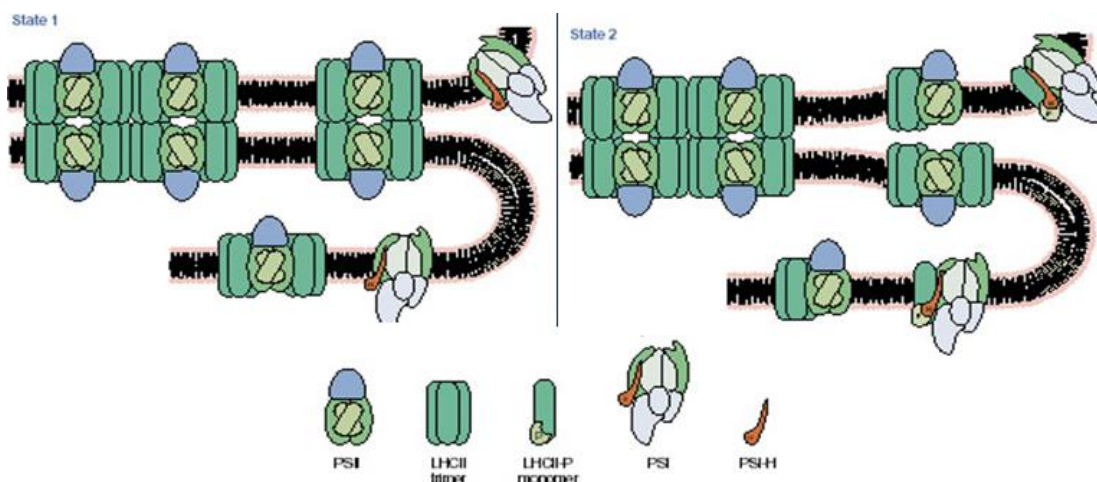


Рис. 8.5. Диссоциация тримеров ССК II от ФС II в условиях переосвещенности.

Виолаксантиновый цикл

В условиях переосвещенности в результате активной работы ЭТЦ происходит закисление люмена тилакоидов. Закисление вызывает активацию фермента *виолаксантин дезоксидазы (VDE)*, превращающего виолаксантин в зеаксантин (рис. 8.6 слева). Зеаксантин является фотопротекторным ксантофиллом, способным принимать энергию от хлорофиллов и диссипировать её в тепло (рис. 8.6 справа).

В условиях снижения освещенности закисление люмена прекращается, и активируется фермент *зеаксантин эпоксидаза (ZE)*, вносящий в молекулу зеаксантина эпоксидную группу, превращая её в виолаксантин. Виолаксантин является антенным ксантофиллом, передающим энергию на хлорофиллы (рис. 8.6 справа).

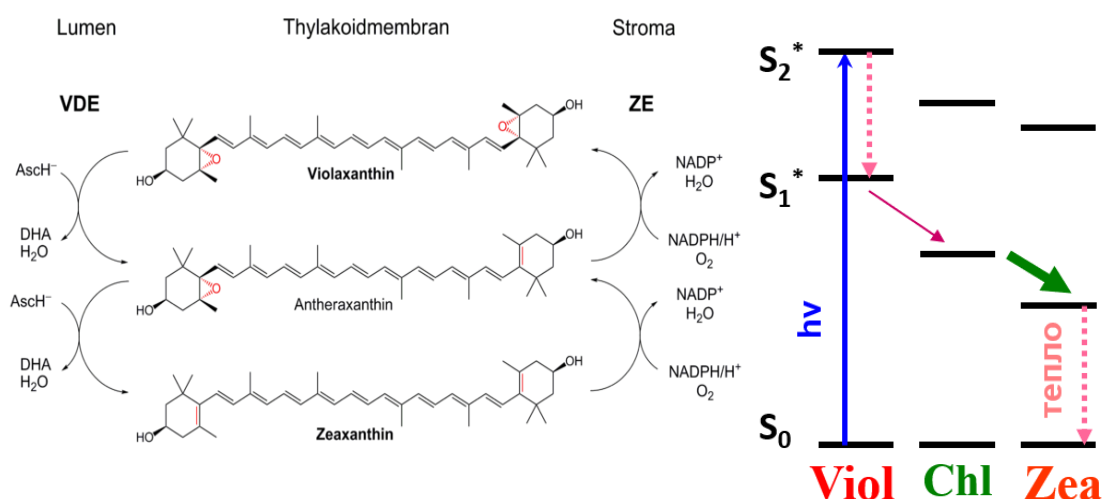


Рис. 8.6. Виолаксантиновый цикл (слева) и схема Яблонского для виолаксантина, хлорофилла и зеаксантина (справа).

Темновая стадия фотосинтеза

В 1961 году М. Кальвин (рис. 8.7 справа) получил Нобелевскую премию за открытие процессов, известных теперь как цикл Кальвина. Специальный сосуд с клетками водорослей хлорелл облучался мощными лампами накаливания. Вода, через которую пропускался свет, поглощала тепло, выделяемое лампами накаливания. Для фотосинтеза хлореллы использовали меченный углекислый газ ($^{14}\text{CO}_2$). Через определенные промежутки времени после начала освещения клетки хлореллы фиксировались кипящим этанолом. Двумерная бумажная хроматография позволила определить состав образовавшихся меченных продуктов фотосинтеза (рис. 8.7 слева).

Первое соединение, где обнаруживалась метка – 3-фосфоглицерат. Эта молекула является первым интермедиатом цикла Кальвина. Следующие продукты фотосинтеза обнаруживались при увеличении длительности эксперимента.

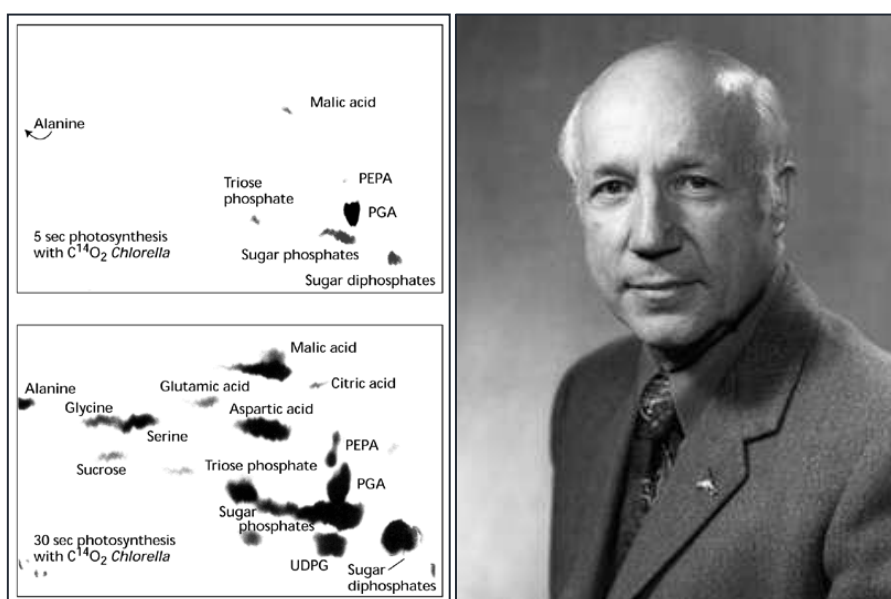


Рис. 8.7. Опыт М. Кальвина (фото справа) с использованием метода меченных атомов. Сверху – продукты фотосинтеза, синтезированные хлореллой из меченного углекислого газа спустя 5 сек; снизу – спустя 30 сек.

Цикл Кальвина представляет собой совокупность трёх блоков реакций: стадию фиксации углекислого газа, стадию восстановления 2-фосфоглицерата и стадию регенерации акцептора углекислого газа – молекулы рибулозо-1,5-бисфосфата.

Результатом цикла Кальвина является образование триозы – глицеральдегид-3-фосфата. С точки зрения стехиометрии для образования одной такой молекулы требуется три акта фиксации углекислого газа к трём молекулам рибулозо-1,5-бисфосфата.

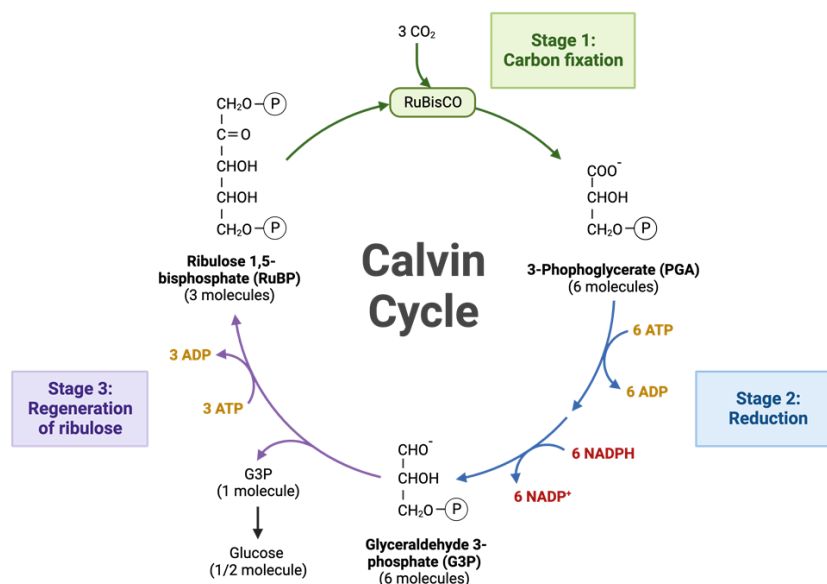


Рис. 8.8. Краткая схема цикла Кальвина и его стадий: 1) фиксация углерода, 2) стадия восстановления, 3) регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата.

Рибулзобисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа (РуБисКО) - один из ключевых ферментов цикла Кальвина, способный катализировать реакцию фиксации углекислого газа. Углекислый газ присоединяется к С-5 моносахариду – рибулозо-1,5-бисфосфату. При этом образуется С6 интермедиат, который неферментативно гидролизуется на две молекулы 3-фосфоглицерата (рис. 8.9).

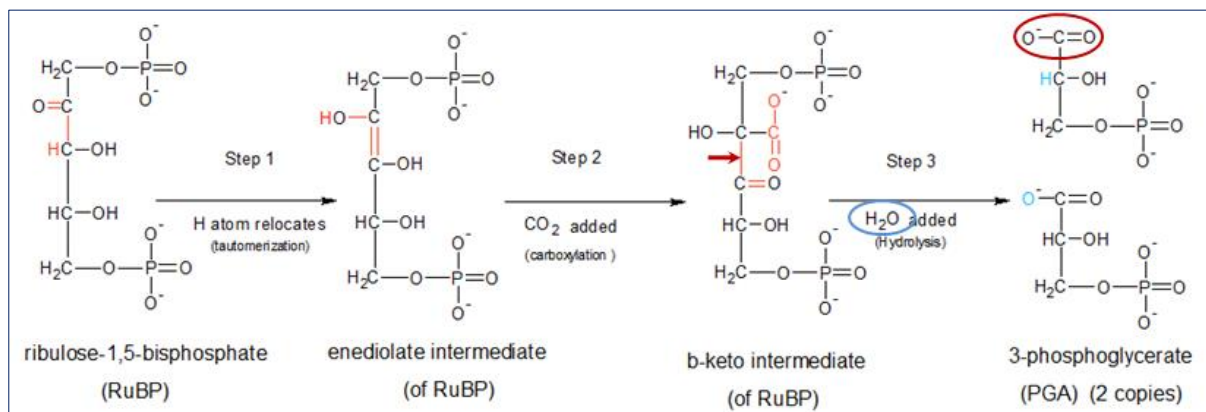


Рис. 8.9. Механизм реакции, катализируемой РуБисКО.

Вторая (оксигеназная) активность РуБисКО выражается в способности присоединять к рибулозо-1,5-бисфосфату молекулу кислорода с образованием С-3 и С-2 соединений – 3-фосфоглицерата и фосфогликолата (рис. 8.10). Описанное явление является основой процесса фотодыхания, который будет разобран на следующей лекции.

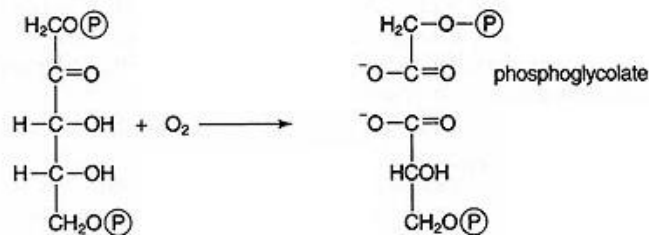


Рис. 8.10. Оксигенная активность РубисКО.

РубисКО регулируется сложной системой. В условиях освещения при работе ЭТЦ тиоредоксиновая система активирует фермент *активазу РубисКО*. Для работы фермента требуется АТФ, более того, он ингибируется при повышении концентрации АДФ. Таким образом, помимо прочего РубисКО регулируется соотношением АТФ и АДФ. Активаза вызывает диссоциацию конкурентного ингибитора РубисКО - *2-карбоксит-D-арабитинол-1-фосфата* или других молекул сахаров, «закрывающих» активный центр фермента. Далее происходит образование *карбамата* при присоединении углекислого газа к остатку лизина на РубисКО. С образовавшейся карбоксильной группой приходит ион магния, необходимый для работы каталитического центра (рис. 8.11).

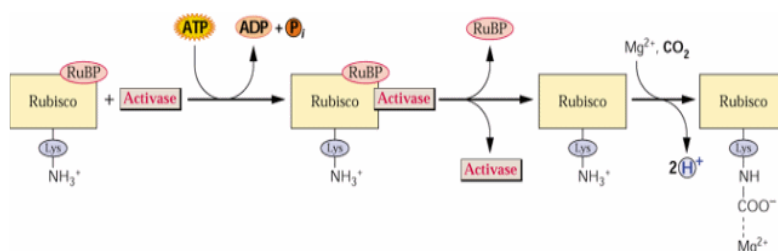


Рис. 8.11. Активация РубисКО.

Стадия восстановления представляет собой совокупность двух обратимых реакций, катализируемых фосфоглицерат киназой и глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназой (рис. 8.12), аналогично тому, как это происходит при гликолизе, но в другом направлении, т.к. происходит восстановление фосфоглицериновой кислоты (ФГК) до фосфоглицернового альдегида (ФГА).

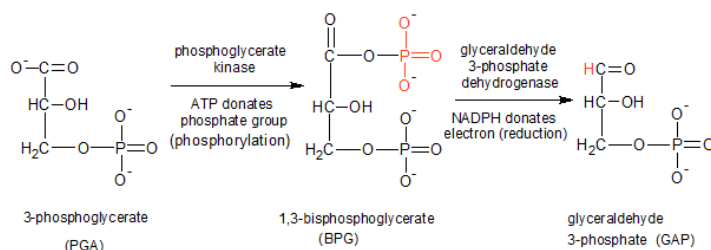


Рис. 8.12. Цикл Кальвина: фаза восстановления 3-фосфоглицерата.

Стадия регенерации рибулозо-1,5-бисфосфата представляет собой совокупность реакций, в ходе которых происходит перенос фрагментов молекул между моносахарами различного размера (рис. 8.13). Эти обратимые переносы катализируются двумя ферментами: *трансальдозазой* и *транскетолозой* (рис. 8.14). В целом, процесс напоминает стадии пентозофосфатного шунта, поэтому цикл Кальвина иногда называют *восстановительным пентозофосфатным шунтом*.

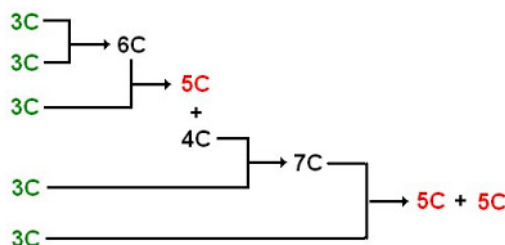


Рис. 8.13. Цикл Кальвина: стадия регенерации рибулозо-1,5-бисфосфата.

Цикл Кальвина регулируется светом через тиоредоксиновую систему, описанную ранее. Помимо участия в процессе активации РубисКО, тиоредоксин регулирует все ферменты цикла, катализирующие реакции превращения макроэргических связей, то есть глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназу, фруктозо-1,6-бисфосфатазу, седогептулозо-1,7-бисфосфатазу и фосфорибулокиназу (рис. 8.14).

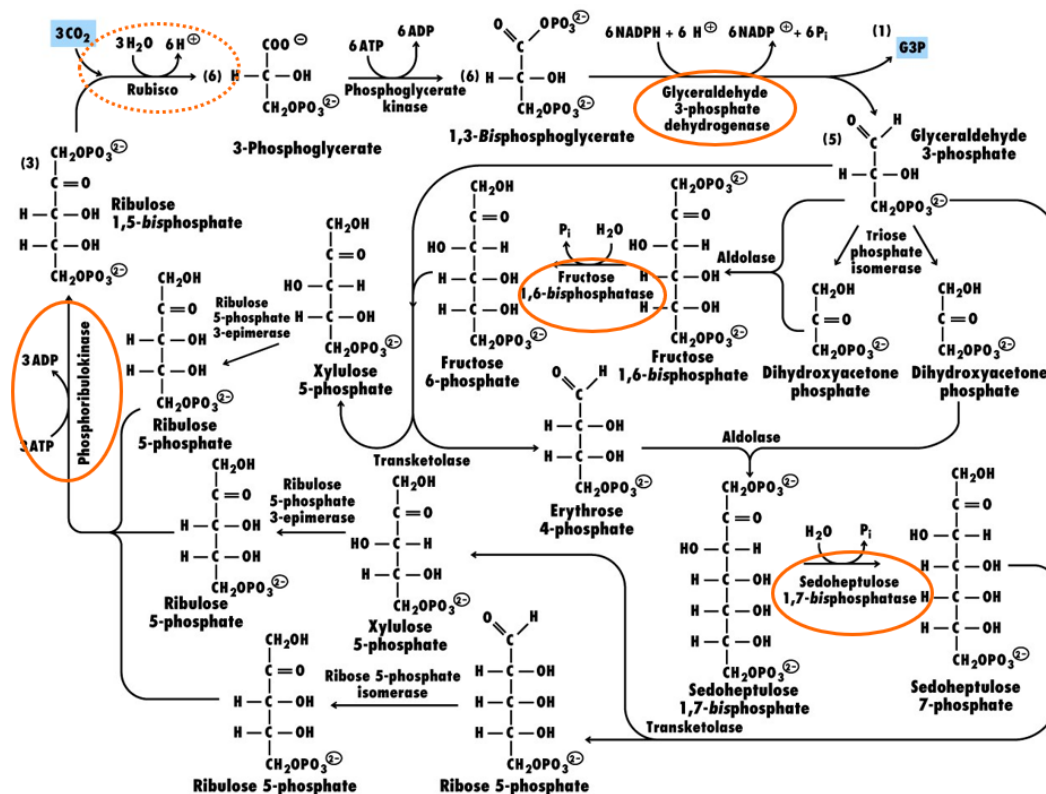


Рис. 8.14. Цикл Кальвина. На схеме выделены ферменты, регулируемые тиоредоксиновой системой.

Лекция 9. Метаболические пути, связанные с темновой стадией фотосинтеза

Конечные продукты фиксации углекислого газа

Продуктом цикла Кальвина является глицеральдегид-3-фосфат. В пластидах и цитозоле триозы могут быть превращены в гексозы по пути глюконеогенеза. В пластидах высших растений синтезируется крахмал. Для синтеза крахмала используется глюкоза, активированная присоединенным ADP (рис. 9.1). На внутренней мембране хлоропласта располагается переносчик, выносящий триозофосфаты в цитозоль в обмен на вход фосфата в пластиду. В цитозоле, как и в пластидах, формируется пул гексоз, глюкоза активируется присоединением остатка UDP. В таком виде она может быть использована для синтеза сахарозы. В дальнейшем сахароза может выходить из клетки и использоваться как транспортный сахар.

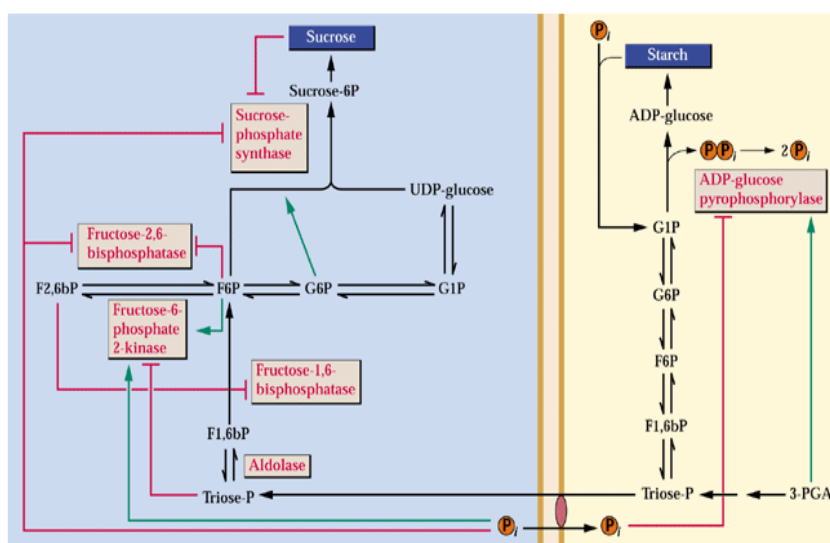


Рис. 9.1. Образование конечных продуктов фотосинтеза. Слева – цитозоль, справа – хлоропласт. Цветом обозначены системы регуляции работы подписанных ферментов.

Фотодыхание

Как уже ранее отмечалось, помимо карбоксилазной активности, РуБисКО проявляет оксидазную активность (рис. 9.2), обуславливающую явление фотодыхания. В результате оксигеназной реакции образуется C2 соединение – *фосфогликолат*. В дальнейших превращениях данного соединения участвуют три органеллы: хлоропласт, пероксисома и митохондрия, находящиеся в плотном взаимодействии, что хорошо видно на электронных микрофотографиях (рис. 9.3).

2-Фосфогликолат дефосфорилируется в хлоропласте и транспортируется в пероксисому. Там происходит образование глиоксилата, который затем переаминируется с образованием аминокислоты глицина. В митохондриях два глицина образуют C3 аминокислоту – серин. В реакции образования серина происходит потеря углекислого газа.

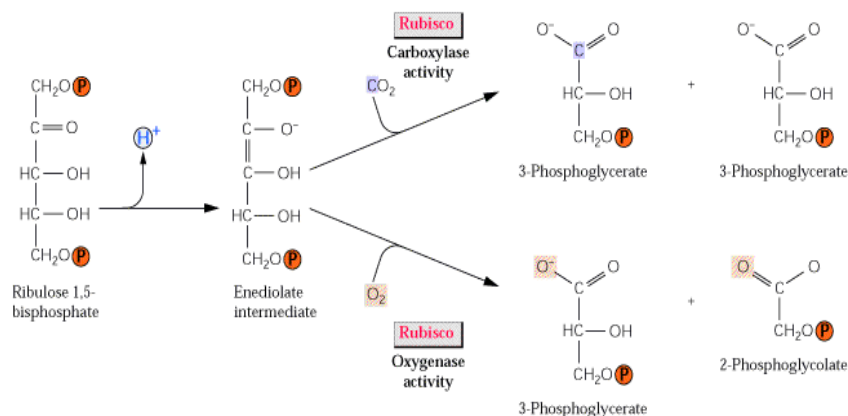


Рис. 9.2. Оксигеназная активность РубисКО (снизу) – причина фотодыхания.

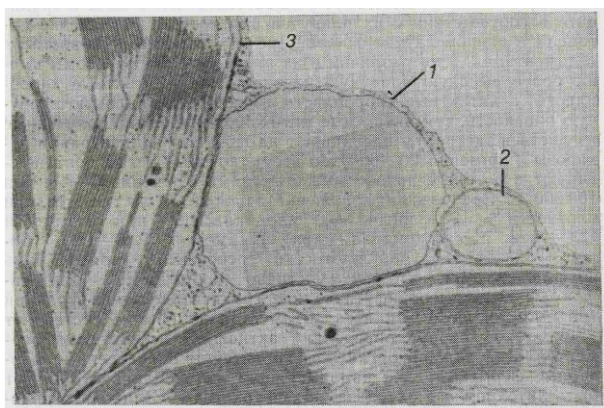


Рис. 9.3. Электронная микрофотография контактов пероксисомы (1), митохондрии (2) и хлоропласта (3) в фотосинтезирующей клетке мезофилла листа табака.

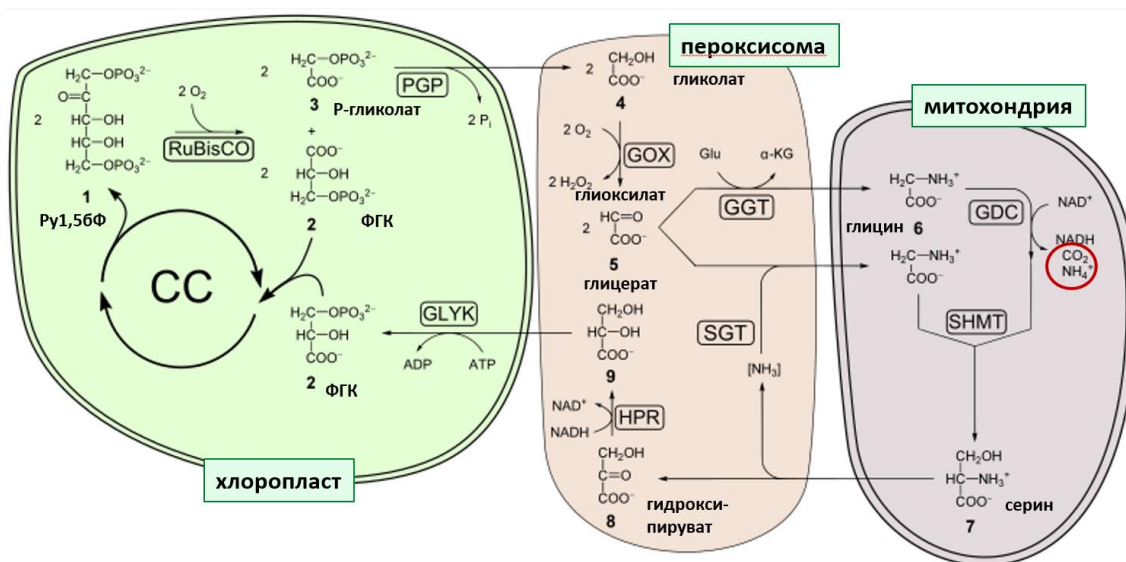


Рис. 9.4. Совокупность реакций фотодыхания, протекающих в трёх органеллах. Красным кругом выделена реакция, приводящая к “потере” молекулы углекислого газа.

Отсюда и название процесса – фотодыхание: ввиду активности РуБисКО происходит поглощение кислорода, а в реакции образования серина выделяется углекислый газ. Таким образом, вместо ассимиляции углекислого газа происходит его потеря в описанной реакции. **Компенсационной точкой фотосинтеза (углекислотный компенсационный пункт)** называют состояние, при котором скорость фиксации углекислого газа становится равной скорости потери фиксированного углерода ввиду дыхания и фотодыхания (рис. 9.11).

Интенсивность фотодыхания возрастает при увеличении температуры. Содержание кислорода в атмосфере значительно выше, чем содержание углекислого газа. При повышении температуры растворимость газов в водных растворах падает и количество углекислого газа в клетке снижается еще сильнее. Фотодыхание становится более интенсивным.

Выходом из ситуации могла бы быть эволюция РуБисКО по пути отказа от возможности осуществлять оксигеназную реакцию, но это невероятно консервативный фермент, поэтому его изменения оказались невозможными. В этих условиях многие, даже не родственные растения в ходе эволюции разработали механизмы снижения влияния фотодыхания за счет снижения локальной концентрации кислорода и повышения концентрации CO_2 в местах, где работает РуБисКО. Один из путей предполагает пространственное разделение процессов фиксации углекислого газа и работы РуБисКО – **C4-фотосинтез**. Другой – временное разделение – **САМ-фотосинтез**.

C4-фотосинтез

В 1960 г. советский учёный Ю.С. Карпилов проводил аналогичные опыту М. Кальвина эксперименты и обнаружил, что у *кукурузы* первыми образуются не C3, а C4 соединения. В 1965 г. австралийские учёные М.Д. Хэтч и Ч.Р. Слэк обнаружили, что первичным продуктом темновой стадии фотосинтеза у *сахарного тростника* является C4 соединение - оксалоацетат.

Путь Карпилова-Хэтча-Слэка (C4-фотосинтез) предполагает первичную фиксацию углекислого газа в форме гидрокарбонат-иона с помощью фермента ФЕП-карбоксилазы (рис. 9.6). В ходе реакции из фосфоенолпирувата образуется 4-х углеродное соединение, оксалоацетат, который в форме других C4-соединений транспортируется в место локализации активности РуБисКО, где происходит отщепление углекислого газа от C4-соединения.

У таких C4-растений как *кукуруза* или *просо* обнаруживается **кранц-анатомия листа** (нем. Kranz – венчик) – проводящий пучок окружён в “венчик” из *клеток обкладки проводящего пучка*, которые, в свою очередь, окружены клетками мезофилла (рис. 9.5 слева). Клетки обкладки имеют утолщенную *суберинизированную* клеточную стенку. В клетках мезофилла происходит первичная фиксация углерода, катализируемая ФЕП-карбоксилазой: ФЕП реагирует с HCO_3^- ; образуется промежуточное соединение – карбоксифосфат – активированная форма гидрокарбоната; в результате реакции образуется оксалоацетат (рис. 9.6). Далее C4-соединения транспортируются в клетку обкладки проводящего пучка, где в ходе реакции декарбоксилирования высвобождается

углекислый газ, и образуется С3-соединение, транспортирующееся обратно в клетку мезофилла. Нужно заметить, что Kranz-анатомия характерна не для всех С4-растений.



Рис. 9.5. Kranz-анатомия листа проса (слева). Различия в ультраструктуре хлоропластов ряда С4-растений.

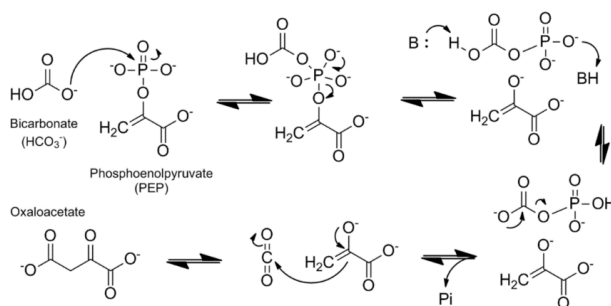


Рис. 9.6. Каталитический механизм ФЕП-карбоксилазы.

При Kranz-анатомии у некоторых растений наблюдаются также различия в ультраструктуре хлоропластов клеток мезофилла и клеток обкладки. Для клеток мезофилла характерна гранальная структура внутримембранной системы, в то время как для клеток обкладки – агранальная (рис. 9.5 справа). Как уже говорилось, целью С4-фотосинтеза является увеличение вероятности прохождения карбоксилазной реакции, катализируемой RuBisCO. Достигается это локальным повышением концентрации углекислого газа и локальным снижением концентрации кислорода. Поэтому в клетках обкладки, где функционирует RuBisCO, практически отсутствует фотосистема II, способная к выделению кислорода. Ввиду того, что образование гран вызвано слипанием светособирающих комплексов ФС II, в хлоропластах без ФСII наблюдается агранальная структура.

На основе различий транспортного С4 соединения и типе реакции декарбоксилирования выделяют три вида С4-фотосинтеза.

NADP-малатдегидрогеназный путь (рис. 9.7). В цитозоле клетки мезофилла ФЕП-карбоксилаза присоединяет к ФЕП гидрокарбонат-анион, образуется оксалоацетат. В хлоропласте оксалоацетат восстанавливается до малата. Затем *малат транспортиру-*

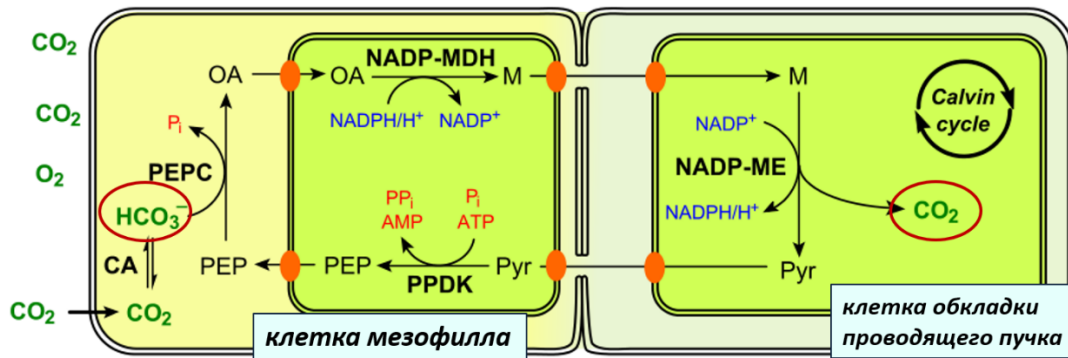


Рис. 9.7. NADP-малатдегидрогеназный тип C4-фотосинтеза.

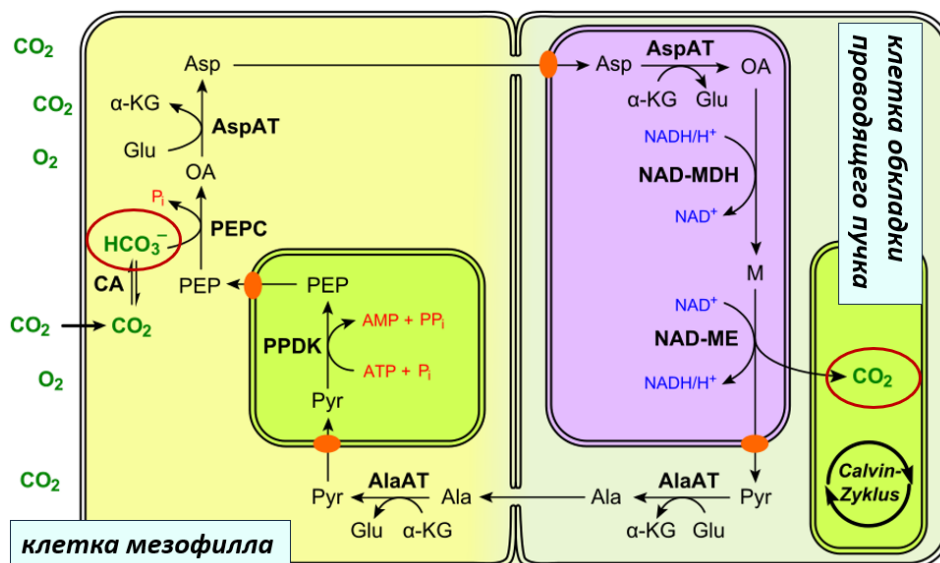


Рис. 9.8. NAD-малатдегидрогеназный тип C4-фотосинтеза.

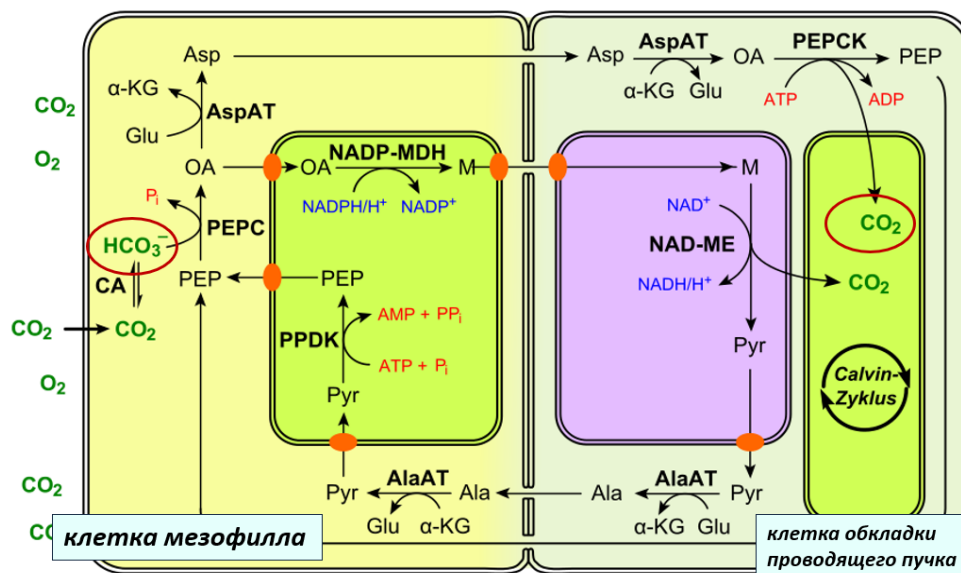


Рис. 9.9. ФЕП-карбоксикиназный тип C4-фотосинтеза.

есть в клетках обкладки проводящего пучка, где в хлоропластах подвергается окислительному декарбоксилированию ферментом *NADP-зависимой малатдегидрогеназой декарбоксилирующей* (*NADP-зависимый малик-энзим*). В результате реакции высвобождается пируват и углекислый газ, который затем используется РубисКО. Пируват транспортируется в хлоропласт клетки мезофилла, где превращается в ФЕП. Цикл замыкается.

Это первый открытый вариант *C4*-фотосинтеза, характерный для *кукурузы, сахарного тростника и сорго*. Именно этот тип фотосинтеза характеризуется *диморфизмом хлоропластов клеток обкладки и клеток мезофилла*. В то время как у некоторых представителей остаются рудиментарные граны в хлоропластах клеток обкладки (кукуруза), у других они исчезают полностью (сахарный тростник).

NAD-малатдегидрогеназный тип (рис. 9.8). В цитозоле клетки мезофилла ФЕП превращается в оксалоацетат, который затем переаминируется в аминокислоту аспарат. Именно он транспортируется в митохондрии клеток обкладки, где вновь происходит реакция переаминирования с образованием оксалоацетата. Оксалоацетат восстанавливается малатдегидрогеназой до малата, который затем декарбоксилируется *NAD-зависимой декарбоксилирующей малатдегидрогеназой* (*NAD-зависимый малик-энзим*). Образовавшийся углекислый газ диффундирует в хлоропласт, где используется РубисКО. Образовавшийся пируват же переаминируется в аминокислоту аланин, которая транспортируется в клетку мезофилла. В клетке мезофилла в ходе реакции переаминирования аланин превращается в пируват, который затем в хлоропласте становится фосфоенолпируватом. На этом цикл замыкается.

Данный путь характерен для таких растений как *просо, амарант*.

ФЕП-карбоксикиназный тип (рис. 9.9). Для данного пути предполагается несколько способов получения углекислого газа в клетках обкладки. Первый способ схож с рассмотренным ранее путем – в митохондриях *NAD-зависимый малик-энзим* осуществляет декарбоксилирование, в то время как в цитоплазме действует фермент *ФЕП-карбоксикиназа*, декарбоксилирующая оксалоацетат до ФЕП, который, по одной из версий, может быть транспортирован обратно в клетки мезофилла. Пируват, образовавшийся в митохондриях, претерпевает всю ту же судьбу, что и в *NAD-малатдегидрогеназном* пути.

ФЕП-карбоксикиназный путь *C4*-фотосинтеза исследован наиболее слабо.

В своё время научной сенсацией стало открытие у травянистых пустынных растений Борщевии (*Borszczowia aralocaspica*, по новой классификации - *Suaeda aralocaspica*) и Бинерции (*Bienertia cycloptera*) ***C4*-фотосинтеза, протекающего внутри одной клетки** в отсутствие Kranz-анатомии. Возможность прохождения данного пути в клетках обусловлена особой внутриклеточной локализацией двух типов хлоропластов. За счёт их особого относительного расположения создаются специальные компартменты, где могут протекать различные стадии пути (рис. 9.10).

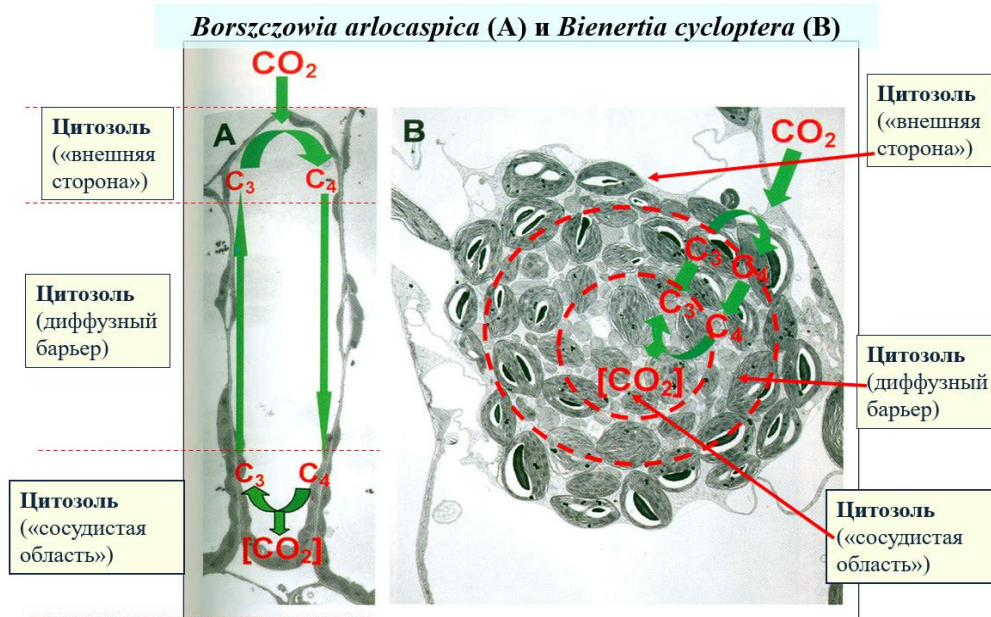


Рис. 9.10. Электронная микроскопия со схемой C4-фотосинтеза, осуществляемого внутри одной клетки.

Экологические аспекты C4-фотосинтеза. Как уже стало понятно, в целом, C4-фотосинтез наиболее распространён в аридных зонах – жарких с сухим климатом. Действительно, при обычных концентрациях углекислого газа эффективность фотосинтеза у C4-растений выше (рис. 9.11 слева) и потери воды ниже (C3 – 450-950 г/Гсух.массы и C4 – 250-350 г/Гсух.массы). Однако при температурах, характерных для умеренных широт, эффективность фотосинтеза выше у C3-растений (рис. 9.11 справа). Именно поэтому C4-растения доминируют в аридных зонах, а C3 – в умеренных широтах (рис. 9.12).

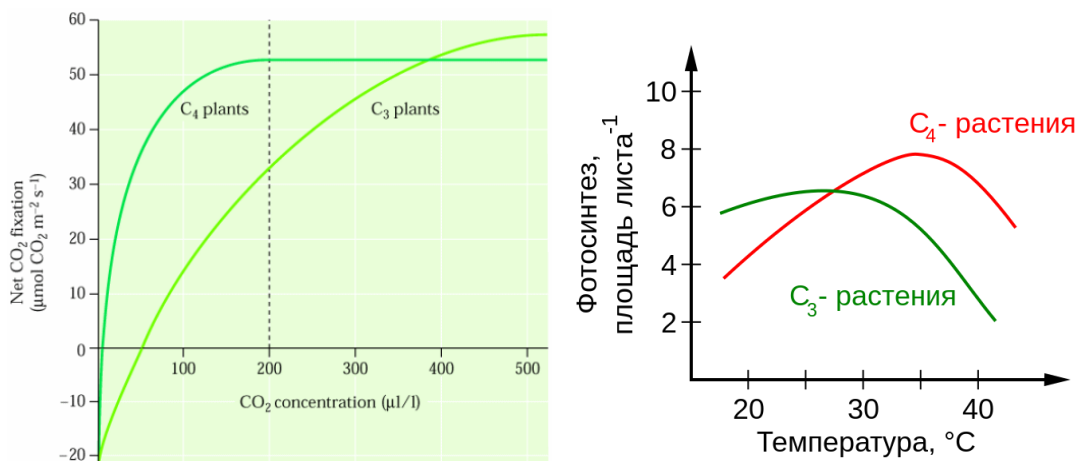


Рис. 9.11. Слева - зависимость скорости фиксации углекислого газа от его концентрации у C3- и C4-растений; углекислотный компенсационный пункт – место пересечения графиков с осью x. Справа – зависимость эффективности фотосинтеза от температуры.

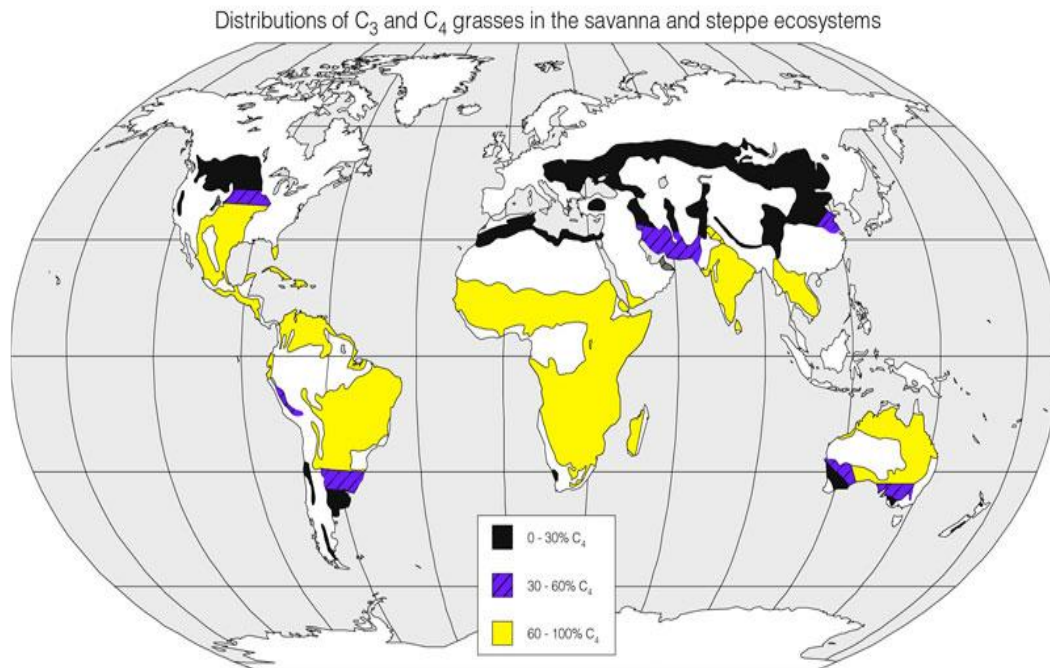


Рис. 9.12. Доля C_4 -растений в различных частях планеты.

САМ-фотосинтез

Как и C_4 -фотосинтез, САМ-фотосинтез характерен для ряда родственно несвязанных растений. Если C_4 -фотосинтез реализует идею пространственного разделения процессов первичной фиксации углекислого газа и работы РубисКО, то САМ-фотосинтез завязан на временное разделение.

Crassulacean acid metabolism (САМ), или метаболизм кислот по типу Толстянковых, характерен не только для Толстянковых, но и многих других групп растений, в том числе плауна полушника, ряда папоротников и голосеменных. Всего САМ-фотосинтез встречается в 38 семействах высших растений.

Ночью, когда возможно открытие устьиц без угрозы потери воды, углекислый газ заходит в клетки и присоединяется к ФЕП с образованием оксалоацетата уже знакомой ФЕП-карбоксилазой (рис. 9.13). Оксалоацетат восстанавливается в малат, который накапливается в вакуолях. Утром, когда устьица закрываются, малат начинает выходить из вакуолей и транспортируется в хлоропласт, где происходит окислительное декарбоксилирование *NADP*-зависимым малик-энзимом. Образовавшийся углекислый газ используется РубисКО.

Возможности запасания малата в вакуолях ограничены. На свету он весь преобразуется в пируват уже в первой половине дня. Этот факт объясняет причину такого медленного роста САМ-растений, обладающих низкой эффективностью набора биомассы. Однако следует заметить, что в жарких и сухих условиях, а также в сильно нагреваемых водоемах (где из-за повышения температуры падает концентрация углекислого газа) такая стратегия оказывается эффективной.

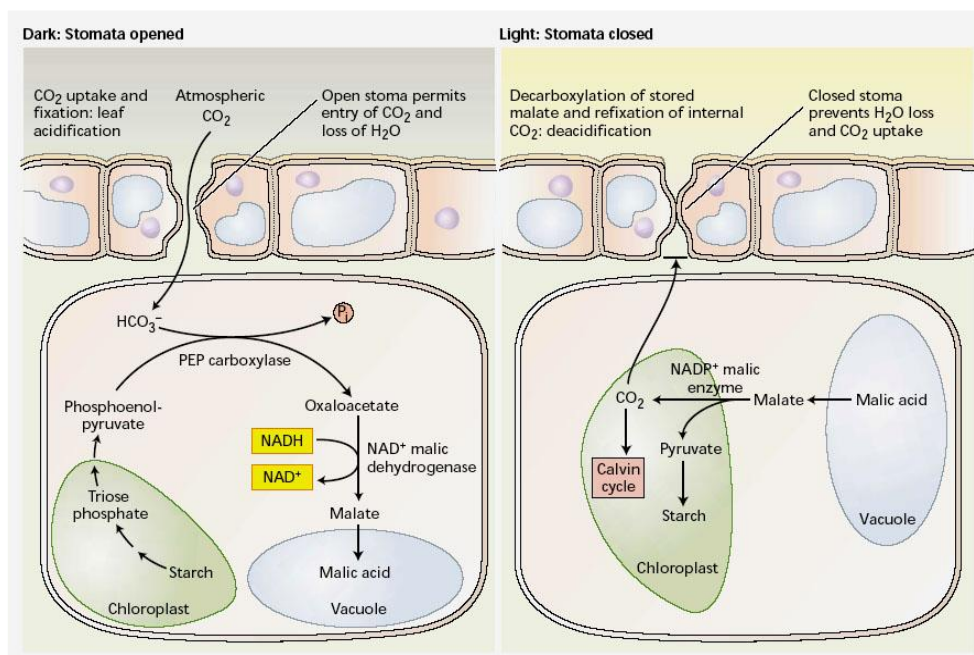


Рис. 9.13. САМ-фотосинтез: в темноте (слева), на свету (справа).

В условиях, когда даже ночь характеризуется повышенной температурой, САМ-растения не могут открывать устьица даже ночью. В таком случае метаболизм может работать “вхолостую” – растение использует лишь тот углекислый газ, который образуется в ходе дыхания (рис. 9.14).

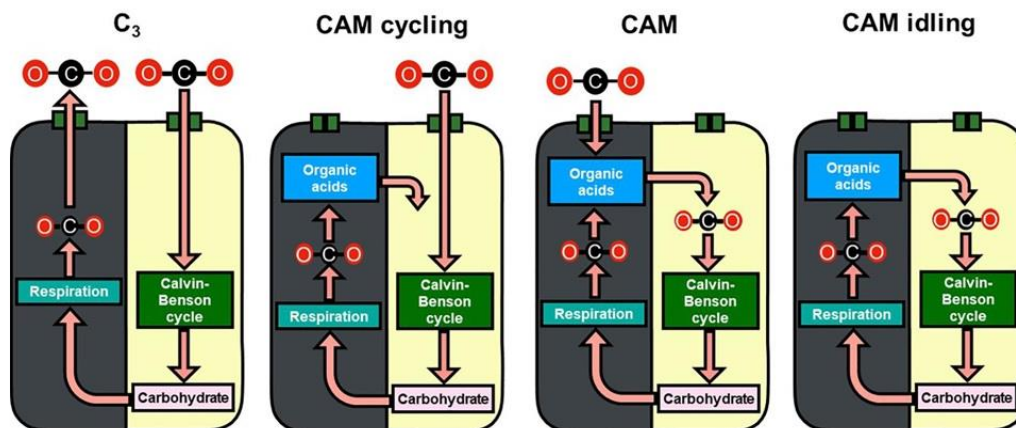


Рис. 9.14. Спектр вариантов фотосинтеза, степень засушливости увеличивается слева направо. Темный фон – дыхание, протекающее ночью, светлый – дневная фиксация углекислого газа.

Нужно заметить, что ряд растений может переключаться между С₃- и С₄-фотосинтезом, С₃- и САМ-фотосинтезом и даже С₄- и САМ-фотосинтезом в зависимости от условий среды.

Лекция 10. Транспорт веществ в клетке

Транспорт ионов в клеточной стенке

Элементы клеточной стенки, как обсуждалось ранее, образуют поры различного диаметра. Средний диаметр пор клеточной стенки равен 3-4 нм. Для сравнения – диаметр гидратированного иона калия равен всего лишь 0,5 нм. Очевидно, при таких больших размерах пор, клеточная стенка обладает высокой проводимостью для различных ионов. Однако, модифицируя клеточную стенку, можно менять ее свойства, так, например, суберинизация может приводить к полной невозможности пропускания воды с ионами.

Модель двойного заряженного слоя описывает клеточную стенку как систему отрицательно заряженных пор, на поверхности которой адсорбируются катионы (рис. 10.1). Отрицательный заряд КС, а, соответственно, и катионообменные свойства, обусловлены наличием карбоксильных групп на остатках галактуриновых кислот пектинов. В это же время, аминокруппы белков КС определяют способность обмена с анионами, однако, анионообменные свойства КС значительно более слабые, чем катионообменные.

Передвижение ионов по КС происходит пассивно до тех пор, пока ионы не достигнут мембраны.

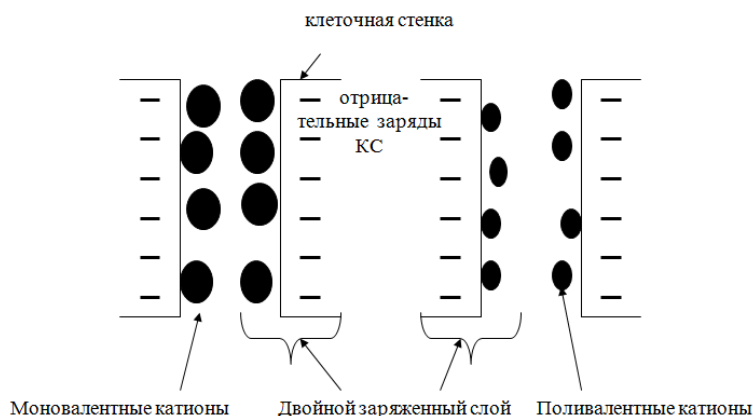


Рис. 10.1. Модель двойного заряженного слоя.

Проницаемость мембран клеток

Гидрофобные вещества и малые незаряженные молекулы могут проникать через мембрану за счёт диффузии, в то время как большие незаряженные полярные молекулы и ионы не способны проходить через неё (рис. 10.2).

Движущими силами транспорта являются химический (концентрационный) градиент и электрический градиенты (рис. 10.3 слева). В случае различия концентраций заряженного иона при взаимодействии с заряженной мембраной говорят об **электрохимическом градиенте**. Частицы способны переноситься без затрат энергии, двигаясь по электрохимическому градиенту (рис. 10.3 справа).

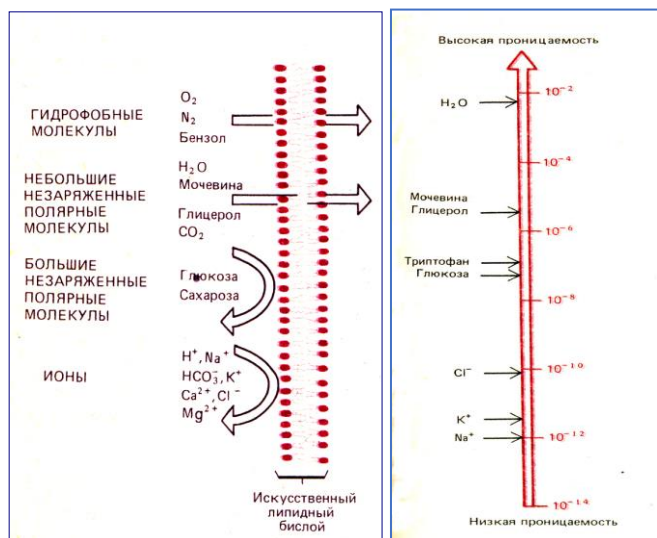


Рис. 10.2. Проницаемость мембраны для различных частиц.

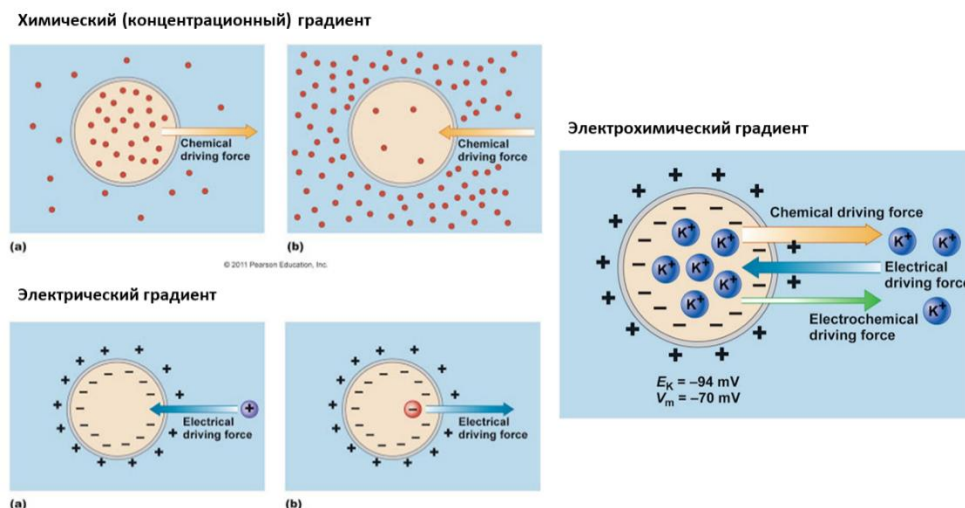


Рис. 10.3. Химический, электрический и электрохимический градиент.

Пассивным транспортом называют транспорт, в ходе которого частица перемещается по градиенту электрохимического потенциала без затраты энергии. В случае *простой диффузии* частицы перемещаются через мембрану без помощи специальных структур. Однако выделяют также *облегчённую диффузию*, когда частица перемещается благодаря каналам – специальным мембранным белковым комплексам (рис. 10.4 d), обладающим разной специфичностью к переносимым веществам (бывают высокоспецифичные каналы, способные переносить лишь один ион, и низкоспецифичные, переносящие целые группы ионов).

Активный транспорт предполагает использование внешнего источника энергии для прохождения процесса переноса частицы против её электрохимического градиента. *Первично активный транспорт* обеспечивается благодаря энергии расщепления

макроэргических связей (с затратой АТФ или других макроэргических соединений) (рис. 10.4 а). При *вторично активном транспорте* для перемещения частицы против её электрохимического градиента используется другой ион, перемещающийся по своему электрохимическому градиенту (рис. 10.4 b,c).

Унипортом называют транспорт частицы в определенном направлении. При этом, под унипортом может пониматься как активный транспорт определенной частицы (рис. 10.4 а), так и облегчённая диффузия (рис. 10.4. d). *Симпортом* называют сонаправленный транспорт двух видов частиц при вторично активном транспорте (рис. 10.4 b,c). *Антипортом* называют противонаправленный транспорт частиц при вторично активном транспорте.

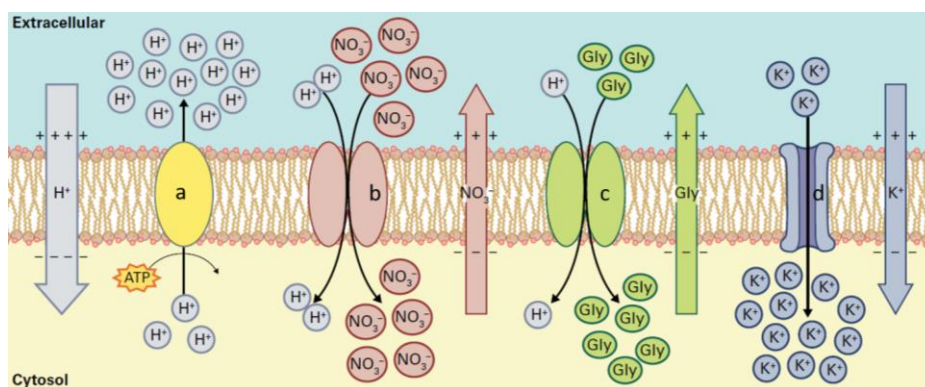


Рис. 10.4. Виды транспорта: а – первично активный транспорт, b,c – вторично активный транспорт (здесь показан симпорт), d – облегчённая диффузия. Стрелки указывают направление электрохимического градиента.

На рис. 10.5 показаны принципиальные схемы транспортных процессов, происходящих в клетке.

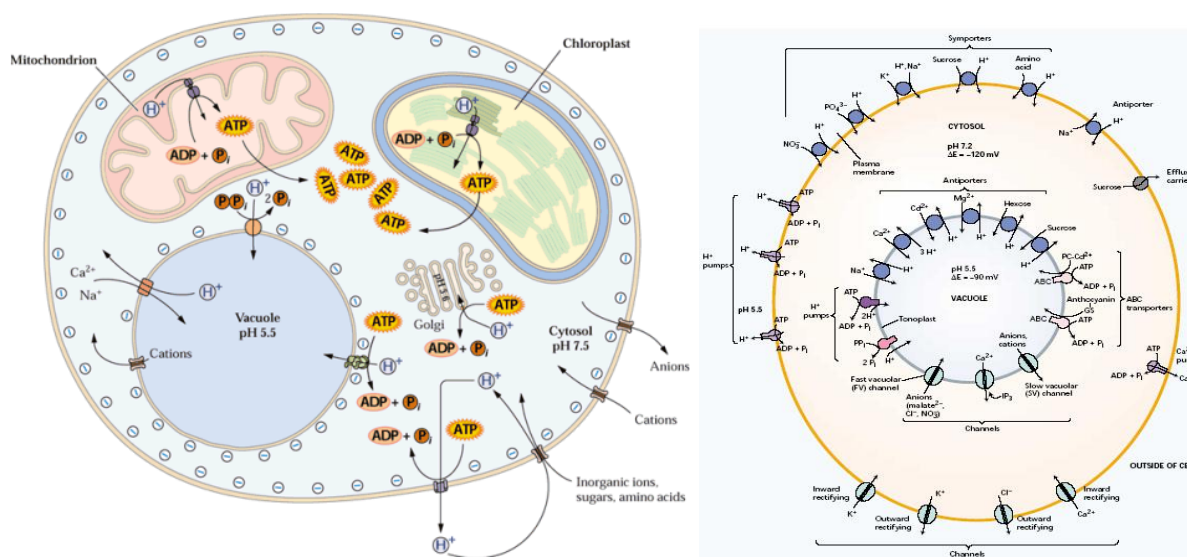


Рис. 10.5. Схемы основных транспортных процессов, происходящих в клетке.

Первично активный транспорт

В растительной клетке присутствуют *три типа* АТФаз: F-, P- и V-типа.

H-АТФаза плазмалеммы P-типа представляет собой один крупный полипептид (рис. 10.6 слева), перекачивающий протоны из цитоплазмы в апопласт с использованием энергии гидролиза молекул АТФ. На 1 затраченную молекулу АТФ приходится перенос 1 протона. Каталитический цикл этого фермента представлен на рис. 10.7 слева.

Активность H-АТФазы регулируется фосфорилированием и дефосфорилированием (рис. 10.6 справа). Грибной токсин *фузикоцин* (рис. 10.7 справа) имитирует фосфатную группу, вызывая необратимое открытие канала (рис. 10.6 справа, правая часть схемы). Это приводит к постоянной затрате энергии клетки, что вызывает её гибель.

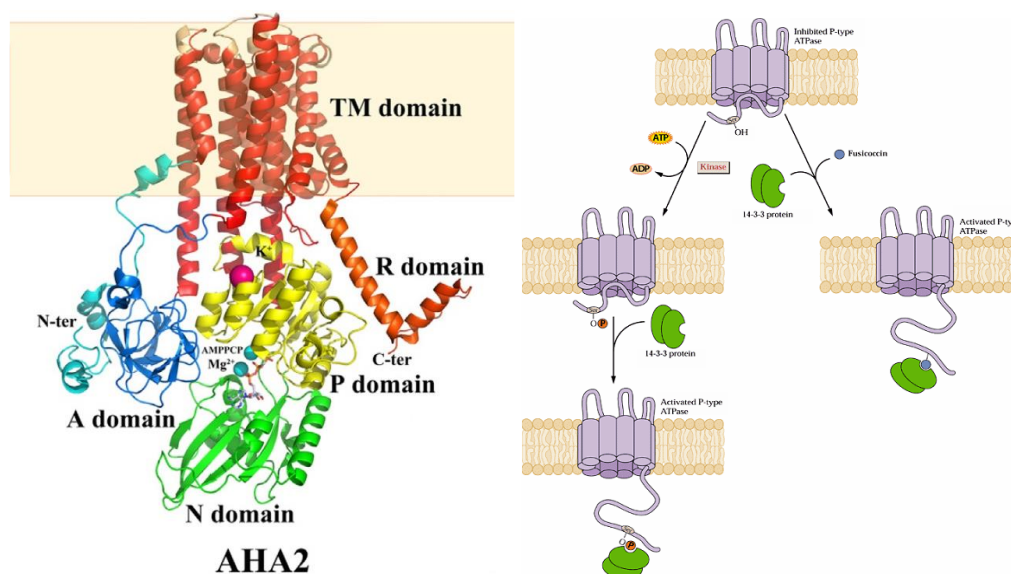


Рис. 10.6. Слева - строение одной из H-АТФаз P-типа. Справа – регуляция активности H-АТФазы: слева – норма, справа – при действии фузикоцина.

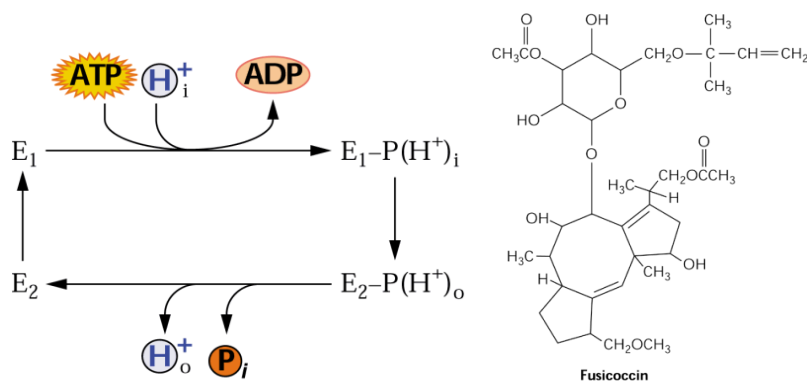


Рис. 10.7. Каталитический цикл H-АТФазы P-типа. Фузикоцин.

Н-АТРаза V-типа – протонная помпа, находящаяся на тонопласте и перекачивающая протоны из цитоплазмы в вакуоль с затратой АТФ. Представляет собой мультисубъединичный комплекс (рис. 10.8). Имеет три каталитических центра, связывающих АТФ, и 6-9 субъединиц, связывающих протоны. Это значит, что при гидролизе 1 АТФ может переноситься 2-3 протонов.

Активность этой АТРазы зависит от анионов: хлорид стимулирует работу, а нитрат – ингибирует. Очевидно, на её активность не влияют ингибиторы, характерные для Н-АТРазы Р-типа.

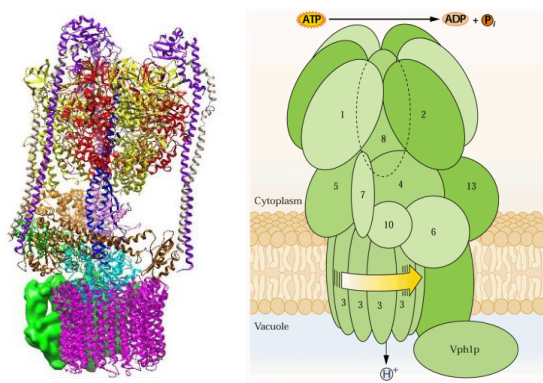


Рис. 10.8. Строение Н-АТРазы V-типа.

Н-пирофосфатаза (Н-дифосфатаза) тонопласта – помпа, переносящая протоны в вакуоль с использованием энергии макроэргической связи молекулы пирофосфата, который расщепляется до двух фосфатов. При расщеплении 1 пирофосфата происходит перенос 1 протона. При этом, протон в переносчик приходит вместе с пирофосфатом от предыдущего каталитического цикла (рис. 10.9).

Фермент работает в виде димера и регулируется катионами: ионы калия стимулируют работу, натрия и кальция – ингибируют. Кроме того, ингибируется сульфгидрильными реагентами.

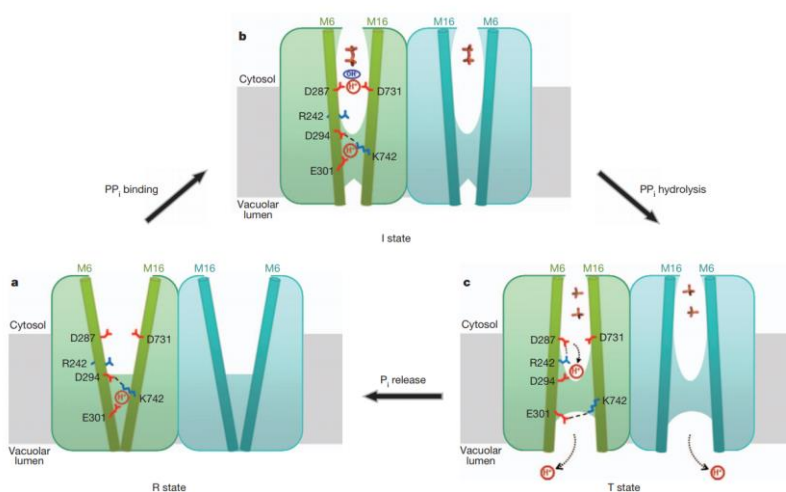


Рис. 10.9. Каталитический цикл Н-пирофосфатазы.

В результате работ описанных протонных помп происходит образование электрогенного потенциала на плазмалемме и тонопласте (рис. 10.10), они поддерживают определенные значения рН в компартментах растительной клетки. Кроме того, перенесённые против градиента протоны могут затем использоваться для вторично активного транспорта.

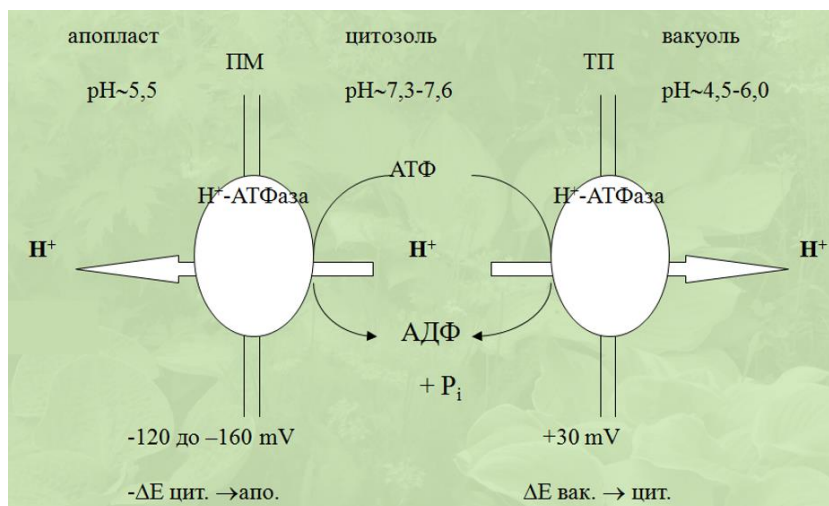


Рис. 10.10. Образование потенциала на мембранах за счёт работы помп.

Са-АТРазы располагаются на мембранах многих органелл (рис. 10.11) и поддерживают низкую концентрацию ионов кальция в клетке, что связано с регуляторной функцией этого иона. Са-АТРазы принадлежат к большому надсемейству АТР-аз Р-типа. На 1 использованную молекулу АТР происходит перенос 2 ионов кальция.

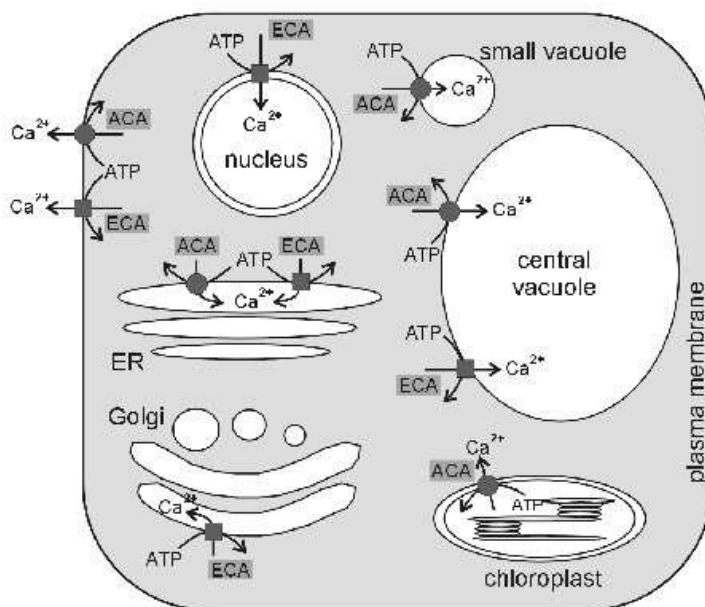


Рис. 10.11. Са-АТРазы в растительной клетке.

ABC-транспортеры – это транспортные белки, использующие энергию гидролиза АТФ для транспорта через мембрану самых разных химических веществ. Часто обладают очень низкой субстратной специфичностью. Упрощённый механизм работы этих транспортеров представлен на рис. 10.12.

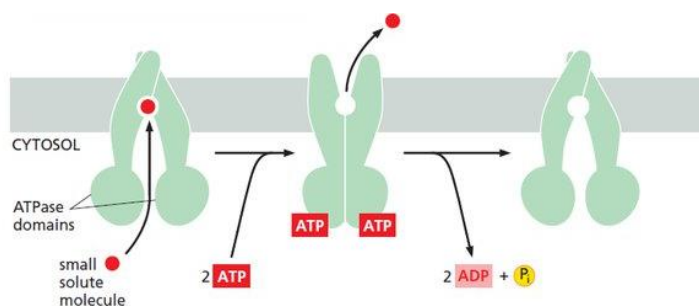


Рис. 10.12. Механизм работы ABC-транспортеров эукариот.

Помимо прочего, ABC-транспортеры растений участвуют в детоксификации опасных веществ и их конъюгатов, транспортируя их в вакуоли или апопласт; участвуют в транспорте липидов из ЭПР в пластиды или пероксисомы, а в случае синтеза кутина – в транспорте из клетки. ABC-транспортеры транспортируют водорастворимые витамины (например, фолат) в вакуоли; транспортируют фитин (фосфат-обогащённое запасное вещества) в развивающиеся семена; транспортируют малат в замыкающие клетки устьиц (что способствует их открытию); участвуют в транспорте фитогормонов по растению. ABC-транспортеры участвуют в секреции вторичных метаболитов, обладающих антибактериальным действием или, напротив, действием, привлекающим симбионтов.

На рис. 10.13. показано разнообразие ABC-транспортёров в различных органах растений.

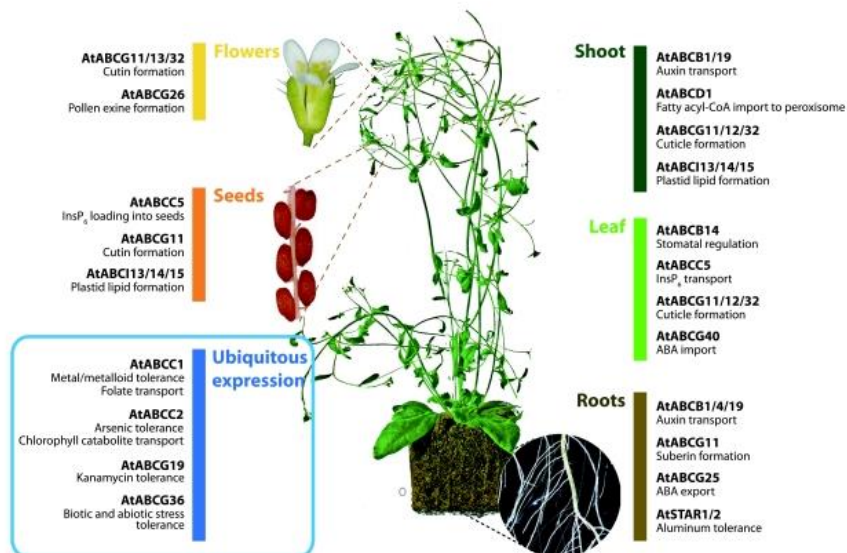


Рис. 10.13. Разнообразие ABC-транспортёров.

Вторично активный транспорт

Вторично активный транспорт использует перемещение одного иона по градиенту концентрации для перемещения другого вещества или иона против градиента. Можно сказать, что при этом АТФ тратится косвенно – для того, чтобы создать градиент “вспомогательного” иона (рис. 10.14).

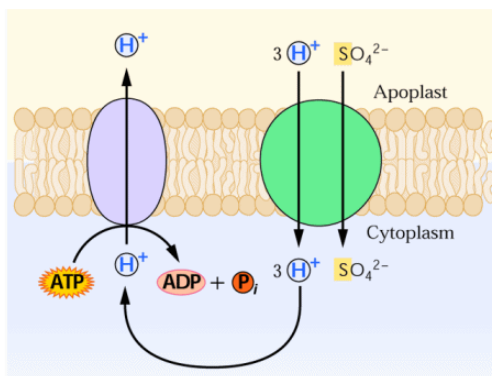


Рис. 10.14. Первично активный транспорт (слева) и вторично активный транспорт (справа). Протоны, перенесенные по первично активному транспорту, используются для вторично активного транспорта.

MFS-семство переносчиков (рис. 10.15 слева) включает множество переносчиков растительной клетки: фосфатный, нитратный, аммонийный, сульфатный и др. Частица захватывается с одной стороны мембраны, комплекс изменяет свою конформацию, и она выходит с другой стороны (рис. 10.15 справа).

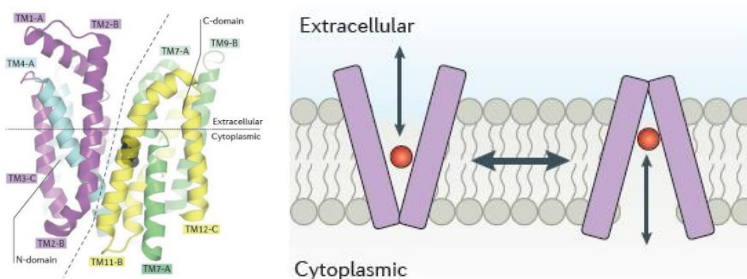


Рис. 10.15. Структура и механизм MFS-семейства переносчиков.

ZIP-семейство переносчиков (рис. 10.16) включает переносчики многих микроэлементов (молибдена, цинка, бора, меди, марганца).

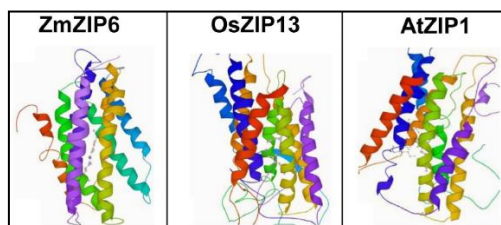


Рис. 10.16. Структура ряда переносчиков семейства ZIP.

Пассивный транспорт: ионные каналы

Ионные каналы – интегральные белки мембраны, образующие в мембране регулируемые поры различной специфичности (рис. 10.17 слева).

Транспорт иона по каналу зависит от потенциала на мембране, концентрации иона по обе стороны мембраны, свойств канального белка, сигналов эндогенной и экзогенной природы.

Ионные каналы бывают катионными и анионными, вносящими и выносящими, специфическими к переносимому иону и неспецифическими, потенциал-зависимыми и рецепторо-управляемыми, быстрыми и медленными.

Потенциал-зависимые каналы управляются мембранным потенциалом. Примером может служить группа **калиевых каналов Shaker-типа**, где одна из спиралей обладает множеством положительно заряженных аминокислотных остатков, формируя потенциал-чувствительный домен (рис. 10.17 справа). Такие каналы могут регулироваться формированием гетеротетрамеров, фосфорилированием и изменением внутриклеточной концентрации калия.

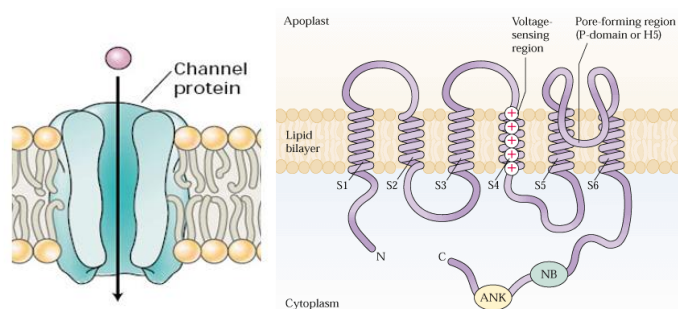


Рис. 10.17. Слева – ионные каналы, образующие пору. Справа – потенциал-чувствительный калиевый канал Shaker-типа.

Калиевые каналы ТРК/КСО работают в виде димеров (рис. 10.18) и локализуются на плазмалемме, тонопласте и мембране пластид. Не являются потенциал-чувствительными, но могут регулироваться кальцием, рН и, возможно, механическими сигналами.

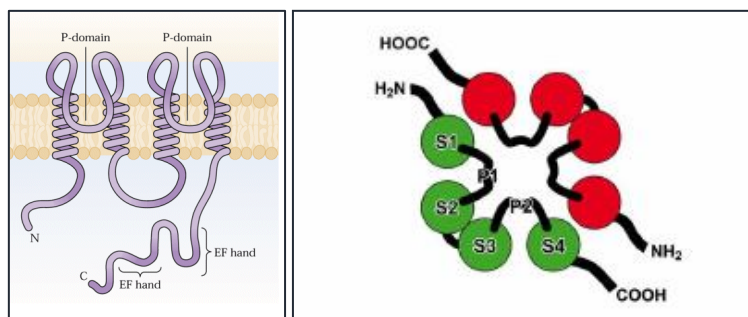


Рис. 10.18. Строение калиевого канала ТРК/КСО. Слева – схема мономера, справа – димер белка, образующего канал.

Классификация элементов минерального питания

Классификация элементов минерального питания по содержанию элемента в организме предполагает деление элементов на две группы: *макроэлементы*, содержание которых по массе в организме больше 0,1% и *микроэлементы* – меньше 0,1%.

К **макроэлементам** относят *органогенные элементы*, составляющие до 98% массы клетки (углерод 45%, кислород 42%, водород 6,5%, азот 1,5%), а также многие другие (сера 0,1%, фосфор 0,2%, калий 1,0%, кальций 0,5%, магний 0,2%, натрий, хлор, кремний).

К **микроэлементам** относят бор, марганец, медь, цинк, молибден, кобальт и ванадий. Железо же занимает промежуточное между макро- и микроэлементами положение – его содержание составляет в среднем 0,1%, что является граничным значением.

Возможна также другая классификация – физиологическая, разделяющая элементы в зависимости от того, в каких процессах они участвуют.

- Азот и сера – участвуют в построении органических веществ.
- Фосфор, кремний, бор – участвуют в запасании энергии и целостности структур клетки
- Калий, кальций, магний, хлор, марганец, натрий – элементы, которые «работают» в форме ионов.
- Железо, цинк, медь, никель, молибден – элементы, играющие роль в окислительно-восстановительных реакциях.

Не смотря на разнообразие различных классификаций, следует помнить, что все они искусственны и условны. Ни одна из них не отражает реального состояния веществ. Так, например, очевидно, что содержание элементов будет варьировать в зависимости от вида растений и условий его выращивания, а каждый элемент, как правило, является полифункциональным.

Лекция 11. Азотный, серный и фосфорный обмен растений

Формы азота, доступные растениям

Азот – один из важнейших органогенных элементов. Молекулярный азот, составляющий большую часть атмосферы, не доступен для эукариотических организмов. Основными формами азота доступными для растений являются содержащиеся в почве ионы аммония и нитрата. Запасы этих ионов ограничены, и можно сказать, что азотное минеральное питание часто выступает ограничивающим развитие растения фактором. Это обуславливает “бережное” отношение растений к азоту и развитие ряда приспособлений для увеличения его добычи, например, вступление в симбиозы или даже переход к хищничеству.

Наиболее доступной и безопасной для растений является нитратная форма азота. Во-первых, это обусловлено большей лёгкостью его добычи из почвы, в то время как положительно заряженный аммоний прочно связан с отрицательно заряженными частичками почвы. Во-вторых, аммоний может выступать в качестве разобщителя протонного градиента на мембранах (рис. 11.1), превращаясь с одной стороны мембраны в аммиак, способный проникать через мембрану, и отнимая протон с другой.

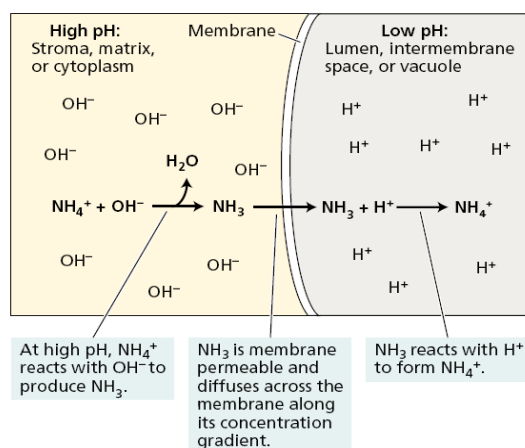


Рис. 11.1. Аммоний как разобщитель электрохимического градиента протонов: со стороны стромы, матрикса или цитоплазмы - слабощелочной pH, где аммоний превращается в аммиак, способный преодолеть мембрану, а со стороны люмена, межмембранного пространства митохондрий или вакуолей - кислый pH, где аммиак забирает протон.

Нитрат способен проникать в клетку (в том числе корневой волосок) из апопласта благодаря вторично активному транспорту с протонами (рис. 11.2). В состав органических веществ входит азот в высшей степени окисления, поэтому нитрат в клетке должен быть восстановлен в несколько этапов. На первом этапе фермент *нитратредуктаза* восстанавливает нитрат до нитрита, который затем восстанавливается до иона аммония *нитритредуктазой*. Дальнейшее включение аммония в органические соединения требует работы специальной ферментной системы ГС-ГОГАТ (глутаминсинтетаза и глутамин-2-оксоглутаратаминотрансфераза).

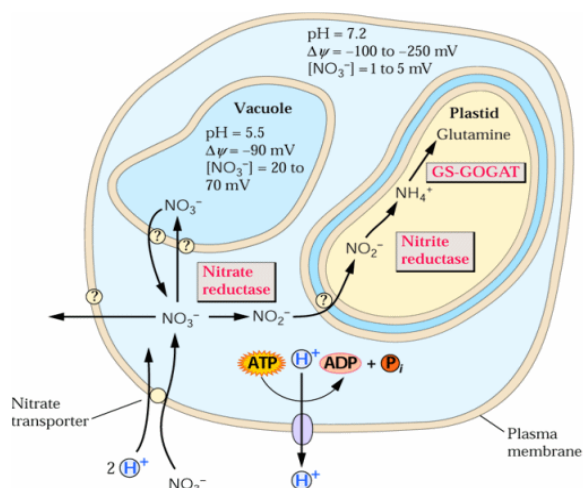


Рис. 11.2. Превращения азота в клетке.

Восстановление нитратов

Первой реакцией на пути восстановления нитратов является реакция превращения нитрата в нитрит, катализируемая ферментом **нитратредуктазой**. Этот фермент работает в виде димера, а каждый его мономер содержит три важных домена, включающих переносчики электронов (рис. 11.3 слева): *FAD*, *гем* и *молибдоптерин* (рис. 11.3 справа). Источником электронов для восстановления нитрата являются *NADH* или *NADPH*.

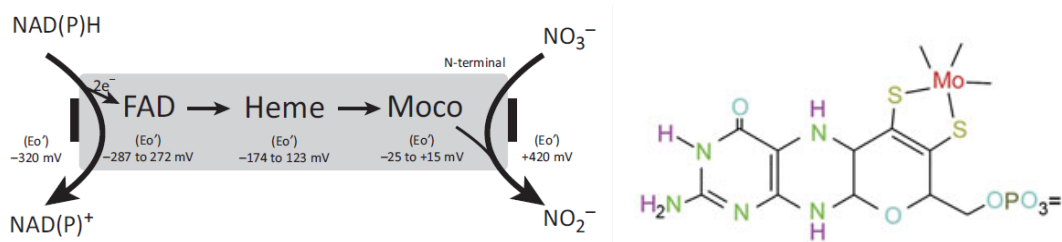


Рис. 11.3. Слева – нитратредуктаза представляет собой небольшую электрон-транспортную цепь; справа – строение молибдоптерина.

Между тремя описанными доменами расположены пептидные цепи важные для регуляции активности фермента (рис. 11.4).

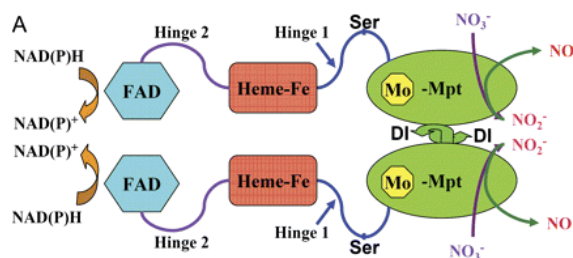


Рис. 11.4. Нитратредуктаза в своей нативной димерной форме. Синим и фиолетовым цветом выделены важные для регуляции пептидные цепочки.

Один из способов регуляции нитратредуктазы связан с обратимым фосфорилированием и дальнейшим присоединением регуляторного белка 14-3-3 (рис. 11.5). После присоединения этих элементов блокируется система передачи электронов на белке, а в дальнейшем в таком виде он может подвергаться деградации.

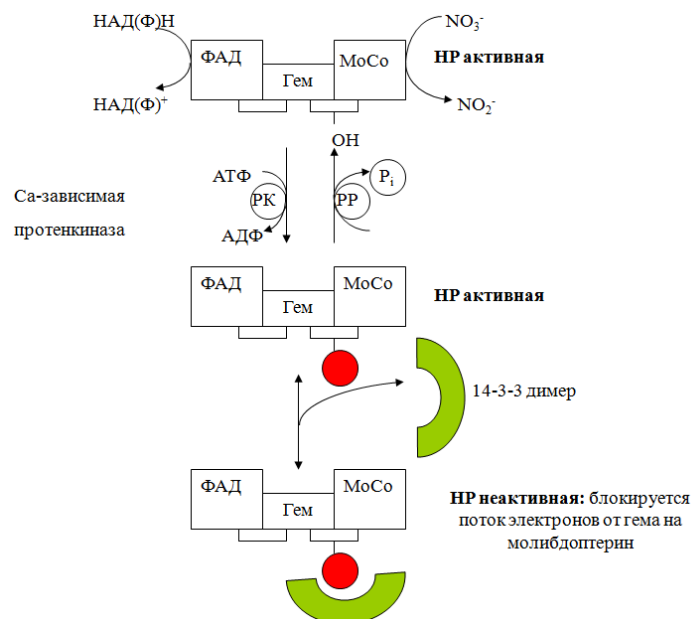


Рис. 11.5. Регуляция активности нитратредуктазы.

Следующим ферментом на пути восстановления нитрата является **нитритредуктаза**, восстанавливающая нитрит до аммония. Донором электронов в этой реакции служит *ферредоксин*, что обсуждалось ранее при рассмотрении путей электронного транспорта ЭТЦ фотосинтеза.

Нитрит является опасной частицей ввиду своей повышенной реакционной способности. Поэтому образование фермента нитритредуктазы в клетке активируется не нитритом, что характерно для регуляции множества ферментов, а нитратом: как только в клетку попал нитрат, очевидно, что он будет преобразован в опасный нитрит, поэтому производить нитритредуктазу следует заранее.

В состав нитритредуктазы входит два домена, а небольшая ЭТЦ этого фермента представлена двумя переносчиками электронов: *железосерным кластером* и *сирогемом* содержащим ион железа.

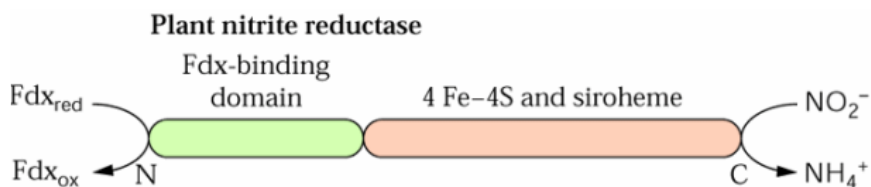


Рис. 11.6. Структура нитритредуктазы.

После того как азот восстановлен, его необходимо включить в состав органических веществ. Для этого используется специальная ферментная система **ГС-ГОГАТ**, где *глутаминсинтетаза* (ГС) присоединяет ион аммония к глутамату, используя молекулу **АТФ**, а *глутамин-2-оксоглутаратамиотрансфераза* (ГОГАТ) переносит образовавшуюся на глутамине аминогруппу на молекулу альфа-кетоглутарата (синоним - 2-оксоглутарат), используя **NADH** или ферредоксин. Таким образом, образуется две молекулы глутамата, и этот небольшой цикл замыкается (рис. 11.7).

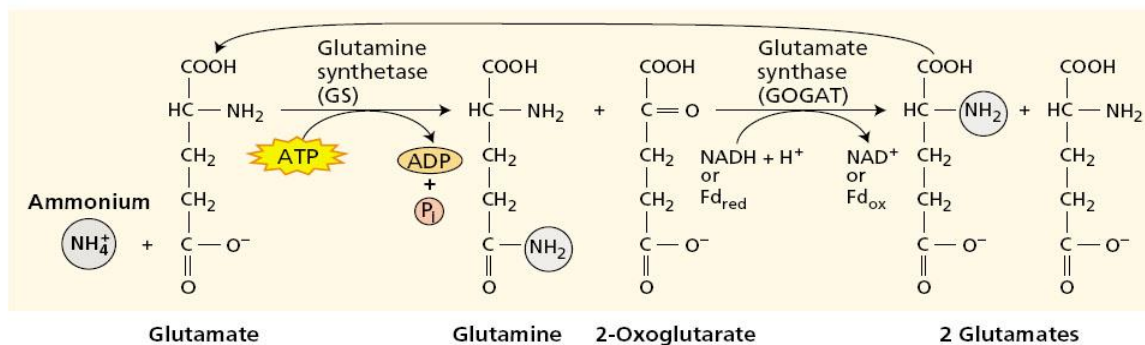


Рис. 11.7. Реакции ГС-ГОГАТной системы.

В фотосинтезирующих и гетеротрофных органах действуют разные изоферменты ГС-ГОГАТной системы. В фотосинтезирующих тканях используется ферредоксин и локализованная в хлоропластах глутаминсинтетаза, в то время как в гетеротрофных тканях используется **NADH** и цитозольная форма глутаминсинтетазы (рис. 11.8).

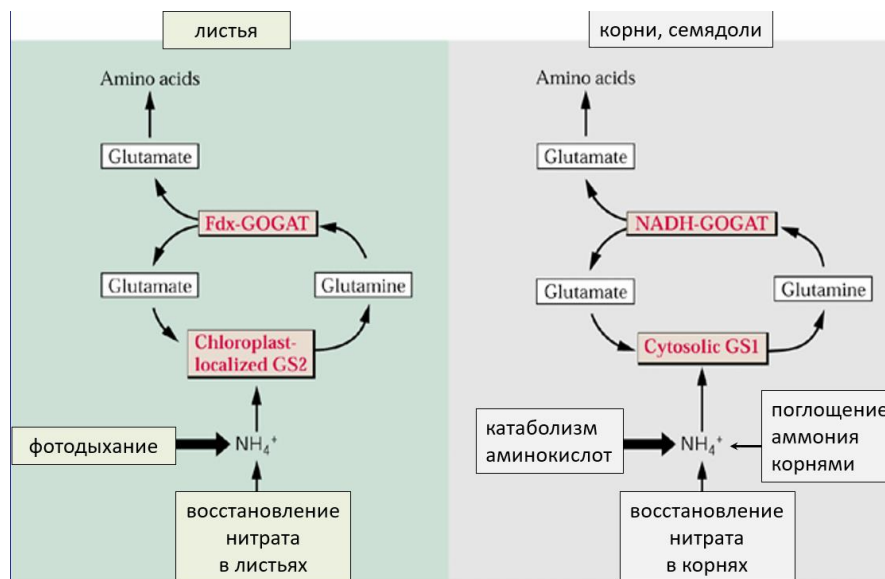


Рис. 11.8. Особенности ГС-ГОГАТной системы в различных органах.

Альтернативным вариантом включения аммония в органические соединения может являться реакция, катализируемая **глутаматдегидрогеназой** (рис. 11.9). Однако она преимущественно катализирует обратную реакцию, играющую роль в деградации

аминокислот. Направление работы фермента будет во многом определяться соотношением реагентов и продуктов реакции. Если в клетке окажется слишком много аммония, реакция пойдет по пути синтеза глутамата.

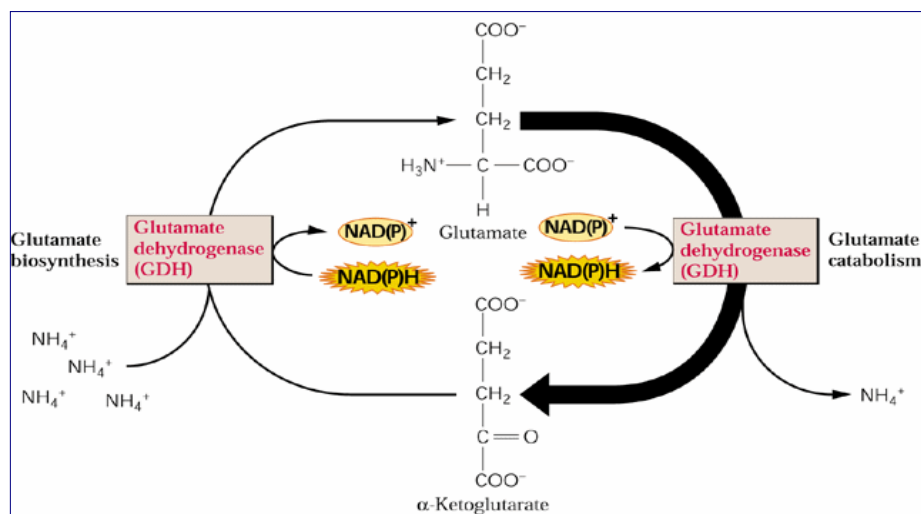


Рис. 11.9. Обратимая реакция, катализируемая глутаматдегидрогеназой.

Симбиотическая фиксация азота

Как обсуждалось ранее, эукариотические организмы, включая растения, не способны к фиксации молекулярного азота, однако для этого они могут вступать в симбиотические отношения с бактериями.

Одним из наиболее изученных примеров таких взаимоотношений является симбиоз бактерий рода *Rhizobium* с растениями семейства Бобовые. Для привлечения бактерий корни этих растений выделяют в окружающую среду специфические вещества. Бактерии особым образом взаимодействуют с корневыми волосками, и структура волосков изменяется – образуется специальный канал, по которому бактерии проникают в растение (рис. 11.10).

На следующем этапе происходит изменение морфологии тканей корня и образуется разрастающийся корневой клубенок, где со временем образуются проводящие ткани. Клетки бактерий перестраивают свой метаболизм и специализируются на фиксации атмосферного азота. Растения же поставляют необходимые бактериям органические вещества. Бактерий, находящихся в клубеньках, принято называть *бактероидами*.

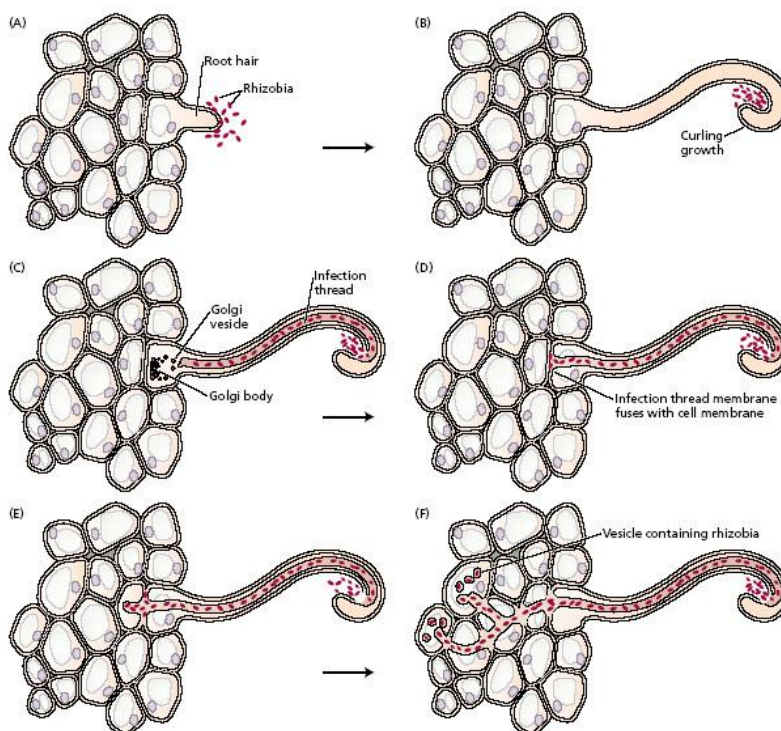


Рис. 11.10. Проникновение *Rhizobium* в корни Бобовых.

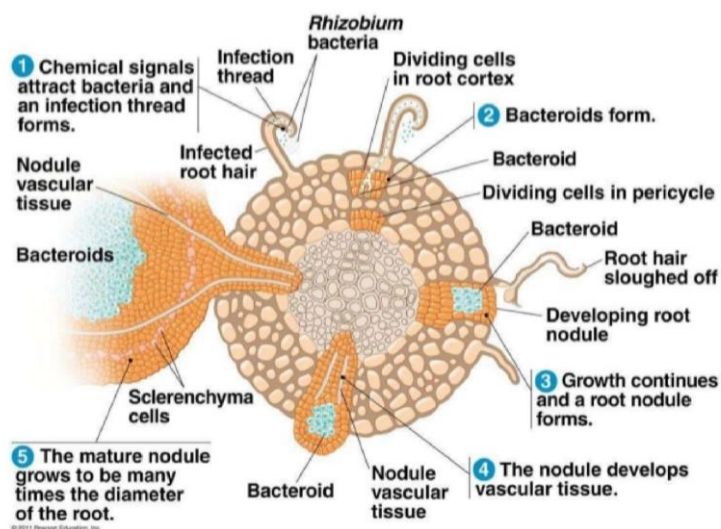


Рис. 11.11. Процесс формирования корневого клубенька.

Фермент бактерий, осуществляющий фиксацию атмосферного азота – нитрогеназа. Фиксация азота – невероятно дорогой процесс, где для фиксации 1 молекулы азота требуется 16 АТФ и 8 молекул ферредоксина. Продуктами реакции являются аммиак, который далее включается в состав органических соединений и молекулярный водород (рис. 11.12). Нитрогеназа – мультисубъединичный комплекс, содержащий молибден.

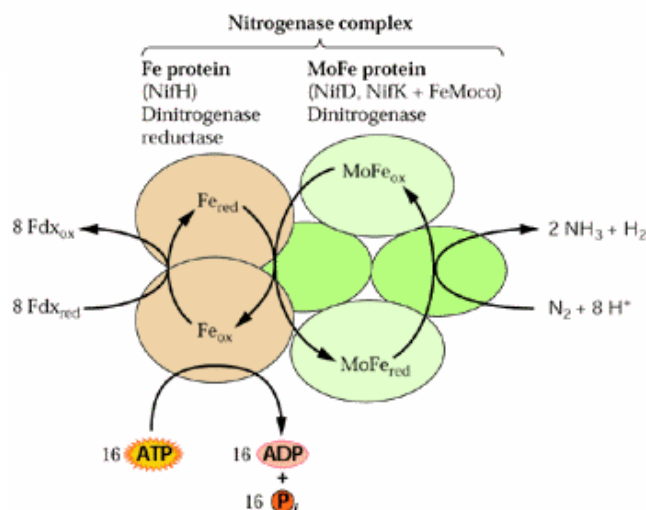


Рис. 11.12. Нитрогеназа.

Нитрогеназа очень чувствительна к молекулярному кислороду, поэтому существуют специальные системы, защищающие бактериоид от действия кислорода. Среди них – накопление белка *леггемоглобина*, эффективно связывающего кислород (рис. 11.13).

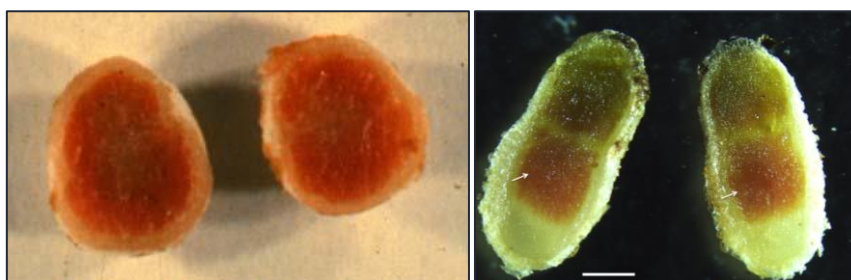


Рис. 11.13. Красная окраска срезов клубеньков обусловлена накопленным леггемоглобином.

В бактериоид из клетки растений поступают все необходимые вещества для поддержания его жизнедеятельности. Основной формой органики, поступающей в бактериоид, является *малат*. Помимо органики в клетки бактерий поступают все необходимые элементы минерального питания (рис. 11.14).

Транспорт соединений азота

Растения используют разные стратегии транспорта соединений азота (рис. 11.15). Так, например, многие травянистые растения могут транспортировать нитраты, в то время как бобовые предпочитают транспортировать амиды и уреиды (рис. 11.16).

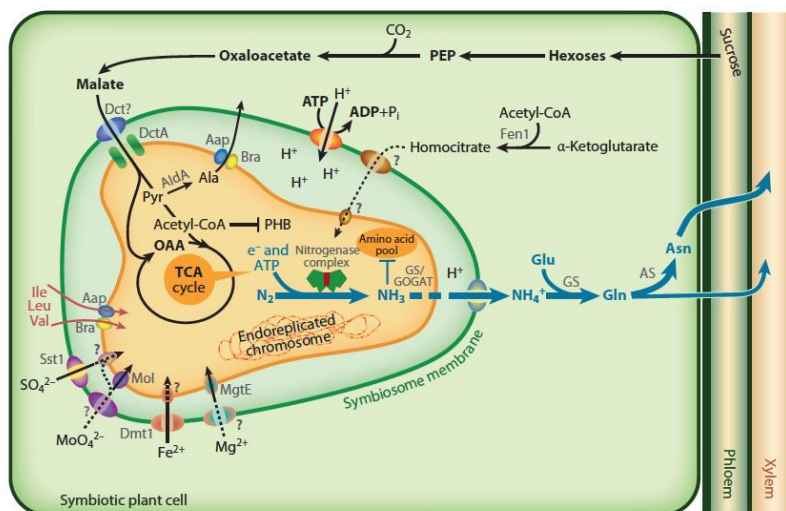


Рис. 11.14. Транспорт веществ в бактероид, находящийся в специальной мембранной структуре клетки – симбиосоме.

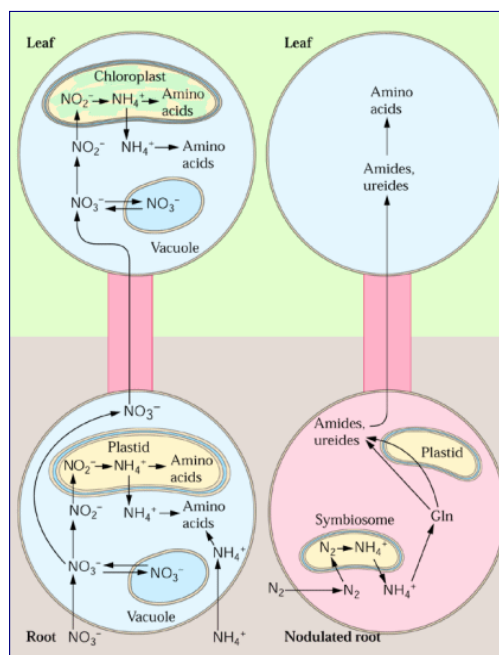


Рис. 11.15. Различные стратегии транспорта азотистых веществ.

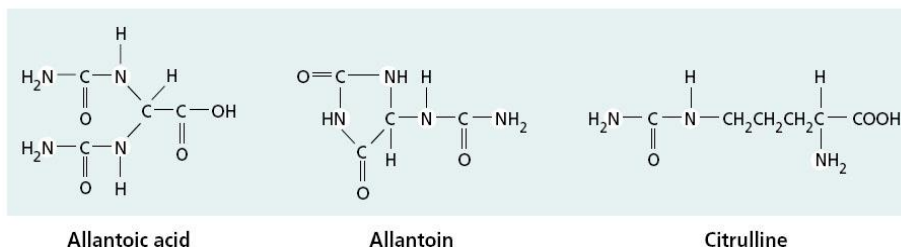


Рис. 11.16. Различные транспортные формы азота.

На рис. 11.17 представлена диаграмма использования растениями различных соединений, содержащих азот, в качестве транспортных форм азота. Как видно из диаграммы, существует спектр растений, некоторые из которых используют одну единственную форму в качестве основной, в то время как другие используют ряд соединений.

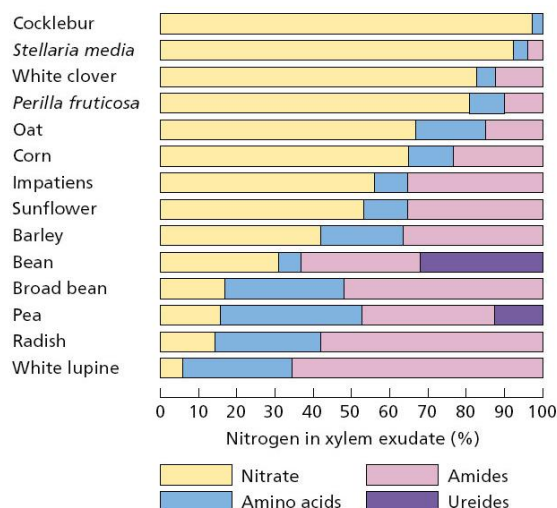


Рис. 11.17. Содержание соединений азота в ксилемном соке у различных растений.

Метаболизм соединений серы

Сера в клетках представлена в богатом спектре степеней окисления и форм (рис. 11.18 слева). Основной формой серы, поглощаемой растениями, являются сульфаты, которые входят в клетку по системе вторично активного транспорта с протонами (рис. 11.18 справа). Сульфаты могут запасаться в вакуолях, подвергаться восстановлению или транспортироваться по проводящим тканям.

Первое превращение, которое сульфат может претерпевать в клетке – это присоединение к молекуле АТФ с образованием *аденозин-5'-фосфосульфата (APS)*. Это соединение может подвергаться фосфорилированию. Образовавшееся соединение – *3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (PAPS)* (рис. 11.19). Обе реакции протекают в пластидах и в цитозоли, но в пластидах идет процесс восстановления серы, а в цитозоли PAPS используется в реакциях сульфатирования.

Сульфогруппа может переноситься с APS на молекулу *глутатиона*, который используя ещё один восстановленный глутатион, неферментативно восстанавливает сульфат до сульфита. Далее работает фермент *сульфитредуктаза*, которая схожа по строению с нитритредуктазой и гомологична ей. Образованный сульфитредуктазой сульфид может присоединяться к синтезируемому из серина *О-ацетилсерину* с образованием аминокислоты *цистеина*. Данная реакция может протекать как в пластидах, так и в цитозоле и митохондриях.

TABLE 2. EXAMPLES OF ORGANIC SULFUR COMPOUNDS IN PLANTS			
Form of Sulfur	General Structure	Example	Structure
Thiols	RSH	cysteine (others- coenzyme A, reduced glutathione, protein thiols)	<chem>NC(=O)CC(S)C(=O)O</chem>
Disulfide	RSSR	cystine (others- oxidized glutathione, protein disulfides)	<chem>NC(=O)CC(SSC)C(=O)O</chem>
Thioethers	R ₁ SR ₂	methionine (others- biotin, thiamine, pyrophosphate)	<chem>NC(=O)CCSCC</chem>
Sulfoxides	R ₁ SOR ₂	methionine sulfoxide (others- allicin the onion flavor compound)	<chem>NC(=O)CC(S(=O)C)C(=O)O</chem>
Methylsulfonium	(H ₃ C) ⁺ S(R) ₂	S-adenosylmethionine (others- dimethylsulfoniopropionate, S-methylmethionine)	<chem>NC(=O)CCSCC1=NC2=C(N)N=CN=C2N1</chem>
Sulfate Esters	R-O-SO ₃ ⁻	choline-O-sulfate (others- sulfated brassinosteroids)	<chem>CN(C)COP(=O)(O)O</chem>
Sulfamates	R-N-O-SO ₃ ⁻	glucosinolate- flavor compound of Brassica	<chem>OC1OC(O)C(O)C(O)C1OS(=O)(=O)R</chem>
Sulfonic Acids	R-C(=O)-SO ₃ ⁻	cysteic acid (others- sulfoquinovosyl diacylglycerol)	<chem>NC(=O)CS(=O)(=O)O</chem>

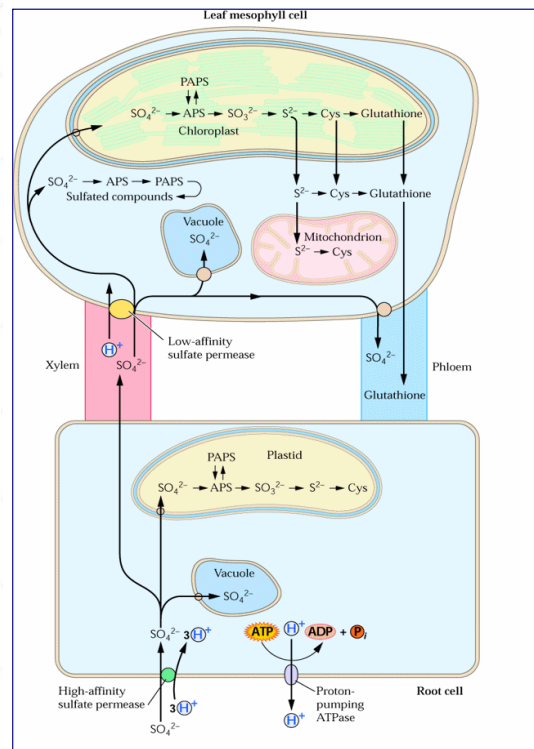


Рис. 11.18. Слева – соединения серы в различных степенях окисления, справа – транспорт серы в растениях.

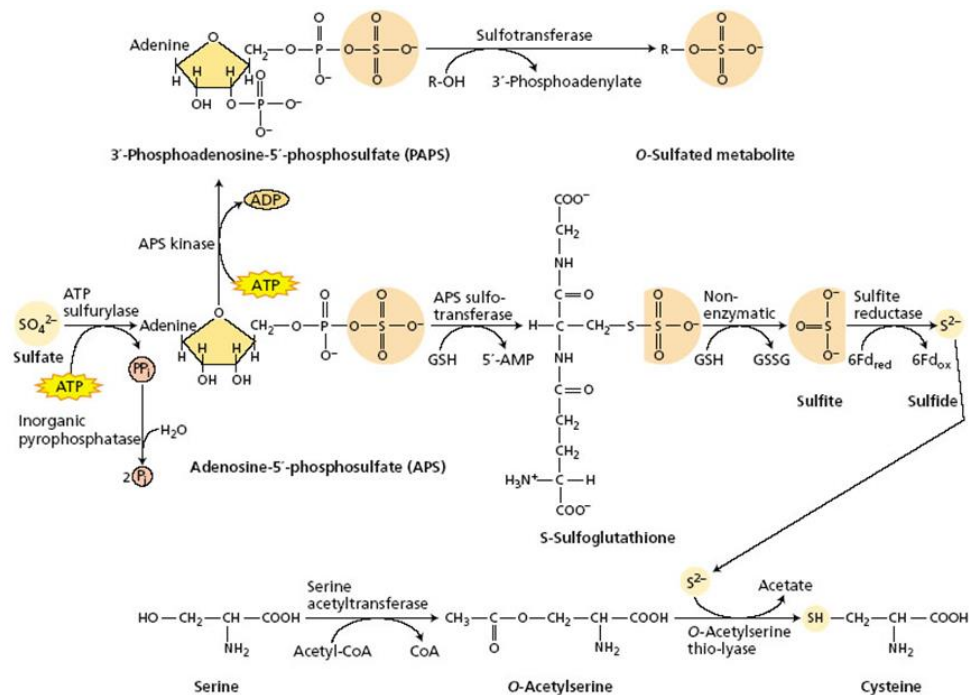


Рис. 11.19. Ассимиляция сульфата.

Глутатион

Глутатион – трипептид, не кодируется в геноме, а синтезируется ферментативно из трёх аминокислот. Глутатион является важной регуляторной молекулой (рис. 11.20). Он работает по тому же принципу, что и тиоредоксин, описанный ранее (рис. 11.21 справа). Окисленный глутатион может быть вновь восстановлен благодаря ферменту *глутатионредуктазе* (рис. 11.21 слева).

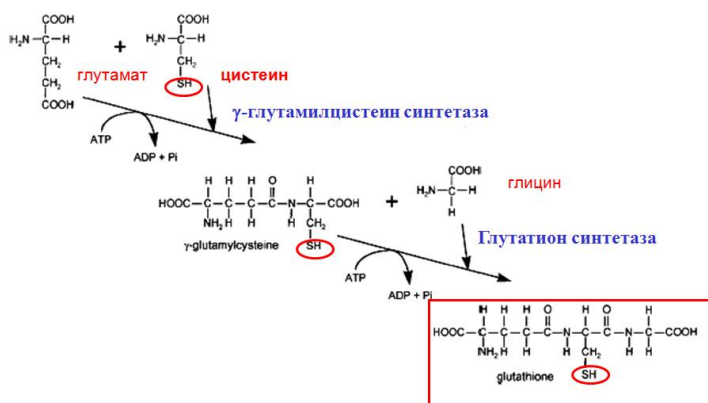


Рис. 11.20. Синтез молекулы глутатиона.

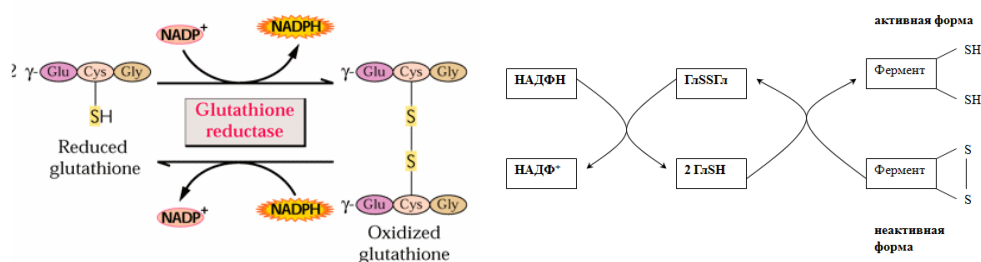


Рис. 11.21. Слева – глутатионредуктаза, справа – глутатион как регуляторная молекула.

Глутатион может выполнять защитные функции, связывая различные органические вещества (вторичные метаболиты растений или гербициды) и перенося их в вакуоли, где они могут быть накоплены или инактивированы (рис. 11.22).

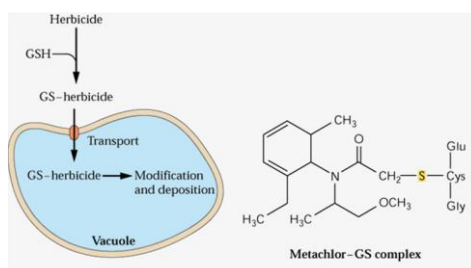


Рис. 11.22. Транспорт гербицида, связанного с глутатионом, в вакуоль (слева); глутатион, присоединённый к гербициду метаклору (справа).

Из нескольких молекул глутатиона могут синтезироваться **фитохелатины** (рис. 11.23 слева), при этом может образовываться цепочка, содержащая до 11 мономеров. С помощью SH-групп фитохелатинов растения могут связывать атомы металлов (рис. 11.23 справа), в частности тяжёлых металлов. В таком виде комплекс может быть транспортирован в вакуоль, что приводит к удалению тяжелого металла из цитоплазмы.

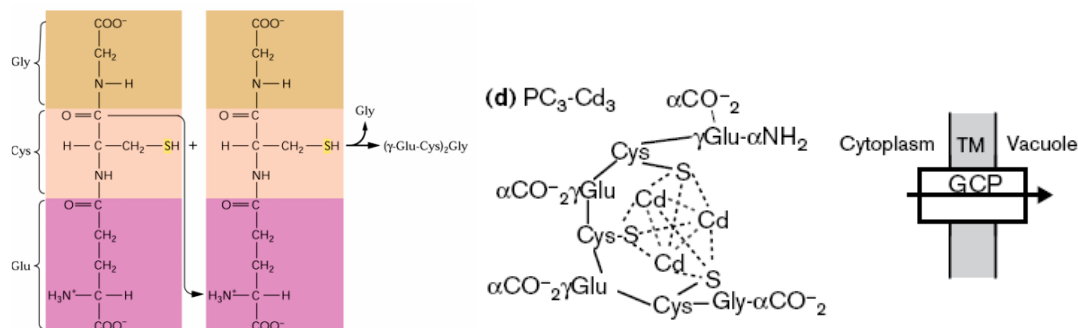


Рис. 11.23. Слева - синтез фитохелатинов. Справа – связывание атомов кадмия фитохелатинами и транспорт комплекса в вакуоль.

Металлотионеины – белки, в большом количестве содержащие остатки цистеина, за счёт сульфидных групп которых может происходить связывание ионов металлов. Эти белки участвуют в транспорте ионов и выполняют антиоксидантные функции.

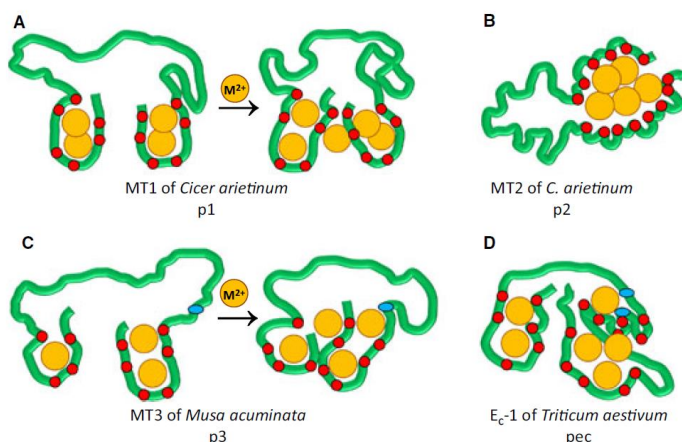


Рис. 11.24. Металлотионеины (зеленые), связывают своими остатками цистеинов (красные кружки) ионы металлов (желтые кружки).

Фосфорное питание

Растения поглощают из почвы одно- и двузамещённые соли ортофосфорной кислоты. Концентрация фосфатов в почве достаточно низка, поэтому этот фактор, подобно азотному питанию, может выступать в качестве ограничивающего рост и развитие. Однако растения могут улучшить своё фосфорное питание благодаря использованию микоризы. За счёт мицелия гриба как будто происходит расширение

“корневой сети” растения. В отличие от рассмотренных ранее примеров, фосфор в клетках находится всего в одной степени окисления, а реакции, связанные с его метаболизмом, заключаются лишь в переносе фосфогруппы между органическими веществами.

Фосфаты могут накапливаться в форме *фитиновой кислоты* (рис. 11.23), которая может содержаться в семенах, где она запасает до 80% фосфатов клеток.

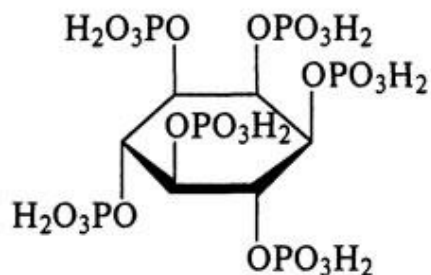


Рис. 11.25. Фитиновая кислота – фосфорилированный по всем гидроксильным группам многоатомный спирт инозитол.

Часто дефицит по какому-либо элементу или особенности минерального питания отражаются на морфологии растений. *Кластерные (протеоидные) корни* – это корни растений, подвергшихся дефициту фосфора. Такие корни, покрытые огромным количеством корневых волосков, имеют увеличенную площадь всасывающей поверхности и поддерживают рост бактерий, высвобождающих фосфаты.



Рис. 11.26. Кластерные (протеоидные) корни.

Лекция 12. Железо, калий, кальций. Водный обмен

Железо

Железо входит в состав кофакторов, например, в состав железосерных кластеров и часто участвует в окислительно-восстановительных реакциях.

Существует две основные стратегии поглощения железа из почвы (рис. 12.1). *Первая* характерна для двудольных и всех однодольных, кроме злаков. Она заключается в закислении окружения корневого волоска выносом из клетки протонов с затратой АТФ, что приводит к отсоединению железа от частичек почвы. Кроме протонов в почву с помощью АВС-транспортёров выделяются специальные хелатирующие вещества (фенолы и органические кислоты). Хелатированное железо, находящееся в степени окисления III должно быть восстановлено до II специальным ферментом, расположенным на плазмалемме. Именно в таком виде оно способно входить в клетку. *Вторая стратегия* используется злаками, которые выделяют хелатирующие вещества – фитосидерофоры, способные переносить трёхвалентное железо внутрь клетки.

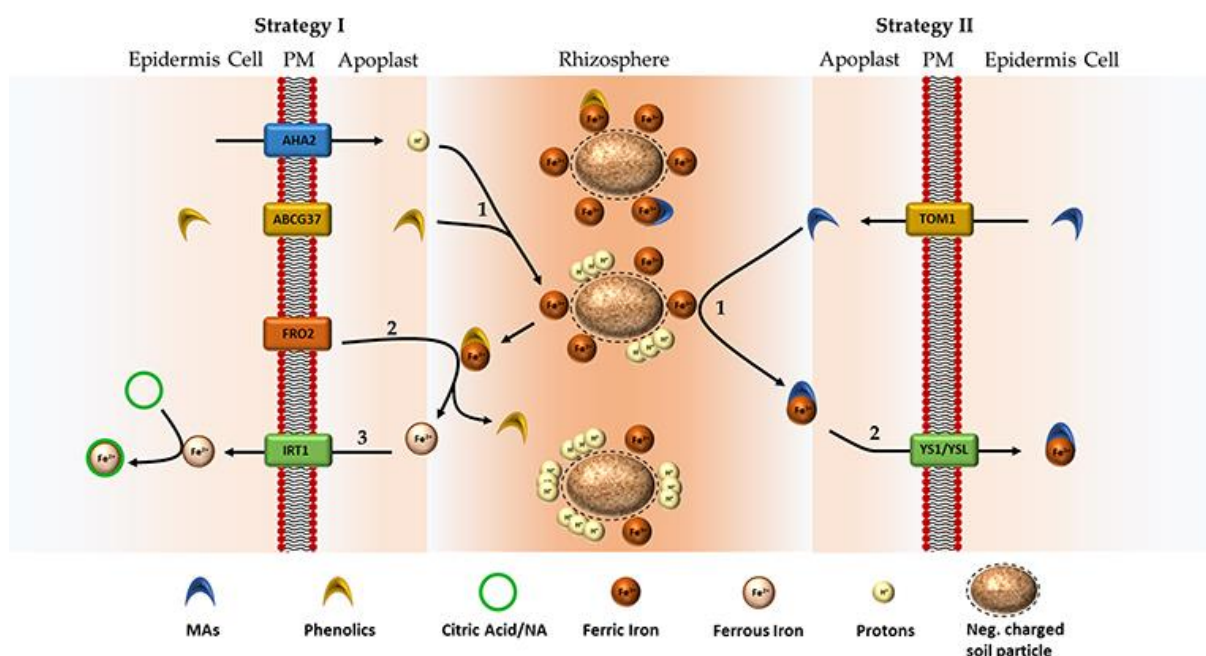


Рис. 12.1. Сравнение двух стратегий поглощения железа: слева – двудольные и незлаковые однодольные, справа – злаки.

Фитосидерофоры обладают очень высоким сродством к железу и хелатируют его прямо из почвенных частиц. Строение некоторых сидерофоров представлено на рис. 12.2.

Для переноса по ксилеме используется комплекс железа (II) с цитратом. Для транспорта же по флоэме может использоваться комплекс с никотианамином. Аналогично железу подобные комплексы образуют медь и цинк.

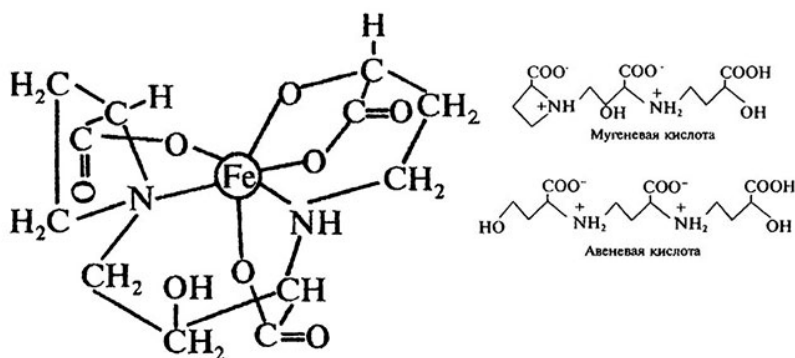


Рис. 12.2. Механизм связывания фитосидерофорами ионов железа и примеры некоторых фитосидерофоров.

Двухвалентное железо в свободном виде опасно для клеток и может, в частности, участвовать в образовании активных форм кислорода. Поэтому для хранения железа растения используют специальные белки – **фитоферритины** (рис. 12.3), локализующиеся в пластидах. Фитоферритин изолирует железо (II) от молекул кислорода, предотвращая его окисление до железа (III).

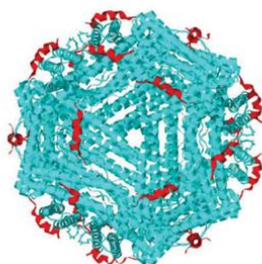


Рис. 12.3. Фитоферритин.

Калий

Калий необходим для поддержания гомеостаза в растительных клетках и является одним из основных ионов, формирующих мембранный потенциал. Калий не входит в состав ни одного органического соединения, но как катион участвует в поддержании потенциала и осмотического давления, нейтрализации зарядов минеральных и органических кислот. Кроме того, калий необходим для активации ряда ферментов, например, пируваткиназы, крахмалсинтазы, пептидтрансферазы и др. Калий также участвует в синтезе белка и обеспечивает правильное взаимное положение в пространстве тРНК и рибосомы.

Кальций

Концентрации кальция сильно различаются в органеллах (рис. 12.4). Основными депо кальция являются вакуоли, ЭПР и пластиды. Концентрация кальция в цитозоли обычно крайне низка.

Существует невероятное разнообразие кальциевых переносчиков, что связано с необходимостью более тонкой регуляции его потоков (рис. 12.5). Кальций пассивно перемещается по каналам из своих депо в цитоплазму и возвращается обратно благодаря первично активному транспорту.

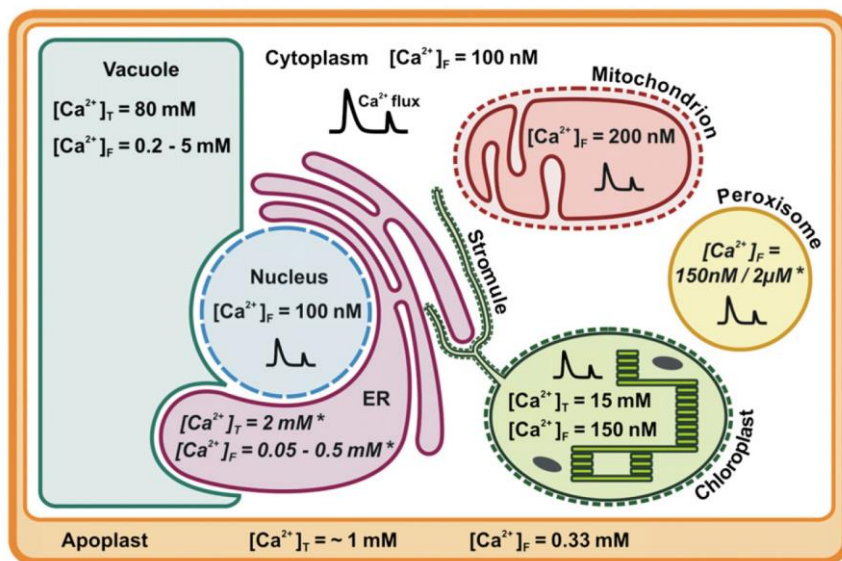


Рис. 12.4. Содержание ионов кальция в различных органеллах.

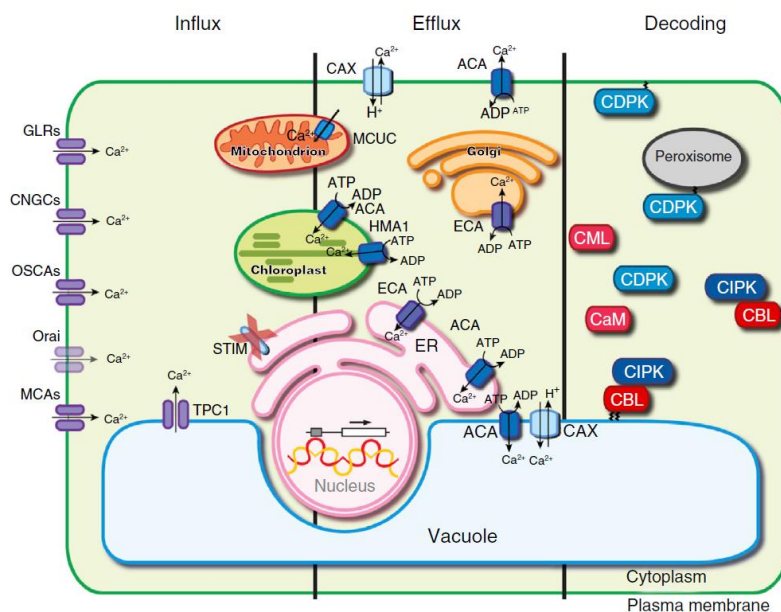


Рис. 12.5. Разнообразие переносчиков кальция в клетке.

Низкие концентрации кальция поддерживаются в цитоплазме в связи с тем, что он выполняет сигнальные функции, являясь вторичным мессенджером – посредником между рецептором, например, рецептором гормона, и эффекторными белками. Специфичность кальциевых сигналов обеспечивается сложным характером изменения

его концентраций. График изменения концентрации кальция в цитоплазме во времени часто называют “кальциевой подписью” (рис. 12.6). Именно она определяет, какой ответ клетка даст на данный сигнал. Разные виды “кальциевых подписей” могут функционировать также и в других органеллах с низкой концентрацией кальция, например, митохондриях и ядре.

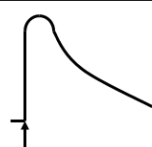
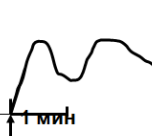
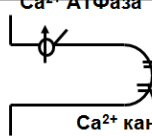
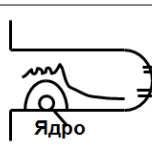
Холодовой шок	акклимация к холоду		Кратковременное увеличение (с); 0 - (4-5) - 30
Гипоосмотический шок	осмоадаптация		Двухфазная динамика (с); 30 - 60 - 150
Сигналы межклеточного взаимодействия	полярный рост кончиком корневого волоска		Продолжительный, устойчивый градиент $[Ca^{2+}]$ у кончика
Nod-фактор	скручивание корневых волосков, образование клубеньков		Продолжительное увеличение через 5 мин и осцилляция в области ядра

Рис. 12.6. Некоторые варианты “кальциевых подписей” и факторы, их вызывающие.

Как обсуждалось ранее, кальций способен связываться с **пектинами**, образуя кальциевые мостики. С помощью этого механизма регулируется пористость клеточной стенки и её способность пропускать различные вещества.

Кальций необходим для работы ряда ферментных систем, например, для работы водоокисляющего комплекса, ряда липаз и фосфатаз, а также для полимеризации элементов цитоскелета.

Функции воды в растениях

Водная среда объединяет все части организма и представляет собой непрерывную среду. Вода – важнейший растворитель, среда и компонент для протекания биохимических реакций. Вода является основным компонентом транспортной системы, в ней растворены все транспортируемые вещества. Кроме того, вода выступает в качестве амортизатора при механических воздействиях, обеспечивая упругость тканей и рост растяжением. Обладая низкой теплопроводностью, вода также выступает в качестве терморегулирующего фактора.

В растениях вода присутствует в двух основных формах. **Свободная вода** (85-90%) преимущественно располагается в вакуолях и не связана с какими-либо ионами или органическими молекулами. Вода может быть ковалентно связанной с молекулами

(конститутивной) или образовывать гидратные оболочки (гидратационная вода). Большая часть воды в цитоплазме является связанной.

Основная задача водного обмена в условиях изменяющегося водоснабжения регулировать потоки воды в растении и поддерживать в тканях и клетках относительное содержание воды в физиологических пределах.

По отношению к воде растения делятся на **пойкилогидрические**, не способные регулировать водный обмен (например, водные растения и мхи), и **гомойогидрические**, регулирующие водный обмен. Среди гомойогидрических растений выделяют растения-*гигрофиты*, предпочитающие условия повышенной влажности, *мезофиты*, обитающие в условиях умеренной влажности, и *ксерофиты*, выдерживающие условия низкой влажности.

Механизмы движения воды

Диффузия важна на малых расстояниях, но её недостаточно для преодоления больших расстояний. Диффузия имеет значение при транспорте воды между почвенным раствором и апопластом, при транспорте между апопластом и симпластом и при перемещении воды в межклетники и из них. *Движущей силой диффузии* является разность концентрационных потенциалов.

Массовый ток необходим для транспорта по ксилеме и флоэме, для транспорта воды по апопласту и при транспорте воды в почве. *Движущей силой массового тока* преимущественно является разность потенциалов давления между участками растения.

Важную роль в растениях играют **осмотические явления**, заключающиеся в перемещении воды в направлении большей концентрации осмотически активных веществ. **Тургорным давлением (P)** называют давление, которое возникает в результате поступления воды в клетку и направлено в сторону клеточной стенки (именно поэтому клетку, не находящуюся в состоянии *плазмолиза*, когда её части отходят от клеточной стенки, называют *тургесцентной*). Тургорное давление является частным случаем **гидростатического давления**. Противоположным по направлению действия тургорному давлению является **осмотическое давление (π)** – такое давление, которое нужно приложить к клетке для остановки поступления в неё воды (рис. 12.7). Осмотическое давление в клетке создаётся растворёнными в ней веществами.

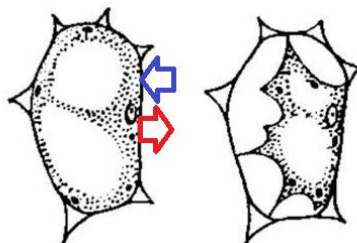


Рис. 12.7. Слева – тургесцентная клетка, справа – клетка в состоянии плазмолиза. Красная стрелка указывает направление тургорного давления, а синяя – осмотического.

Водный потенциал (ψ) выражает способность воды в данной системе совершить работу в сравнении с той работой, которую совершила бы чистая вода (без растворённых веществ) при тех же условиях. В данном случае, под “работой” понимают изменение объёма при изменении количества воды в системе. Водный потенциал равен разности тургорного давления и осмотического давления. Повышение гидростатического давления ведет к повышению водного потенциала, а повышение осмотического давления – к понижению. Вода, в свою очередь, будет перемещаться от места с бóльшим водным потенциалом к месту с меньшим (рис. 12.8). Это верно не только для отдельных клеток, но и для всего растения (рис. 12.9).

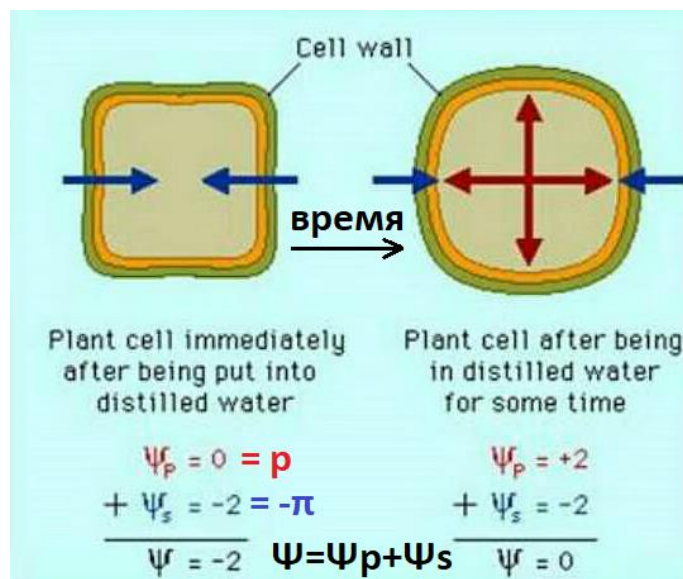


Рис. 12.8. Перемещение воды из области бóльшего водного потенциала в область меньшего. Изменение потенциала при помещении клетки в дистиллированную воду (слева) и спустя некоторое время (справа).

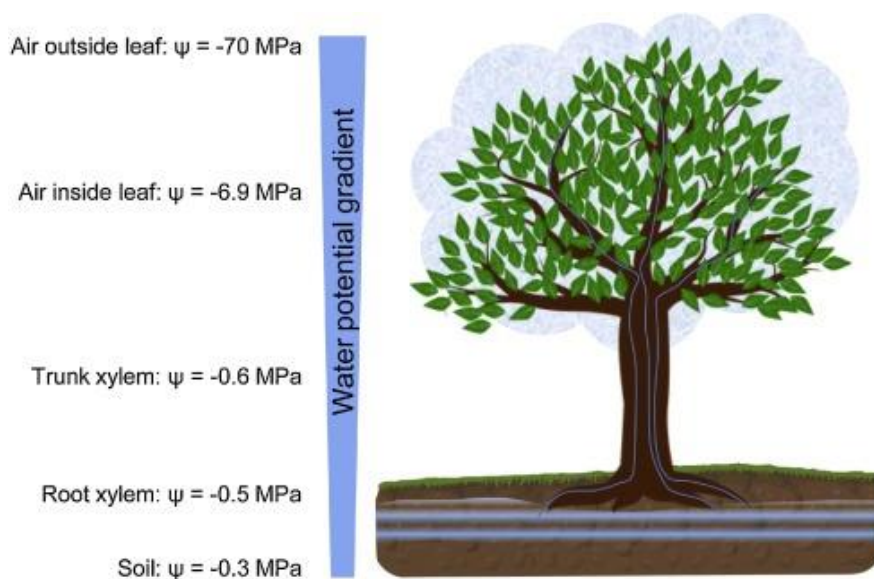


Рис. 12.9. Перемещение воды по градиенту водного потенциала.

Водный потенциал складывается из нескольких составляющих (рис. 12.10): осмотического, матричного, гравитационного потенциала и потенциала давления. *Осмотический потенциал* оценивает влияние растворённых веществ на водный потенциал (численно равен осмотическому давлению, взятому с обратным знаком), *потенциал давления* – влияние механического давления (численно равен гидростатическому давлению), *матричный* – влияние связанной макромолекулами воды, а *гравитационный* – влияние силы тяжести. Наибольшее влияние на значение водного потенциала имеют осмотический потенциал и потенциал давления. Для высоких растений важен также гравитационный потенциал, ведь подъём воды на 10 м приводит к увеличению потенциала давления на 0,1 МПа.

$$\Psi_{\text{кл}} = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_m + \Psi_g$$

Где: Ψ_s – осмотический потенциал, влияние на Ψ растворённых веществ (= - π)
 Ψ_p – потенциал давления, влияние на Ψ механического давления (=P)
 Ψ_m – матричный потенциал, влияние на Ψ связанной макромолекулами воды
 Ψ_g – гравитационный потенциал, влияние на Ψ силы тяжести – учитывается только для высоких деревьев. Подъём воды на 10м приводит к увеличению Ψ_g на 0,1 МПа

Рис. 12.10. Уравнение водного потенциала.

Примером “работы” водного потенциала является механизм **кислого роста**, при котором благодаря активной работе протонных помп плазмолеммы закисляется апопласт, открываются калиевые каналы, вносящие калий в клетку, повышается осмотическое давление, из-за которого вода входит в клетку, что приводит к повышению тургорного давления, из-за которого растягивается клеточная стенка (рис. 12.11). После растяжения клеточной стенки тургорное давление падает.

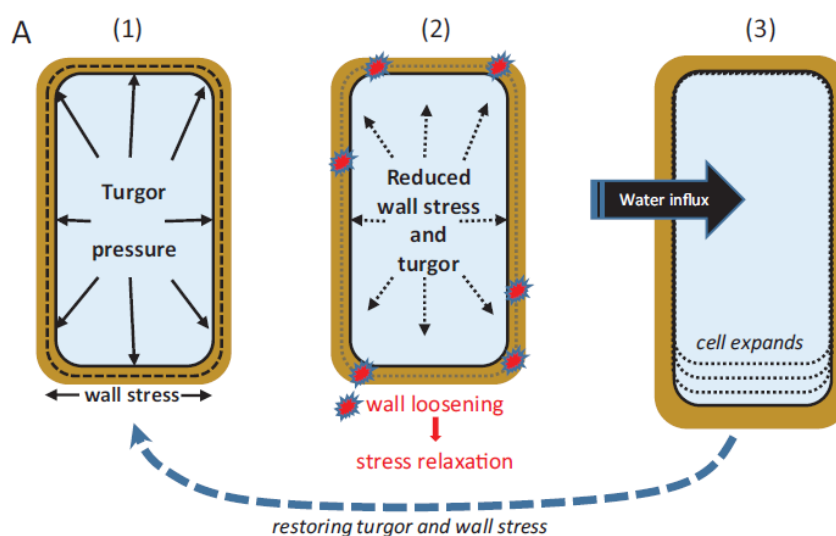


Рис. 12.11. Модель кислого роста.

Аквапорины – специальные белки, формирующие крупные поры, через которые проходит вода. Аквапорины входят в состав плазмалеммы, тонопласта, мембраны хлоропластов и митохондрий. Они регулируются фосфорилированием, которое приводит к их открытию. Аквапорины могут пропускать не только воду, но и другие вещества, например, пероксид водорода.

В растении существует непрерывная водная система с преимущественно гидравлическим током воды, которая может быть описана как цепь сопротивлений, размещенных последовательно и параллельно. Испарение воды листьями приводит к снижению их ψ , заставляя воду двигаться из ксилемы к клеткам листа (давление в ксилеме может быть ниже атмосферного). Вдоль транспирирующего растения возникает градиент давления – причина тока воды из почвы в корни и далее к листьям.

За счет водородных связей между молекулами воды возникают большие силы сцепления – **когезии**, вода может подвергаться натяжению до нескольких сотен МПа. Критические значения натяжения в ксилеме могут приводить к проникновению воздуха и эмболии сосудов. В таком случае, сосуд необратимо выходит из строя.

Движущая сила тока воды по апопласту – градиент гидростатического давления, создаваемого преимущественно транспирацией. При движении воды от клетки к клетке по симпласту определяющую роль играют осмотические явления, однако существует и гидростатическая составляющая (за счет градиента гидростатического давления).

Поглощение воды корнем

Эндодерма – особая ткань корня, которая подвергается частичной *суберинизации*. Таким образом, от ризодермы до эндодермы вода с растворёнными веществами может легко перемещаться по апопласту. Но для того, чтобы пройти в центральный цилиндр, вода и ионы должны перейти в симпласт. При этом их обратный ток становится невозможен, из-за чего ионы и большая часть воды оказываются “запертыми” в центральном цилиндре корня и затем транспортируются по ксилеме. Описанный механизм называется системой **нижнего концевого двигателя**.

Транспирация и гуттация

Транспирация – процесс потери воды растением за счёт её испарения с поверхности органов (в первую очередь листьев), имеет две компоненты: слабую *кутикулярную* транспирацию, ограниченную слабым испарением воды через слой кутикулы, и *устыичную* транспирацию.

Состояние устьиц зависит от водного потенциала клеток листа, концентрации углекислого газа в подустыичной щели, циркадных ритмов и гормональной регуляции, так, например, абсцизовая кислота (растительный гормон, в том числе отвечающий на стресс, вызванный засухой) вызывает быстрое закрытие устьиц.

Устьица открываются в ответ на повышение концентрации малата, ионов калия и хлора в клетке, что приводит к повышению осмотического давления, из-за которых вода входит в клетку. Специальные целлюлозные тяжи в клеточной стенке устьичных клеток

не позволяют клеткам увеличиваться равномерно, а заставляют изменять свою форму так, чтобы устьичная щель оказалась открытой (рис. 12.12).

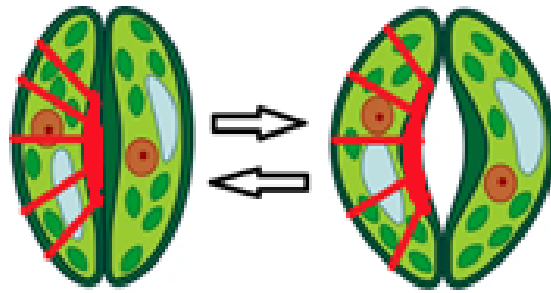


Рис. 12.12. Открытие устьиц. Особые тяжи целлюлозы и неравномерное утолщение условно отмечены красным.

Схема, описывающая процессы, происходящие при открытии и закрытии устьиц, показана на рис. 12.13.

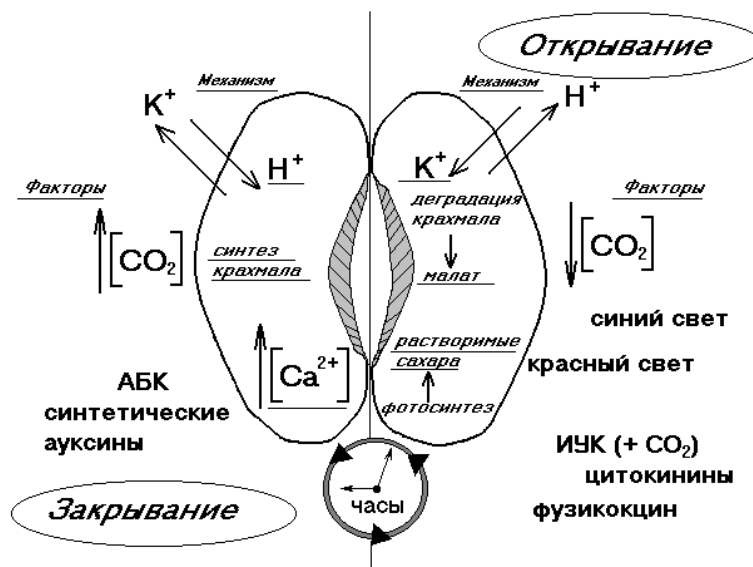


Рис. 12.13. Процессы, происходящие при открытии и закрытии устьиц.

Явление транспирации составляют механизм работы **верхнего концевого двигателя**.

Гуттация – феномен секреции жидкости, содержащей растворенные вещества, через *гидатоды* - специальные структуры, находящиеся на краях листьев неповрежденных растений (рис. 12.14).

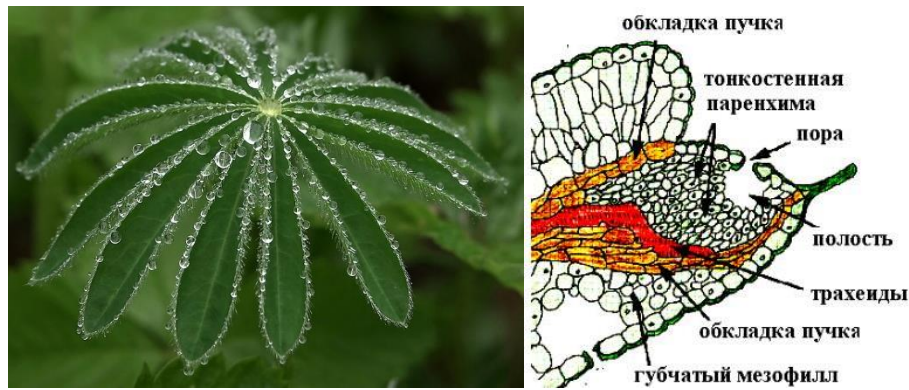


Рис. 12.14. Слева – процесс гуттации, справа – строение гидатоды.

Гуттация отличается от транспирации не только структурами их осуществляющими, но и тем, что в ходе транспирации происходит потеря пара, а при гуттации – жидкой воды. Гуттация предположительно необходима для поддержания тока воды в отсутствие транспирации при высокой относительной влажности воздуха, а её движущей силой является корневое давление.

Подытожив, можно сказать, что описанные в лекции процессы, составляющие механизм работы нижнего и верхнего концевых двигателей, обеспечивают перемещение жидкости по растению.

Лекция 13. Гормоны растений. Часть 1

Свойства гормонов растений

Гормоны растений, как и гормоны животных, являются важными молекулами, регулируемыми различные аспекты физиологии организма.

Растительные гормоны – это низкомолекулярные вещества, регулирующие целые программы развития организма. Специфика их действия может быть различной в зависимости от места действия, стадии развития растения, внешних условий. Кроме того, важно понимать, что гормоны взаимодействуют между собой, образуя сложные регуляторные сети.

Выделяют следующие критерии гормона:

- вещество вызывает специфический физиологический ответ у определенных клеток;
- разобщено место синтеза и место действия, то есть необходим транспорт сигнального вещества по растению (для растений это не является строгим критерий);
- вещество практически не играет роли в основном метаболизме клетки, используется только для сигнальных целей;
- вещество должно действовать в низкой концентрации - начиная с 10^{-5} моль/л (может не выполняться для некоторых гормонов).

Особенности фитогормонов:

- низкомолекулярны;
- нет специализированных тканей для синтеза фитогормонов;
- регулируют крупные физиологические программы.

Каждый гормон после синтеза может претерпевать различную судьбу. Он может инактивироваться присоединением различных веществ (образовывать конъюгаты), например, сахаров, аминокислот и др. В таком виде гормон способен накапливаться в вакуолях или подвергаться дальнейшей деградации через окисление. Гормоны могут транспортироваться по тканям и органам прежде, чем встретиться с белком-рецептором и вызывать ответ.

Ауксины

История открытия ауксинов начинается с *опытов Чарльза и Френсиса Дарвинов*, исследовавших фототропизм. Они накрывали разные участки проростка светонепроницаемым материалом, наблюдая фототропизм (рис. 13.1). Оказалось, что если закрыть черной тканью место изгиба, растение, тем не менее, будет воспринимать направление света и изгибаться в его сторону. Закрывание апекса побега приводит к отсутствию изгиба. Следовательно, существует некое вещество, синтезирующееся в апексе и транспортирующееся в нижележащие части проростка. Это гипотетическое вещество было названо “ауксином”.

Ф. Вент и Н.Г. Холодный проверили эту гипотезу, собрав отрезанные апексы на агаре так, чтобы в агар диффундировали вещества из апексов. Затем агар нарежали на небольшие кубики, которые неровно помещались на участки срезов на проростках. В результате опыта наблюдалось изгибание проростка (рис. 13.2). Так была подтверждена химическая природа сигнала при фототропизме.

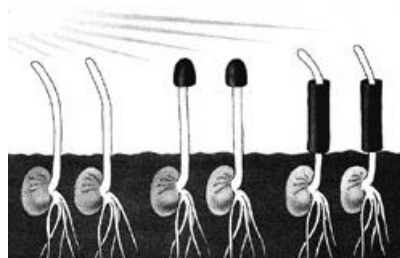


Рис. 13.1. Опыт Ч. и Ф. Дарвинов.

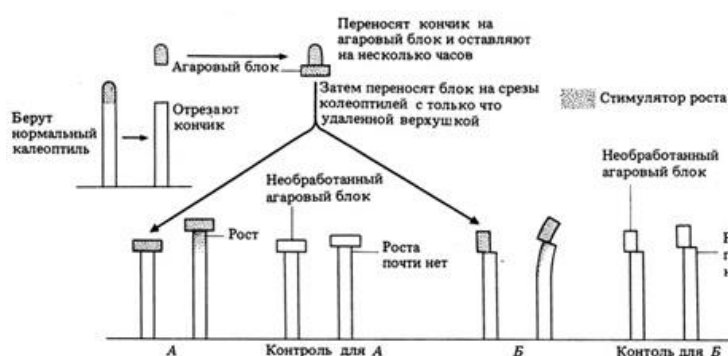


Рис. 13.2. Опыт Вента и Холодного.

Разнообразие. В первой половине XX века было выделено вещество – *индолилуксусная кислота (ИУК, или IAA)*. ИУК – основной ауксиновый гормон растений; исключения редки. Среди них можно назвать *4-хлориндолилуксусную кислоту*, обнаруженную в репродуктивных структурах Бобовых (однако следует понимать, что их основным ауксином всё-таки является ИУК). Неактивной формой ИУК можно назвать *индолилмаслянную кислоту (ИМК)* – популярный у садоводов стимулятор корнеобразования, которая должна подвергнуться одному акту бета-окисления, превратившись в ИУК. Ауксиноподобным действием обладает *фенилуксусная кислота*, обнаруженная в табаке (рис. 13.3).

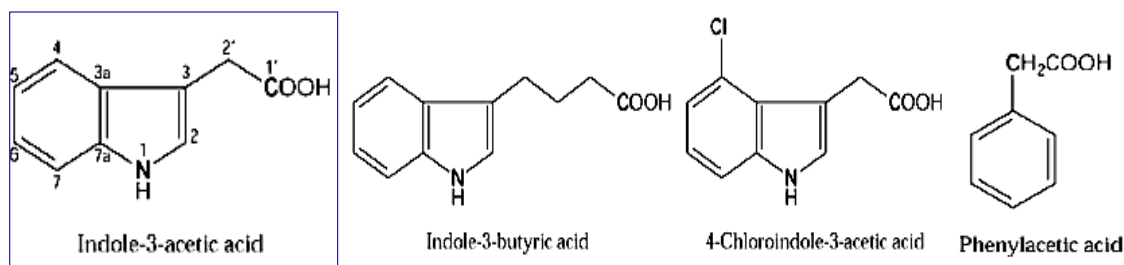


Рис. 13.3. Слева-направо: ИУК, ИМК, 4-хлор-ИУК, фенилуксусная кислота.

Существует ряд искусственных ауксинов. Среди них – *альфа-нафтилуксусная кислота* (*α-НУК*) и *2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота* (*2,4-Д*) (рис. 13.4). Для искусственных ауксинов у растений отсутствуют качественные системы инактивации, поэтому эти аналоги ауксинов в больших концентрациях проявляют гербицидные свойства. Так, например, 2,4-Д и его аналоги были компонентами печально известного агента “оранж”, применявшегося во времена Вьетнамской войны.

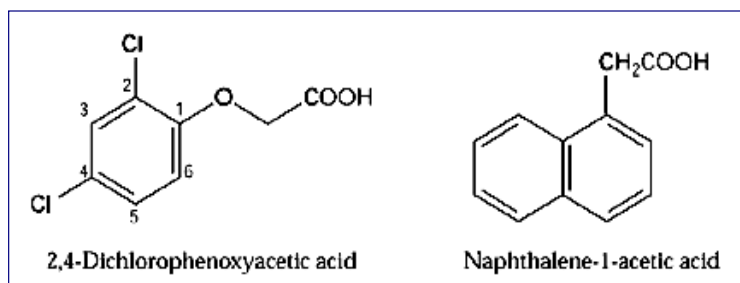


Рис. 13.4. 2,4-Д и альфа-НУК.

Биосинтез. Для любого гормона в растениях существуют несколько путей биосинтеза. Ауксины не являются исключением. Несколько вариантов путей биосинтеза, начинающихся с аминокислоты триптофана, называют “*триптофан-зависимыми*”. Однако мутанты, не способные синтезировать нормальное количество триптофана, сохраняли способность к синтезу достаточного количества ИУК, что наталкивает исследователей на предположение, о существовании гипотетического *триптофан-независимого пути*.

Основным путём синтеза ИУК является путь, связанный с образованием промежуточного соединения – *индолилтиривиноградной кислоты* (*ИПК*), которое затем подвергается декарбоксилированию с образованием ИУК (рис. 13.5).

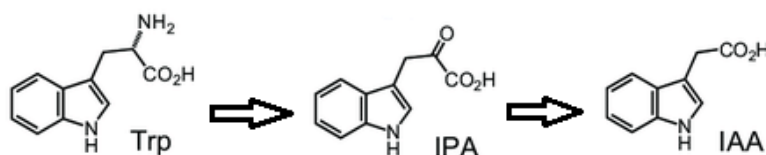


Рис. 13.5. Основной путь биосинтеза ИУК.

Основными местами синтеза ИУК являются апикальная меристема побега, молодые листья и в очень низких концентрациях – апекс корня.

Инактивация. ИУК может подвергаться обратимому или необратимому образованию конъюгатов. В обоих случаях вещество теряет физиологическую активность в качестве гормона. Конъюгаты могут накапливаться в запасующих тканях, где при необходимости могут быть вновь преобразованы в активную ИУК. ИУК способна образовывать низкомолекулярные конъюгаты с глюкозой, инозитолом, некоторыми органическими кислотами, аминокислотами и др. и высокомолекулярные конъюгаты с олигосахарами, пептидами и гликопротеинами.

ИУК может подвергаться деградации в ходе реакции декарбоксилирования благодаря работе фермента ИУК-оксидазы (рис. 13.6).

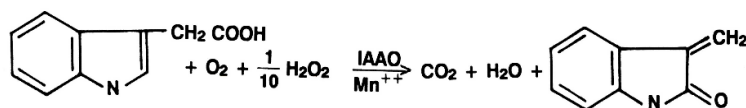


Рис. 13.6. Реакция деградации ИУК.

Транспорт. Хорошо изучен полярный транспорт ИУК. ИУК может входить в клетку с апикальной стороны из апопласта двумя способами: пассивно в форме незаряженной молекулы или с использованием вторично активного транспорта с протонами в форме иона. Пройдя клетку, ИУК может выходить в апопласт благодаря специальным переносчикам семейства PIN или АВС-транспортёрам семейства PGP (рис. 13.7).

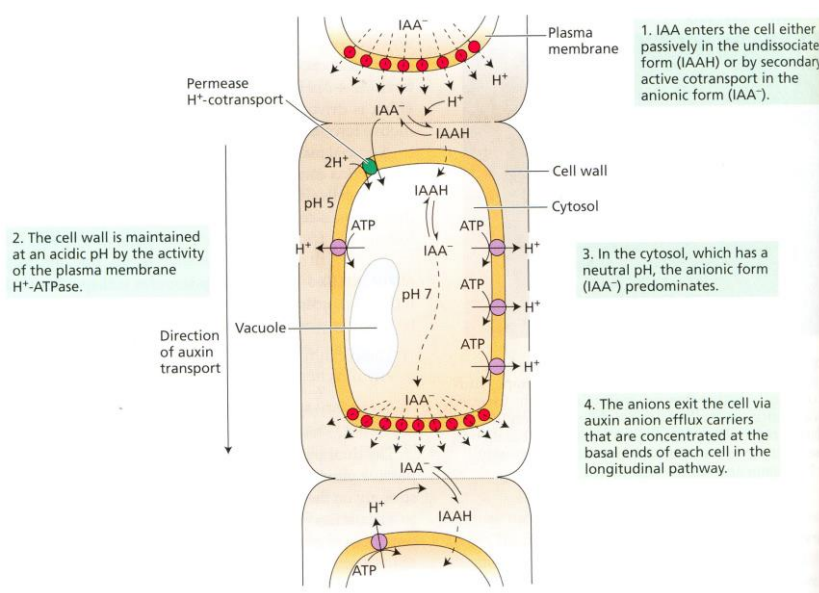


Рис. 13.7. Полярный транспорт ауксинов.

Разные типы переносчиков PIN могут экспрессироваться в различных тканях и располагаться на разнообразных сторонах клетки, что обеспечивает тонкую регуляцию процесса транспорта гормона. Проиллюстрировать это можно на примере устройства фонтанирующего потока ауксина в апексе корня (рис. 13.8), обеспечивающего возврат ауксина из кончика корня.

Физиологическое действие. Ауксины регулируют процессы деления клеток, обеспечивая экспрессию определённых циклин-зависимых киназ, регулирующих клеточный цикл. Другие растительные гормоны – цитокинины, о которых будет сказано далее в лекции, обеспечивают синтез других важных для регуляции цикла компонентов – белков циклинов.

Ауксины обуславливают рост растяжением в соответствии с *моделью кислого роста*, которая была рассмотрена в предыдущей лекции. Ауксины способствуют закислению апопласта, участвуя в *активации протонных помп* и растяжении мембраны, опосредованном *активацией белков экспансинов*, которые рассматривались при обсуждении устройства клеточной стенки.

Ауксины участвуют в разметке органов – листовых примордиев, флоральных почек; участвуют в разметке и развитии органов зародыша.

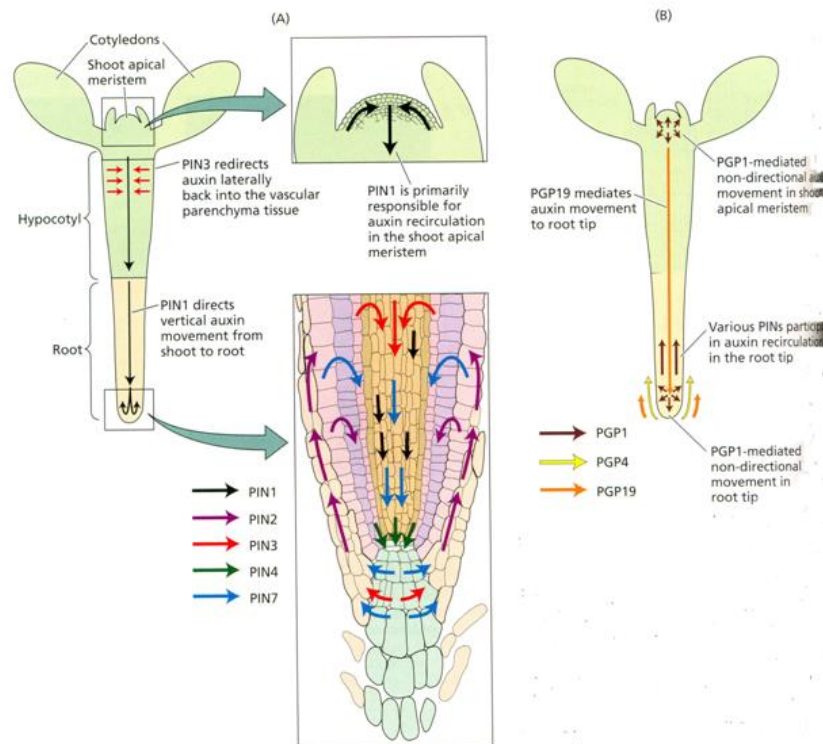


Рис. 13.8. Фонтанирующий поток ИУК. Разнообразие PIN и PGP.

Ауксины и перераспределение их потоков ответственны за явления тропизмов: *фототропизма*, который был рассмотрен на примере опытов Ч. и Ф. Дарвинов, *гравитропизма*.

Рассмотрим механизм *гравитропической реакции корня*. Как уже обсуждалось ранее, одной из необычных функций амилопластов является их участие в рецепции гравитации в качестве статолитов в корневом чехлике. Доказательством роли силы тяжести в гравитропической реакции служит опыт с клиноставом, где при определённой скорости вращения клиностага пропадает верное распознавание вектора силы тяжести растением (рис. 13.9).

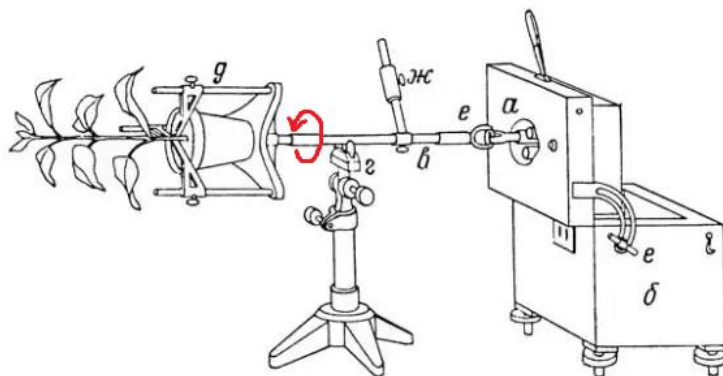


Рис. 13.9. Опыт с клиностадом.

При неvertикальном расположении корня происходит перераспределение потоков ИУК (обусловленное не до конца известным сигналом, связанным со статолитами), которая в малых концентрациях стимулирует деление клеток и их растяжение, а в больших – ингибирует. Это приводит к неравномерному росту сторон корня и, в конечном итоге, к возврату корня в вертикальное положение (рис. 13.10).

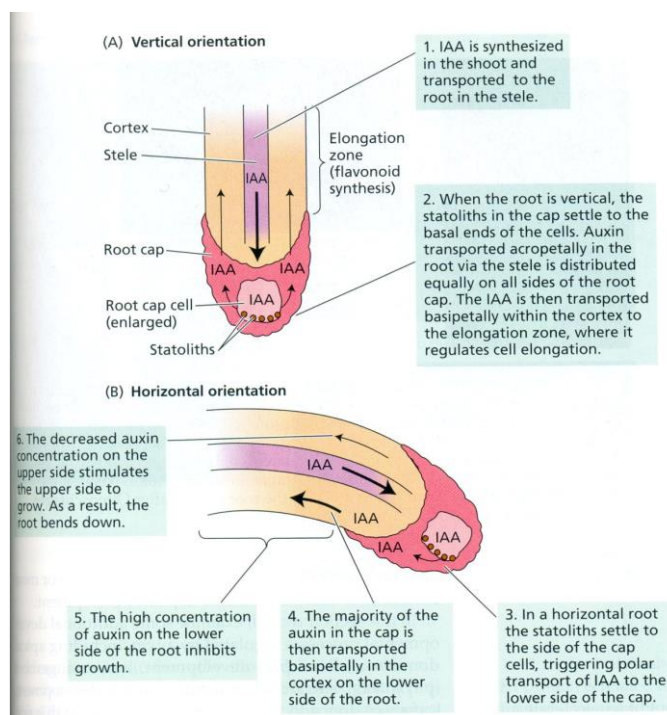


Рис. 13.10. Роль ИУК в гравитропической реакции корня.

Ауксины, синтезируемые апексом побега, подавляют развитие боковых почек, перенаправляя питательные вещества в апекс. Это явление получило название *апикального доминирования*, которое может быть искусственно “снято” удалением апекса, что часто делают садоводы для придания кустам пышности.

Ауксины участвуют в закладке боковых и придаточных корней и нашли применение в ряде препаратов-стимуляторов корнеобразования, полезных, например, при черенковании (рис. 13.11).



Рис. 13.11. Черенки роз, обработанные “Корневином” – препаратом, содержащим ИМК.

Кроме описанных выше процессов, ауксины участвуют в дифференцировке ксилемы, росте плодов, задержке опадания листьев и ряде других процессов.

Цитокинины

История открытия цитокининов связана с одной научной легендой. В лаборатории *Ф. Скуга* и *К. Миллера* пытались получить каллусы (твёрдая культура растительных клеток, выращиваемая в стерильных условиях) из растительных эксплантов (группа клеток, отделенная от материнского организма). Для этого использовали уже открытую ИУК, однако каллус не образовывался. Учёные выдвинули гипотезу о том, что клеткам для образования каллуса не хватает ДНК. В качестве источника ДНК использовалась молоки сельди, которые случайно были перегреты так, что в питательную среду попали продукты деградации ДНК, среди которых было вещество, позже названное *кинетином* (рис. 13.11).

Разнообразие. Спустя некоторое время стало понятно, что в растениях кинетин не синтезируется. Таким образом, это вещество было не просто первым открытым цитокинином, но и первым открытым искусственным цитокинином.

Для цитокининов, в отличие от ауксинов, характерно большее разнообразие форм. Все формы цитокининов в качестве основы имеют пренилированный аденин (азотистое основание аденин, к которому присоединён изопентильный остаток). Транспортные формы цитокининов также имеют присоединённый остаток рибозы, повышающий гидрофильные свойства молекулы, что способствует транспорту (рис. 13.11).

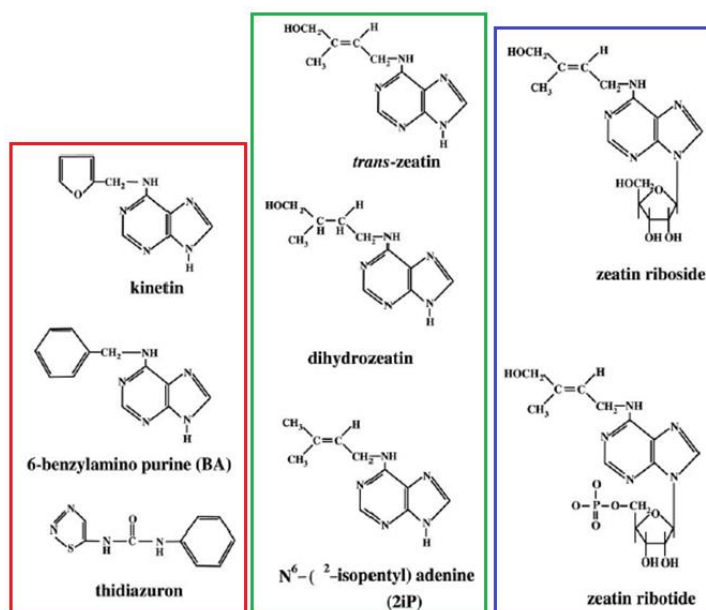


Рис. 13.11. Разнообразие цитокининов. Красным выделены искусственные цитокинины, зелёным – активные формы, синим – транспортные.

Биосинтез. Не трудно догадаться, что цитокинины могут синтезироваться из АТФ, либо АДФ или даже АМФ. Синтез включает несколько стадий. На первой АТФ или АДФ должны быть *пренилированы* при помощи фермента изопентилтрансферазы; на второй происходит *модификация изопентильного остатка*, например, его окисление: на третьей в несколько или один шаг происходит *отщепление фосфатных групп и рибозы* (рис. 13.12).

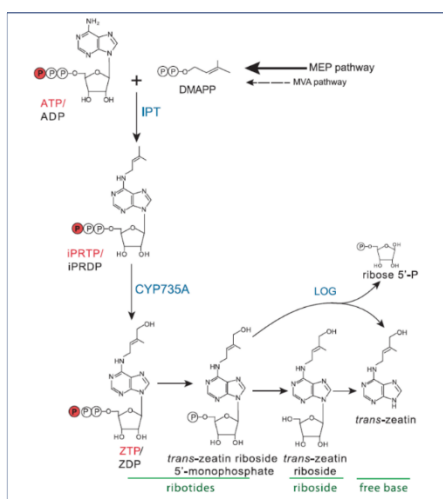


Рис. 13.12. Биосинтез цитокининов.

Основное место синтеза цитокининов – апикальная меристема корня, но они могут также синтезироваться в молодых листьях и в развивающихся семенах.

Инактивация. Цитокинины могут образовывать *конъюгаты*, при этом модификация молекул может происходить как по О-атомам, так и N. Причём О-гликозилирование обратимо, а N-гликозилирование – нет. В деградации цитокининов принимает участие фермент цитокининоксидаза, окисляющая цитокинины (рис. 13.13).

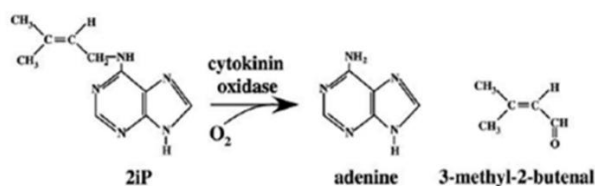


Рис. 13.13. Цитокининоксидаза.

Транспорт цитокининов является двунаправленным: по ксилеме транспортируются цитокинины транс-зеатинового типа, а по флоэме – изопентенил-аденинового (рис. 13.11). Вход в клетки обеспечивается неспецифическими переносчиками нуклеозидов семейств PUP и ENT. ABC-транспортёры же перемещают цитокинины из клеток.

Физиологическое действие цитокининов многогранно. Они вместе с ауксинами необходимы для деления клеток. Цитокинины участвуют в привлечении питательных веществ и задержке старения листьев. Антагонистические по отношению к ауксинам действия заключаются в снятии апикального доминирования и подавлении развития боковых корней. Если ауксины стимулируют развитие ксилемы, то цитокинины стимулируют развитие флоэмы. Цитокинины антагонистичны и другому гормону – абсцизовой кислоте, что проявляется в том, что они участвуют в прерывании покоя семян и открытии устьиц.

Кроме того, естественные или искусственные цитокинины используются при каллусогенезе. Причем изменение соотношений цитокининов и ауксинов будет влиять на морфогенез образцов (рис. 13.14).

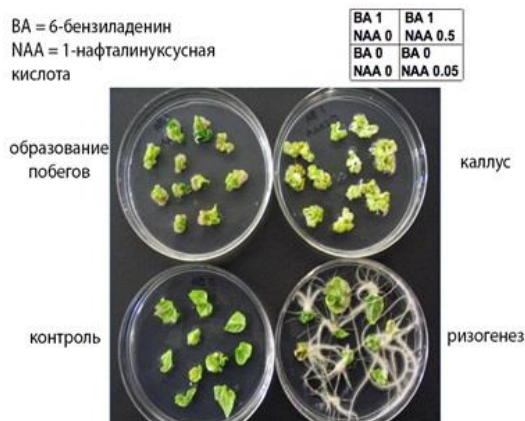


Рис. 13.14. Разные соотношения искусственных ауксинов (NAA) и цитокининов (BA) влияют на то, образуются ли из экспланта побеги (геммогенез), каллус (недифференцированная опухоль) или корни (ризогенез).

Гиббереллины

История открытия гиббереллинов связана с изучением причин, вызывающих болезнь риса, при которой его стебли неадекватно удлиняются, что приводит к перелому стебля, а, следовательно, и порче урожая. Было выяснено, что болезнь вызвана грибом *Gibberella fujikuroi*, который, как оказалось, выделяет вещество – *гибберелловую кислоту* (ГК, или *GA*), заставляющую междоузлия растений удлиняться. В последствии выяснилось, что ГК – это растительный гормон, который гриб научился синтезировать для того, чтобы регулировать физиологию растения-хозяина.

Разнообразие. Гиббереллины характеризуются наиболее богатым разнообразием среди растительных гормонов (рис. 13.15). Насчитывается более 130 веществ гиббереллиновой природы, обладающих различной активностью, способностью к транспорту и к связыванию с рецептором. В данном случае химическая модификация выступает в роли способа регуляции, что обуславливает такое богатство структур. К важнейшим физиологически активным гиббереллинам относятся GA1, GA3, GA4, GA7.

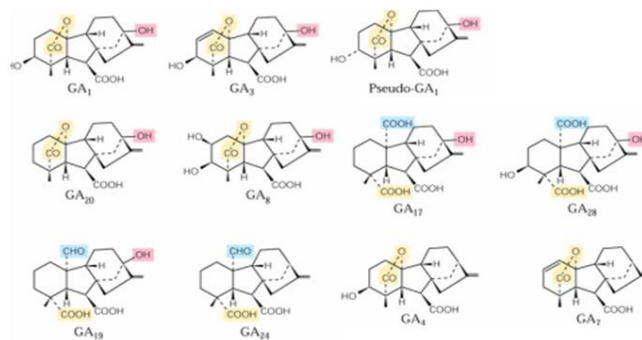


Рис. 13.15. Разнообразие гиббереллинов настолько велико, что для них не придумывали отдельных названий, а лишь присваивали номера.

По строению выделяют две основные группы GA – содержащие 20 или 19 атомов углерода в своём скелете. C19 гиббереллины обычно имеют лактонное кольцо от C4 к C10. Активные C19 Gas содержат лактонное кольцо, карбоксил у C6 и β-гидроксил у C3. Гидроксилирование по C2 же снимает активность.

Биосинтез гиббереллинов протекает в трёх органеллах. В пластидах по пути синтеза изопреноидов образуется молекула *геранилгераниолдифосфата (GGPP)*, которая циклизуется в несколько этапов с образованием молекулы *энт-каурена*. Затем в ЭПР происходит окисление молекулы и её транспорт в цитозоль, где происходит химическое *декорирование* и образование итоговых продуктов (рис. 13.16).

Хорошо изучена роль гиббереллинов в прорастании семян злаков, где гиббереллины синтезируются в гипокотиле, диффундируют к алейроновому слою, вызывая синтез гидролитических ферментов, расщепляющих крахмал (рис. 13.18).

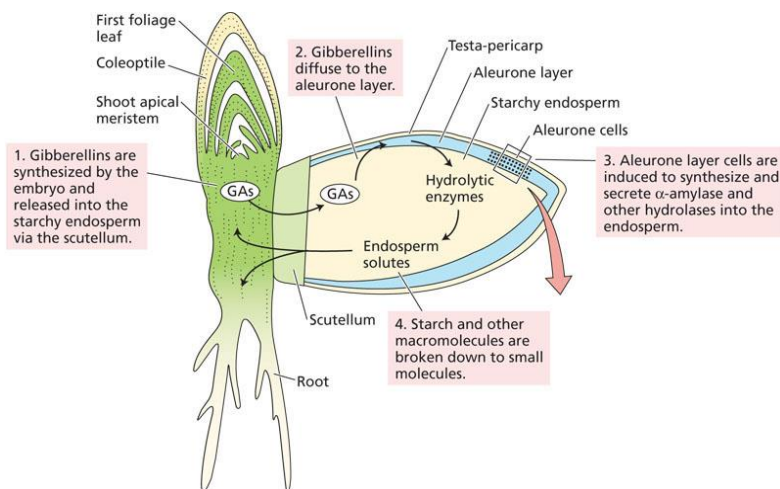


Рис. 13.18. Стимуляция синтеза гидролитических ферментов алейроновым слоем.

Лекция 14. Гормоны растений. Часть 2

Абсцизовая кислота

История открытия. Абсцизовая кислота (АБК, или АВА – abscisic acid) была открыта в 1960х годах двумя независимыми группами учёных, одна из которых дала веществу название *дормин* (англ. dormancy – покой), а другая – *абсцизин* (англ. abscission – опадение).

Разнообразие. Возможны разные изомеры этого вещества, однако активной формой является лишь (S)-*cis*-абсцизовая кислота (рис. 14.1). (R)-*cis*-АБК также активна, однако не способна индуцировать закрытие устьиц. Лунулариевая кислота, биохимически не связанная с АБК, а являющаяся фенольным соединением, возможно, является функциональным аналогом АБК у печёночных мхов.

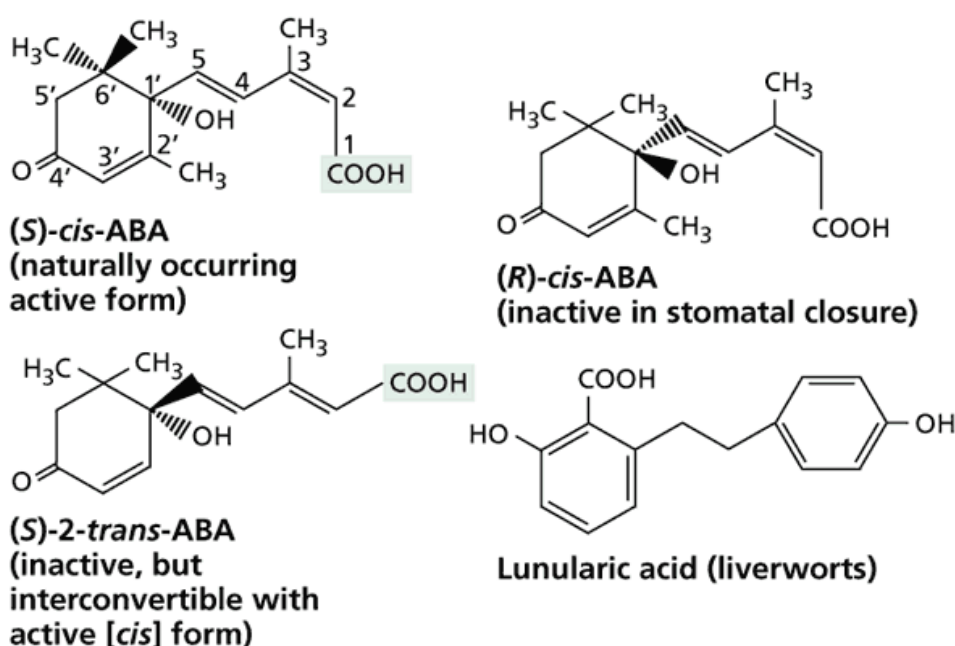


Рис. 14.1. Структура изомеров абсцизовой кислоты; лунулариевая кислота.

Биосинтез и транспорт. Абсцизовая кислота является апокаротиноидом – соединением, образующимся в ходе расщепления каротиноидов (рис. 14.2). Таким образом, очевидно, АБК синтезируется в пластидах, хотя последние этапы синтеза протекают в цитозоле. АБК могут синтезировать любые клетки, однако максимальная концентрация вещества наблюдается в покоящихся почках, семенах и сухих плодах.

Сигналом для синтеза абсцизовой кислоты является снижение доступности воды, происходящее при засухе или засолении. Обезвоживание приводит к снижению тургора в корнях, что является сигналом для синтеза АБК. Далее АБК транспортируется из корней в листья по ксилеме, вызывая закрытие устьиц.

При снижении тургора в листьях АБК накапливается в листе и по флоэме транспортируется в корень, стимулируя поглощение воды.

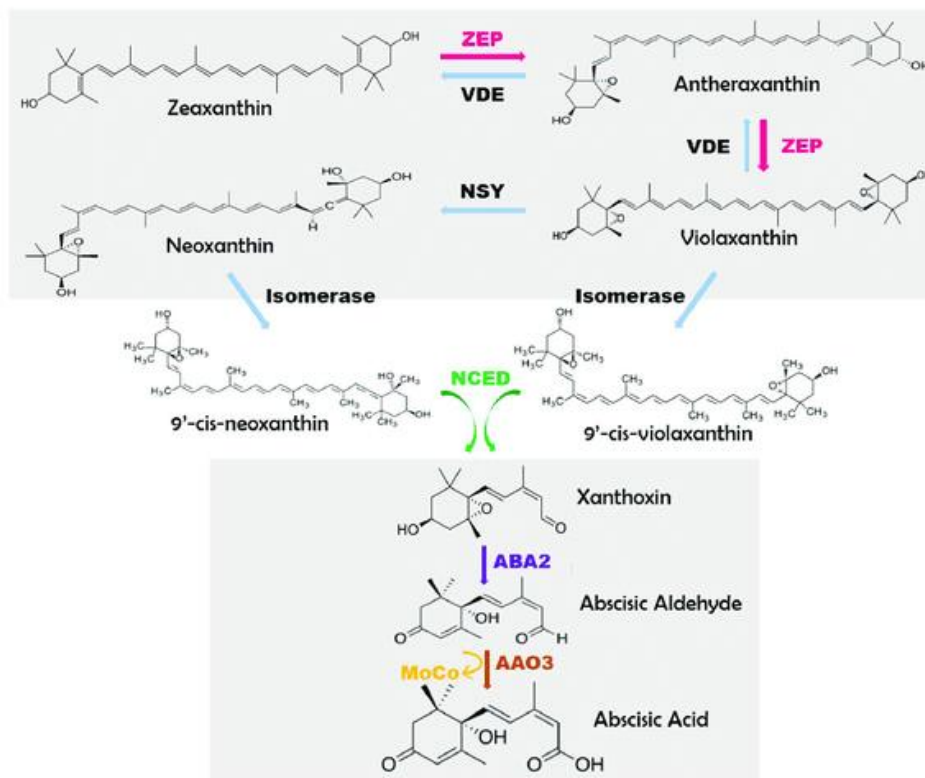


Рис. 14.2. Биосинтез абсцизовой кислоты.

Инактивация. Абсцизовая кислота может подвергаться образованию конъюгатов с сахарами, что приводит к её инактивации, причём конъюгаты могут присоединяться в различных частях молекулы, образуя простые или сложные эфирные связи (рис. 14.3). Началом деградации АБК является её окисление, которое также может происходить по нескольким возможным положениям.

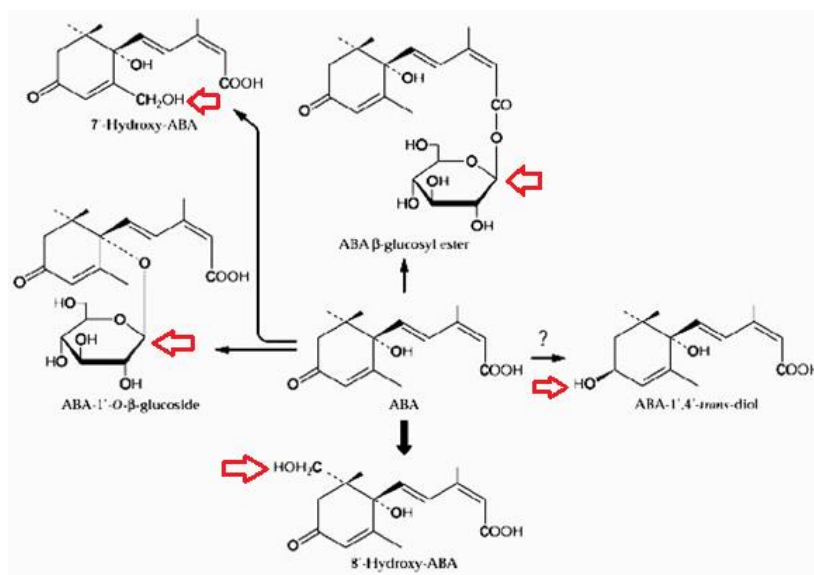


Рис. 14.3. Инактивация абсцизовой кислоты.

Физиологические эффекты. Абсцизовая кислота – гормон покоя и гормон водного стресса. Она обуславливает синтез различных *осмотиков*: оксипролина, сахарозы, небольшого гидрофильного белка осмотина. Кроме того, синтезируются положительно заряженные *полиамины*, экранирующие нуклеиновые кислоты с целью их защиты при осмотическом стрессе.

При засухе (*вынужденный покой*) АБК способствует уменьшению транспирирующей поверхности, вызывая опадение листьев. Кроме того, под действием АБК устьица закрываются за 10-15 минут. Мутанты по биосинтезу АБК гибнут при лёгкой засухе или слабых заморозках.

АБК обуславливает переход к покою: прекращаются процессы синтеза ДНК, РНК, хлорофилла и белков; закрываются устьица; подавляется действие ауксинов, цитокининов и гиббереллинов, с которым АБК находится в антагонизме.

АБК обуславливает переход в состояние *физиологического покоя* семян и почек, вызывая, в частности синтез запасных веществ, и предотвращая преждевременное прорастание. На насыщенном АБК побеге развиваются почки в пазухах листьев, а транспорт ауксинов останавливается. Нарушение синтеза, накопления или преждевременное разрушение гормона отражается на жизни растений (рис. 14.4).

При выходе семян из покоя количество АБК должно постепенно снижаться, а количество его антагонистов – гиббереллинов – повышаться.



Рис. 14.4. Слева: конский каштан, вышедший тёплой осенью из состояния покоя.
Справа: мутант кукурузы по синтезу АБК, у которого семена прорастают на початке, не вступая в период покоя.

У водных растений абсцизовая кислота обуславливает явление *гетерофилии*, при котором листья, погруженные в воду, имеют морфологию, отличающуюся от морфологии надводных листьев (рис. 14.5).



Рис. 14.5. Гетерофилия кувшинки, регулируемая АБК.

Этилен

История открытия. В XIX веке было замечено, что деревья, растущие вблизи газовых фонарей, изменяют свою морфологию, а кроме того, сбрасывают листья. В 1901 г. Дмитрий Нелюбов исследовал на проростках гороха *тройной ответ на этилен*: формирование апикальной петельки (для предотвращения повреждения апекса), утолщение гипокотилия с подавлением его вертикального роста и плагитропный рост, параллельный поверхности Земли (для обхождения препятствия при прорастании, когда, например, в почве проросток упирается в камешек).

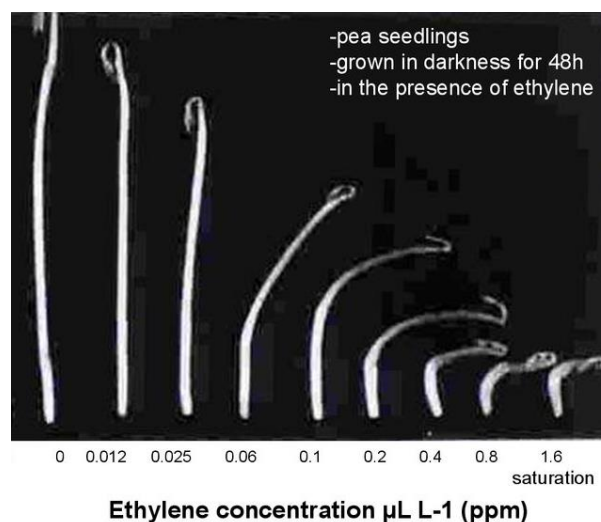


Рис. 14.6. Опыт, демонстрирующий тройной ответ на этилен, увеличивающийся по мере увеличения концентрации.

Биосинтез. В 1930е годы было доказано, что этилен может синтезироваться самими растениями. Биосинтез этилена связан с *циклом Янга*. В нём к метионину присоединяется аденозин с образованием S-аденозилметионина (SAM) – часто используемого в биохимических превращениях переносчика метильных групп. Однако при синтезе этилена фермент *АЦК-синтаза* отщепляет от SAM вещество-предшественник этилена – аминокислоту (АЦК). Именно этот фермент является важнейшей регуляторной точкой синтеза этилена, а АЦК – транспортной формой гормона. Фермент АЦК-оксидаза окисляет АЦК с образованием этилена, углекислого газа и цианида (синильной кислоты).

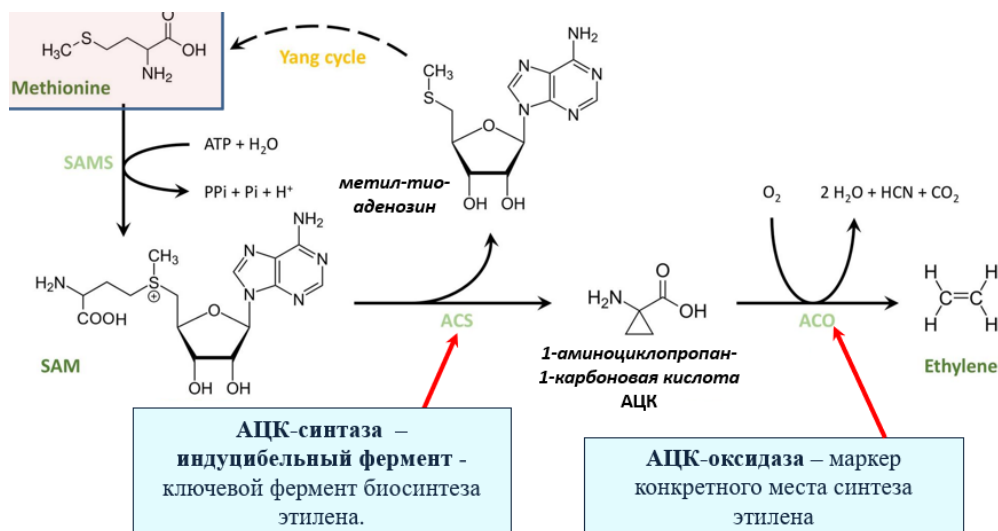


Рис. 14.7. Биосинтез этилена.

Транспорт. АЦК транспортируется по ксилеме (при затоплении и гипоксии) или флоэме. На плазмалемме АЦК транспортируется переносчиком аминокислот, что логично, ведь АЦК и является непротеиногенной аминокислотой по своей структуре.

Инактивация. АЦК может инактивироваться, образуя конъюгаты с большим разнообразием веществ, включая малоновую кислоту, глутамат и даже предшественник другого гормона – жасминовую кислоту (рис. 14.8). Конъюгаты АЦК не транспортируются, а накапливаются в вакуоли клетки.

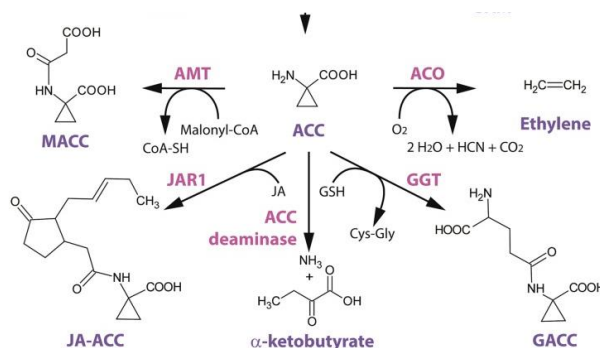


Рис. 14.8. Инактивация на уровне предшественника.

Физиологическое действие. Помимо того, что этилен обуславливает уже обсуждавшийся тройной ответ у проростков, он участвует в растительном иммунитете, вызывая синтез хитиназ, бета-глюканаз и токсичных вторичных метаболитов.

Этилен обуславливает подготовку и переход к покою: прекращается деление клеток, наступает листопад (этилен обуславливает отток питательных веществ из листа и формирование отделительного слоя), созревают сочные климактерические плоды (поэтому недозревшие томаты можно плотно положить в ящик для дозревания, а бананы разредить для предотвращения их преждевременного перезревания), формируется и декорируется вторичная клеточная стенка, подавляется транспорт ауксинов и усиливается синтез АБК.

Под действием этилена происходит отделение привлекающего насекомых аппарата – лепестков; происходит увядание тычинок и начинается активный рост завязи.

При затоплении и гипоксии под действием этилена образуются придаточные корни и формируется аэренхима – ткань, проводящая воздух.

Интересен механизм перехода к цветению у представителей семейства Бромелиевые. Бромелиевые – эпифиты, в чьей розетке листьев накапливается вода и через которую они получают питание. При механическом опрокидывании розетки начинается стресс, выделяется этилен и наступает переход к цветению (рис. 14.9). По этой причине, например, комнатное растение эхмею поливают, наливая воду в розетку, а искусственно индуцируют цветение, закладывая в розетку перезревающее яблоко – источник этилена.

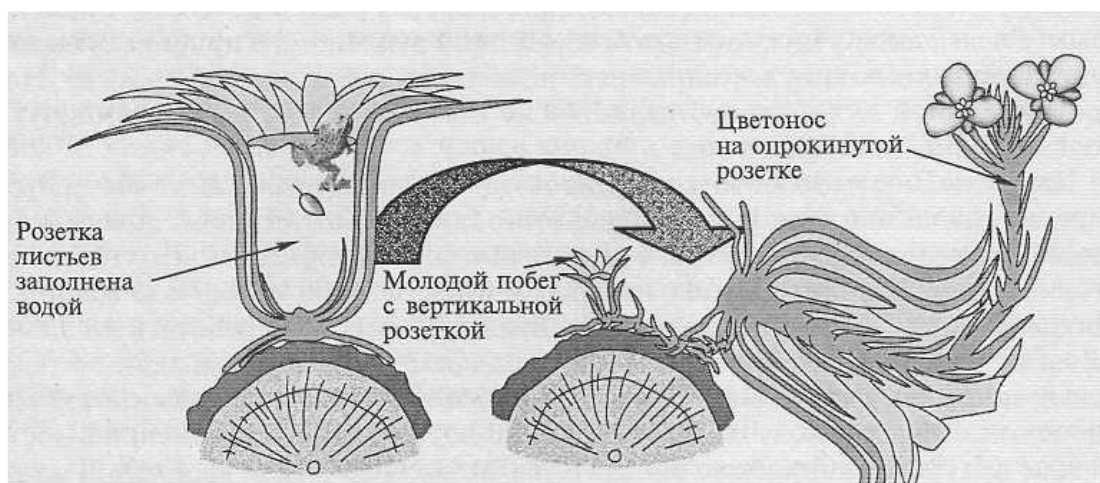


Рис. 14.9. Цветение у Бромелиевых.

Брассиностероиды

История открытия. С давних пор было известно о наличии у животных стероидных гормонов, поэтому длительное время велись попытки обнаружить их у растений. В 1980е годы из 227 кг пыльцы капусты было выделено 4 мг брассиностероида.

Разнообразие. Брассиностероиды – гидроксированные стероидные соединения. Выделено около 70 структур, различающихся положениями гидроксильных групп, наличием или отсутствием кето- или эпокси групп.

Биосинтез. Биосинтез брассиностероидов начинается с кампестерола – растительного функционального аналога холестерина, входящего в состав клеточных мембран. Существует несколько альтернативных путей синтеза, различающихся “временем” окисления 6 атома углерода молекулы (рис. 14.10).

Транспорт. Брассиностероиды транспортируются внутри клетки и между отдельными клетками по плазмодесмам. Дальний транспорт для брассиностероидов пока не обнаружен, хотя, возможно, они способны транспортироваться к соседним клеткам по апопласту.

Инактивация. Брассиностероиды могут образовывать конъюгаты (например, с сахарами), подвергаться окислению, эпимеризации или деметилированию, что приводит к потере их активности.

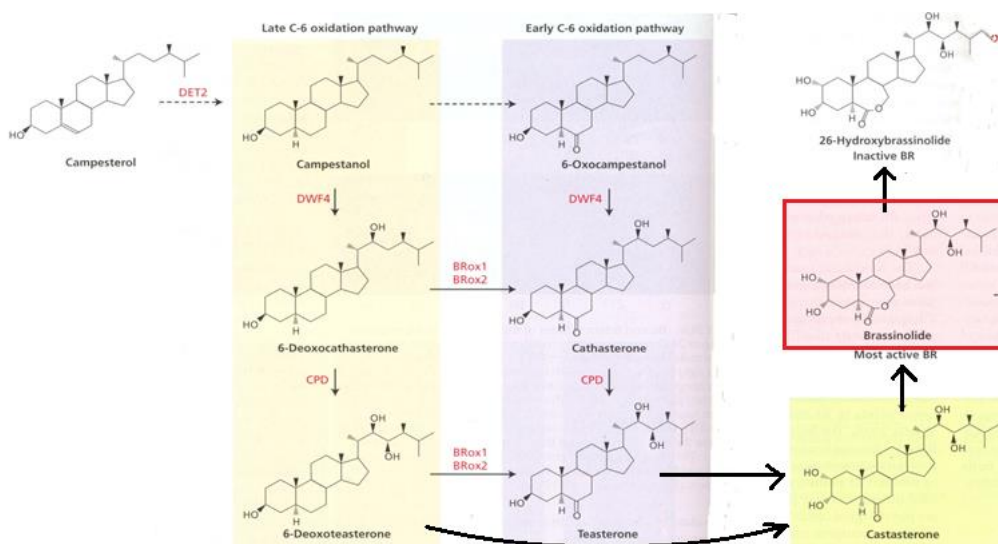


Рис. 14.10. Биосинтез и инактивация брассинолида – наиболее активного брассиностероида (выделен красной рамкой).

Физиологическое действие. Брассиностероиды отвечают за поддержание роста клеток – если ауксины и гиббереллины запускают реакции растяжения клеток (быстрый ответ), то брассиностероиды поддерживают длительный рост.

Длительный рост важен, например, при росте пыльцевой трубки. Поэтому в пыльце, где они были обнаружены, наблюдается максимальное содержание брассиностероидов. Кроме того, брассиностероиды необходимы для роста тычиночных нитей.

Брассиностероиды обуславливают рост в длину клеток столбчатого мезофилла листьев и дифференцировку сосудов ксилемы.

Действуя в синергизме с ауксинами, brassinosterоиды усиливают гравитропическую реакцию и подавляют рост в больших концентрациях.

Мутанты по синтезу или ответу на brassinosterоиды являются карликами тёмно-зелёного цвета с нарушениями апикального доминирования и стерильной пылью (рис. 14.11).



Рис. 14.11. Слева: дикий тип, справа: мутанты по биосинтезу или рецепции brassinosterоидов.

Стриголактоны

История открытия. Стриголактоны были открыты как вещества, вызывающие прорастание семян паразитических растений. Стриголактоны выделяются корнями растений для привлечения симбиотических грибов, что используется паразитическими растениями как сигнал о близком нахождении потенциального хозяина (рис. 14.12 справа).

Разнообразие. Стриголактоны обязательно обладают лактонным кольцом (рис. 14.12 слева) и различаются по изомерии и окисленности атомов углерода в скелете. Всего обнаружено около 20 разнообразных структур.

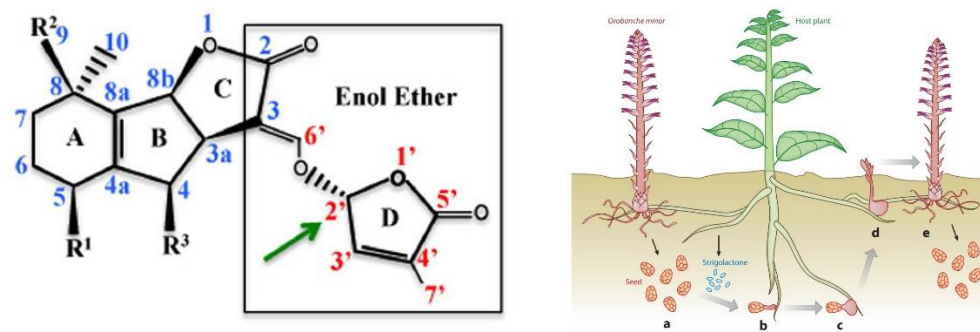


Рис. 14.12. Слева: строение стриголактонов. Стереои́зомерия по 2' атому углерода очень важна для активности гормонов. Справа: стриголактоны вызывают прорастание семян паразитических растений.

Биосинтез. Как и АБК стриголактоны являются апокаротиноидами (рис. 14.13), а их синтез начинается с бета-каротина. Основное место синтеза – корни, однако могут также синтезироваться в побеге. Синтез активируется ауксинами, недостатком элементов минерального питания.

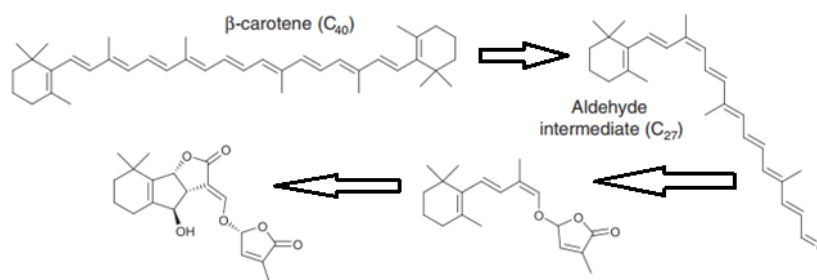


Рис. 14.13. Биосинтез стриголактонов.

Транспорт. Транспортируются из клеток через ABC-транспортеры. Выходят из корней в ризосферу, а также могут транспортироваться внутри самого растения, перемещаясь в побег по ксилеме.

Инактивация стриголактонов происходит при взаимодействии с рецептором, который отщепляет от молекулы кольцо D.

Физиологическое действие. При недостатке фосфора или азота растение начинает выделять стриголактоны. Грибы в ответ на эти соединения активируют свой рост и выделяют *Мус*-факторы (олигомеры хитина и липохитоолигосахариды) в качестве ответного сигнала для растений. *Мус*-факторы гриба взаимодействуют с ещё не открытыми рецепторами на мембране клетки корня, что запускает внутри неё сигнал, обусловленный “кальциевой подписью”, что приводит к формированию препенетрационного аппарата, направляющего проникновение гифы гриба (рис. 14.14 слева). Затем происходит перестраивание плазмалеммы растительной клетки, куда встраиваются уникальные транспортеры фосфата, аммония, сахаров, и формируется преарбускулярная мембрана (рис. 14.14 справа). Растение получает неорганический фосфат и аммоний, а отдаёт около 20% углеводов фотосинтетического происхождения и некоторые жирные кислоты.

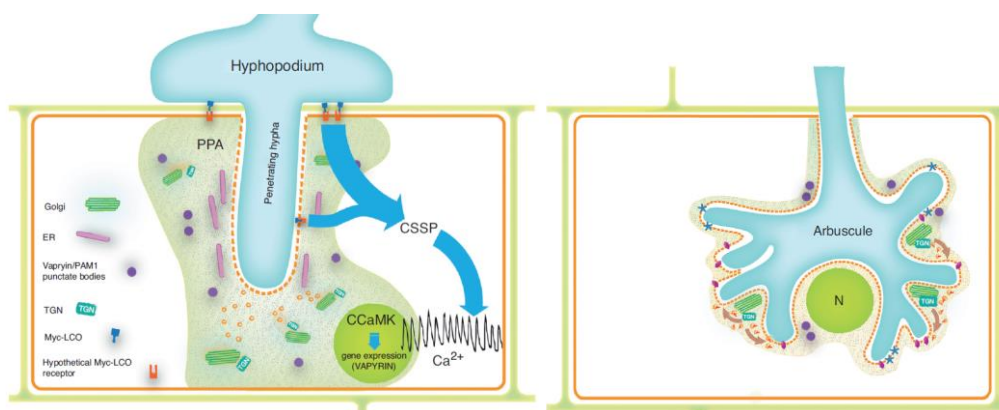


Рис. 14.14. Образование арбускулярной микоризы.

Стриголактоны обуславливают архитектуру побега и корня, поэтому у мутантов по синтезу или рецепции этих гормонов формируются неадекватно разветвлённые побеги и образование слишком большого количества боковых корней.

Жасмонаты

История открытия. В 1960х годах метилжасмонат обнаружен как компонент запаха цветов жасмина, а в 1980х доказан физиологический эффект – жасмонаты вызывают старение и подавление роста.

Разнообразие. *Метилжасмонат* – летучая форма гормона (химический язык, на котором могут общаться растения, предупреждая друг друга об атаке патогенами) (рис. 14.15 слева). Для активации он должен быть деметилирован с образованием жасминовой кислоты, которая затем подвергается образованию *конъюгата с изолейцином*. Именно такой конъюгат является активной формой гормона (рис.14.15 справа).

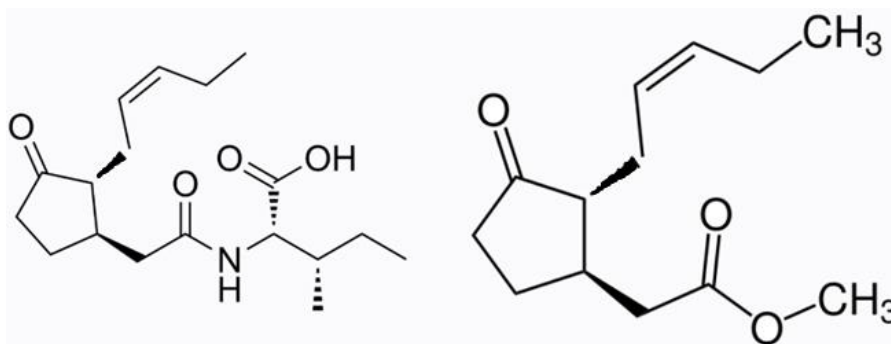


Рис. 14.15. Слева: активная форма – изолейцинжасмонат. Справа: летучая форма - метилжасмонат.

Биосинтез жасмонатов начинается с альфа-линоленовой жирной кислоты и протекает в трёх органеллах (рис. 14.16). В *пластидах* альфа-линоленовая кислота окисляется с образованием 12-оксофитодиеновой кислоты (OPDA), 90% от которой откладываются в мембране хлоропластов в качестве запаса. Затем в *пероксисомах* молекула претерпевает бета-окисление, при котором укорачивается её радикал. В *цитозоле* происходит образование активной формы – конъюгата с изолейцином.

Инактивация осуществляется путем образования конъюгатов или необратимым окислением.

Физиологическое действие. Жасмонаты включены в регуляцию “системной защиты” при внедрении патогенов и при механическом повреждении тканей. Они ингибируют рост растяжением, прорастание пыльцевых трубок, рост корней, подавляют прорастание семян (подавляя гиббереллиновый сигнал), способствуют закрытию устьиц после при атаке патогена.

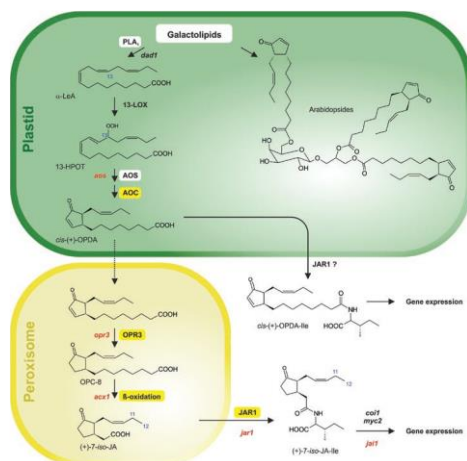


Рис. 14.16. Биосинтез и активация жасминовой кислоты.

Салицилаты

Гликозид салициловой кислоты впервые был выделен из коры ивы (*Salix sp.*). В 1970 годы был обнаружен физиологический эффект – салициловая кислота (рис. 14.17 слева) и её производные, как и жасмонат, включена в регуляцию системной защиты при внедрении патогена или механическом повреждении тканей. Салицилаты синтезируются при также абиотических стрессах: при воздействии ультрафиолета, озона, при высоких температурах, засухе или засолении.

Салициловая кислота является фенольным соединением и синтезируется по *шикиматному пути*. В растениях поддерживается базальный уровень гормона, однако при атаке он возрастает примерно в 100 раз.

Салицилаты блокируют синтез этилена, индуцируют термогенез у Ароидных, вызывают стресс-индуцированное цветение и участвуют в иммунных ответах. Кроме того, они могут участвовать в трансдукции сигналов в качестве вторичных мессенджеров. Салицилаты участвуют в развитии *реакции сверхчувствительности*, когда растение жертвует не только поврежденными клетками, но и здоровыми клетками, окружающими повреждённые, через систему программируемой клеточной гибели (рис. 14.17 справа). При этом патоген выделяет вещество (*элизитор*), которое вызывает синтез жасмонатов и салицилатов. Фрагменты погибшей растительной клетки же являются сигналами для соседних клеток к быстрому синтезу из накопленных предшественников защитных вторичных метаболитов – *фитоалексинов*, которые транспортируются в очаг некроза.

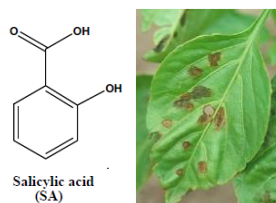


Рис. 14.17. Слева: салициловая кислота. Справа: реакция сверхчувствительности.

Лекция 15. Рецепция света

Ещё до открытия первых фоторецепторов стало понятно, что важнейшими в жизни растений являются кванты синего и красного цвета, а зная свойства основных фотосинтетических пигментов, можно понять почему это так.

На данный момент известно 5 основных групп фоторецепторов: красного света (фитохромы), синего света (криптохромы, фототропины и рецепторы семейства Zeitzlupe) и ультрафиолета (UVR8) (рис. 15.1).

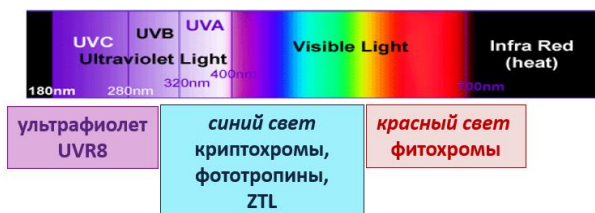


Рис. 15.1. Диапазоны излучения (ультрафиолет С, В и А, видимый диапазон и инфракрасное излучение); ниже подписаны рецепторы, реагирующие на определённые диапазоны излучения.

Фитохромы

В середине XX века был проведён эксперимент по проращению семян *Латука посевного* (*Lactuca sativa*), демонстрировавший эффект так называемой **К/ДК-обратимости** (К-красный, ДК – дальний красный). В темноте или при освещении семян дальним красным светом семена оставались в состоянии покоя, а при освещении красным светом – наблюдалось прорастание. Кроме того, если свет этих длин волн чередовался, прорастание или “непрорастание” семян зависело от того, какой свет воздействовал последним (рис. 15.2). Дело в том, что мелкие семена, такие как у салата латука, содержат мало питательных веществ и не могут обеспечивать прорастающее растение запасёнными питательными веществами в течение длительного срока. Красный свет, в отличие от дальнего красного, хуже проникает сквозь другие растения или тонкий слой почвы, поэтому его отсутствие сигнализирует о затенённости растения, а, следовательно, невозможности моментально после прорастания приступить к фотосинтезу и выжить в тени других растений.

Крупные семена могут долго обеспечивать гетеротрофное существование проростка, а их прорастание обычно не зависит от освещённости, и они не демонстрируют эффект, наблюдаемый в опыте с салатом латуком.



Рис. 15.2. Опыт, демонстрирующий К/ДК-обратимость.

Фитохром – рецептор красного света, отвечающий за прорастание мелких семян, деэтиоляцию (ингибирование удлинения гипокотыля, раскрытие семядолей, развитие хлоропластов и синтез пигментов), обуславливающий реакцию избегания тени и процесс перехода к цветению.

Фитохромы несут особую простетическую хромофорную группу, участвующую в поглощении квантов красного и дальнего красного света и обуславливающую способность фитохрома работать в качестве фоторецептора – *фитохромобилин*. Фитохромобилин (рис. 15.3) – линейный тетрапиррол, по своей структуре схожий с фикобилинами водорослей.

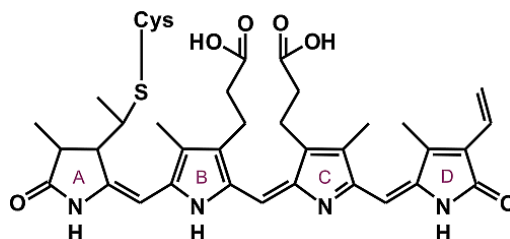


Рис. 15.3. Фитохромобилин, прикрепляющийся к белку через остаток цистеина (Cys).

Фитохромы состоят из двух модулей: фотосенсорного и регуляторного (рис. 15.4). *Фотосенсорный модуль (N-концевой модуль)* участвует во взаимодействии с хромофорной группой, рецепции света, передаче сигнала, а *регуляторный (С-терминальный модуль)* – в процессе димеризации. Эти фоторецепторы работают в виде гомодимеров. Кроме того, фитохромы содержат в регуляторном модуле сигнал ядерной локализации, направляющий молекулу в ядро для участия в процессах регуляции.

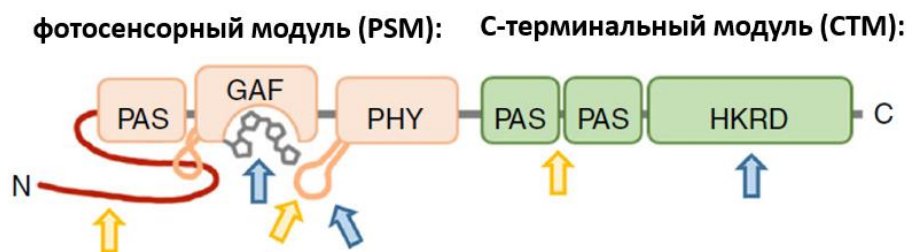


Рис. 15.4. Структура фитохромов. Серым отмечен фитохромобилин, ковалентно прикреплённый к GAF-домену.

При попадании на фитохром квантов красного цвета происходит изомеризация D-кольца фитохромобилина (рис. 15.5 в середине), что приводит к изменению конформации белка. В этом случае он переходит из неактивного состояния, называемого **Pr** (Phytochrome red), в активное состояние **Pfr** (Phytochrome far red). Этот процесс называется *фотоконверсией*. Для активации рецептора в состояние Pr должны перейти оба мономера фитохрома (рис. 15.5 сверху).

При попадании на активный Pr квантов дальнего красного света, происходит переход Pr в неактивное состояние Pfr. То же самое происходит и в темноте, что называют

темновой реверсией. Кроме того, у фитохрома В переход в неактивное состояние также зависит от температуры, а поэтому его также можно считать *терморецептором*.

При описанных переходах структура димера изменяется, что проиллюстрировано на рис. 15.5 снизу.

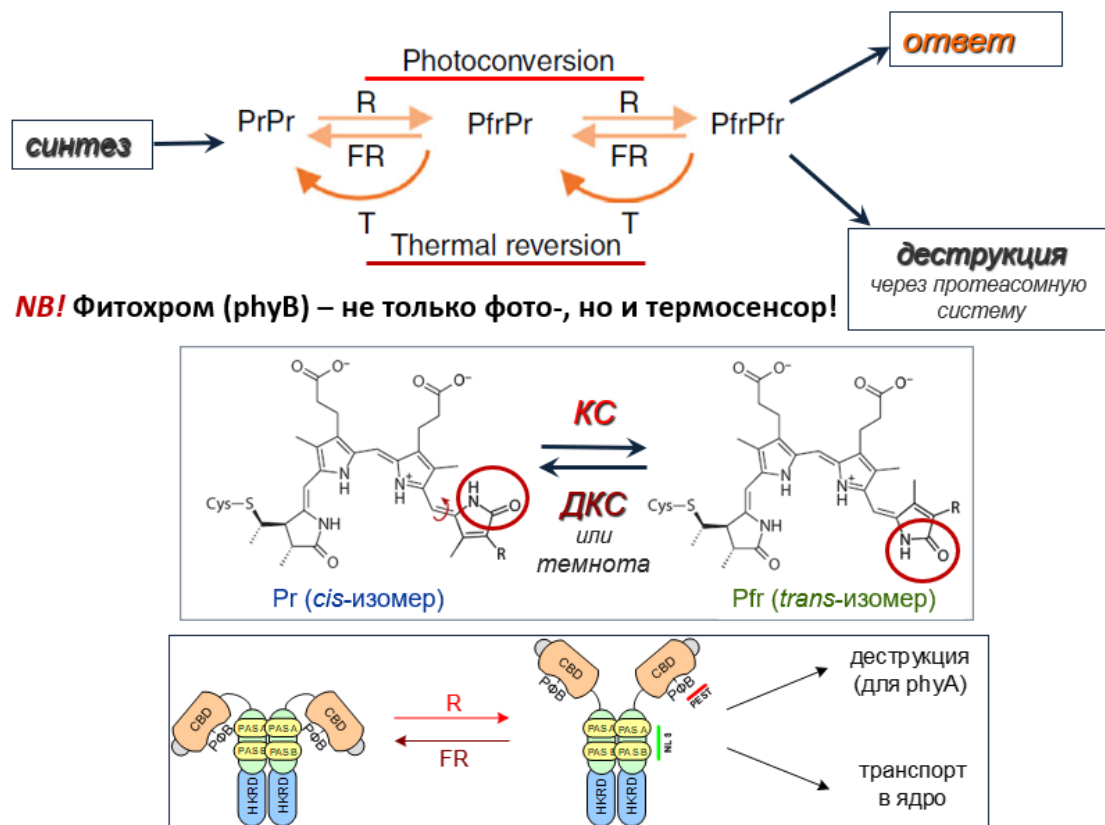


Рис. 15.5. Сверху: фотоконверсия фитохрома (R (red) – красный свет, FR (far red) – дальний красный). Середина: cis/trans – переходы фитохромобилина. Внизу: конформационные изменения апопротеина.

На данный момент у *Arabidopsis* обнаружено 5 типов фитохромов (phy A, B, C, D, E), различающихся по своей чувствительности и физиологическим ответам, обуславливаемым ими. Про типы фитохромов, требуемые для их активности характеристики света, и про примеры физиологических ответов можно прочесть в табл. 15.1.

Основными и наиболее изученными фитохромами являются фитохромы А и В. Фитохром А (phyA) обуславливает, например, индукцию прорастания мелких семян и деэтиоляцию, а phyB кроме этих же функций участвует в реакции избегания тени, измерении длины светового дня и регулирует переход к цветению.

В ряде случаев phyA и phyB могут играть решающую роль в ответе на разные интенсивности освещения у тенелюбивых и светлюбивых растений (рис. 15.6), соответственно. Это связано с тем, что фитохром А сигнализирует о достаточности

освещения даже в сравнительно небольших его количествах, в то время как фитохром В при таком же освещении запускает реакцию избегания тени.

Табл. 15.1. Типы фитохром-зависимых ответов.

тип ответа		действующий свет		обратимость	обес-печивает	примеры физиологических ответов
		спектр	интенсивность			
VLFR	Сверхнизко-энергетические ответы (very low fluence responses)	СС-ДКС	$10^{-12} - 10^{-6}$ моль m^{-2} Импульсы	нет	phyA	<u>У набухших семян и этиолированных проростков</u> , содержащих большое количество фитохрома А: необратимая индукция прорастания семян, деэтиоляция (ингибирование роста этиолированных coleoptiles, индукция синтеза хлорофилла и антоцианов, индукция экспрессии генов CAB/LHCB).
LFR	Низко-энергетические ответы (low fluence responses)	К/ДК	$10^{-6} - 10^{-3}$ моль m^{-2} Импульсы	есть	phyB-E	Прорастание семян, деэтиоляция. В основном у деэтиолированных (зелёных) растений: удлинение стебля, разворачивание листьев, избегание тени, никтинастические движения листьев, измерение длины дня, регуляция перехода к цветению.
HIR (FR-HIR)	Высоко-энергетические ответы (high irradiance responses)	ДК	$> 10^{-3} - 10^{-2}$ моль m^{-2} Постоянное освещение	нет	phyA, phyE	Прорастание семян, деэтиоляция, индукция цветения.



Рис. 15.6. Тенелюбивая кислица и светлюбивый виноград.

Криптохромы

Криптохромы – фоторецепторы синего цвета, обнаруженные на мутанте, который демонстрировал деэтиоляцию в условиях красного освещения, но не выходил из состояния этиоляции на синем свете. Это означало, что проросток реагировал на красный свет, но не «видел» синий, что свидетельствовало о поломке какого-то синего рецептора (рис. 15.7).

Гомологи криптохромов имеются у низших и высших растений, бактерий, грибов и даже животных, включая человека. Изучение генов и структуры криптохромов показало, что эти белки гомологичны бактериальным белкам, участвующим в репарации

ДНК – фотолиазам (рис. 15.8). Криптохромы и фотолиазы содержат общий модуль, включающий простетические группы – 5,10-метиотетрагидрофолат (MTHF, или птерин) и FAD.

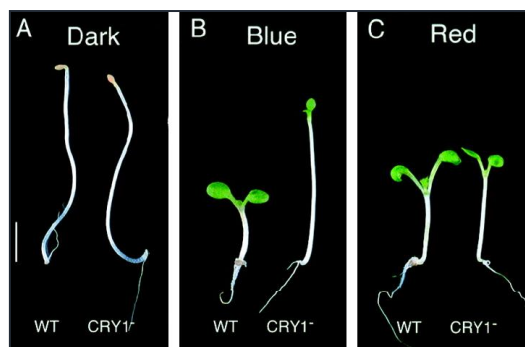


Рис. 15.7. Ответы проростков дикого типа (WT) и мутантов по криптохрому (CRY1⁻) на темноту, синий и красный свет.

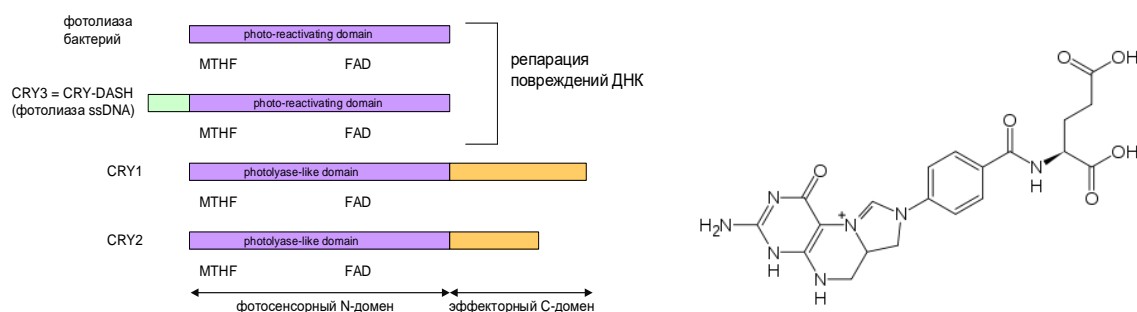


Рис. 15.8. Слева: фотолиазы имеют участки гомологии с криптохромами. Справа: птерин (MTHF).

Синий свет, ультрафиолет А или энергия, перенесенная от птерина, вызывают перенос электрона на молекулу FAD, что влечёт за собой изменение конформации рецептора и передачу сигнала (рис. 15.9). Таким образом, физиологически активной формой криптохрома является молекула, содержащая полувосстановленный FADH. В темноте или при действии зелёного света происходит возвращение в исходную форму FAD.

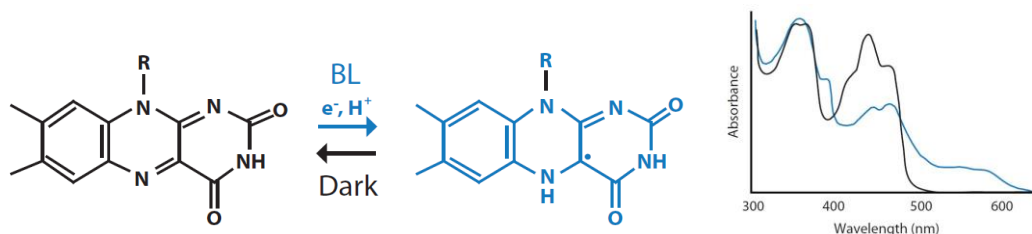


Рис. 15.9. Слева: фотоцикл криптохромов. Справа: соответствующие спектры поглощения.

Криптохромы – гидрофильные ядерные белки, при действии синего света покидающие ядро (cry1) или подвергающиеся деструкции (cry2).

Типы криптохромов различаются по чувствительности: cry1 является низкочувствительным и отвечает на синий свет высокой интенсивности, cry2 – высокочувствительный и отвечает на свет низкой интенсивности. При высокой интенсивности cry2, как уже было сказано, подвергается деструкции, из-за чего cry1 называют *светостабльным*, а cry2 – *светолабильным*.

Криптохромы обуславливают процессы деэтиоляции, синтеза пигментов, реакцию избегания тени. Кроме того, они участвуют в настройке биологических часов и индукции цветения.

Фототропины

Фототропины также являются рецепторами синего цвета. В то время как мутант по криптохрому демонстрировал фототропизм на синем свете, другой мутант не проявлял подобной активности (рис. 15.10). Так стало понятно, что помимо криптохрома существует ещё один рецептор синего цвета, участвующий в реакциях фототропизма.

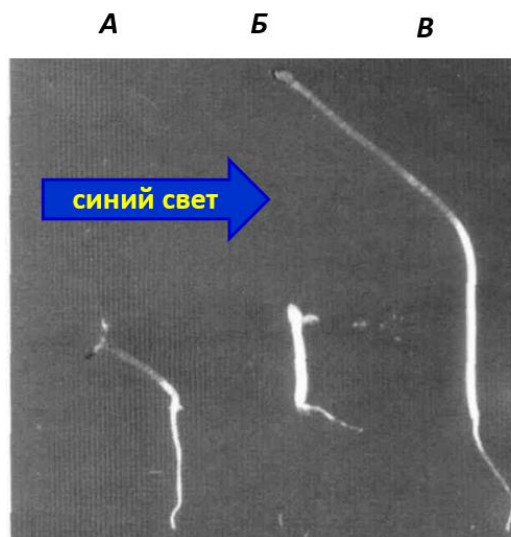


Рис. 15.10. А – дикий тип; Б – мутант по фототропину; В – мутант по криптохрому.

Простетическими группами фототропинов выступают две молекулы FMN, расположенные в N-концевом фотосенсорном модуле (рис. 15.11).

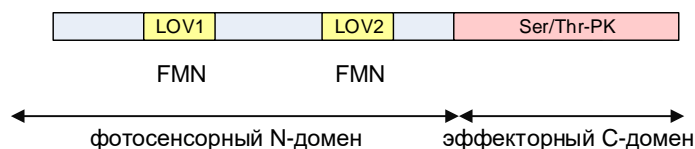


Рис. 15.11. Структура фототропинов.

При воздействии синего света или УФ-А происходит образование ковалентной связи между остатком цистеина белка и FMN (рис. 15.12). Как и в случае с другими фоторецепторами существуют две формы: светочувствительная и светостабильная. *Phot1* – высокочувствительный фототропин, отвечающий на свет низкой интенсивности и накапливающийся в этиолированных проростках, а *phot2* – низкочувствительный рецептор, локализующийся в надземных частях. На свету количество *phot2* в 2-4 раза больше, чем *phot1*.

Фототропины в клетке ассоциированы с плазмалеммой. После освещения синим светом они освобождаются от связи с мембраной, выходя в цитозоль.

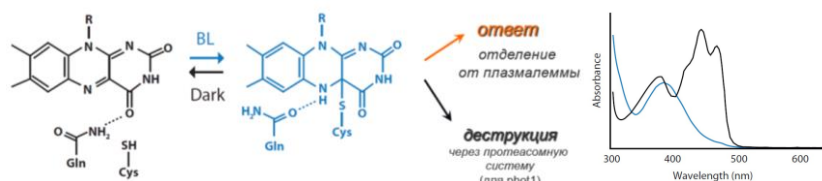


Рис. 15.12. Слева: фотоцикл фототропинов. Справа: соответствующие спектры поглощения.

Фототропины регулируют процессы фототропизма, открытие устьиц, движение хлоропластов, раскрытие семядолей и суточные движения листьев (фотонастии) (рис.15.13). *Phot1*, накапливающийся в этиолированном проростке, отвечает за выход из состояния этиоляции, а *phot2*, активно работающий во взрослых органах, отвечает за регуляцию фотосинтезирующих органов.



Рис. 15.13. Настические движения *Oxalis triangularis*: слева – на свету, справа – в темноте.

Неохром (фитохром 3) – химерный фоторецептор, открытый в 1998. Он состоит из фототропина и фотосенсорной части фитохрома (рис. 15.14). Он не дублирует все функции обоих фоторецепторов, но отвечает за фототропизм и движение хлоропластов на синем и красном свете. Был обнаружен у папоротника *Adiantum capillus-veneris* и у зелёной водоросли *Mougeotia scalaris*.

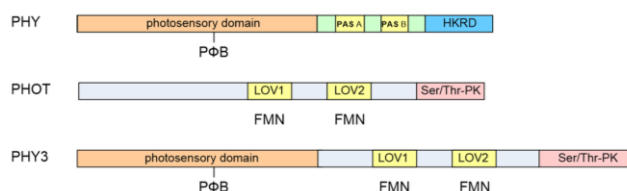


Рис. 15.14. Фитохром, фототропин и “неохром”.

Рецепторы Zeitlupe

Семейство рецепторов Zeitlupe (нем. die Zeit – время, die Lupe – лупа) включает рецепторы синего цвета. Первый представитель Zeitlupe был обнаружен при изучении мутантов по биологическим часам. На нынешний момент известно три представителя семейства Zeitlupe (рис. 15.15): Zeitlupe (в узком смысле), LKP2 и FKF1. Все они содержат общие домены, в том числе фотосенсорный LOV домен, подобно фототропинам, включающий FAD.

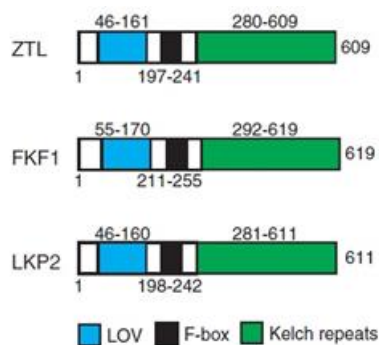


Рис. 15.15. Рецепторы семейства Zeitlupe.

Фотоцикл Zeitlupe, очевидно, похож на фотоцикл фототропинов и подробно представлен на рис. 15.16. У разных представителей семейства Zeitlupe, однако, будет сильно различаться скорость темновой реверсии, которая может происходить как 1,6 часа у Zeitlupe, так и 100 часов, как у LKP2 и FKF1.

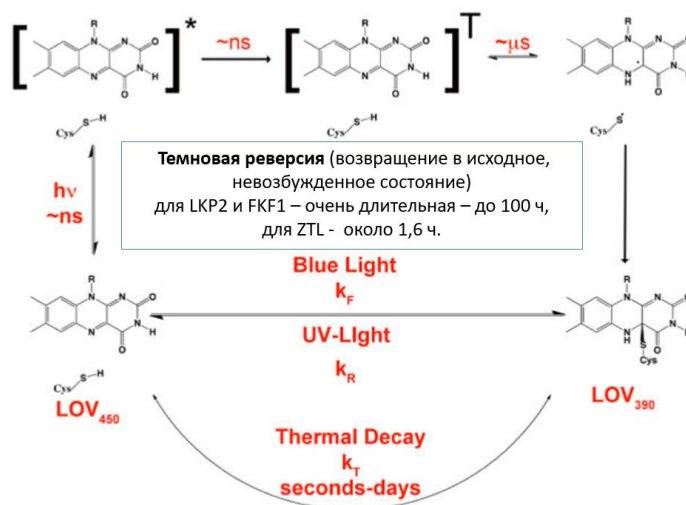


Рис. 15.16. Фотоцикл рецепторов семейства Zeitlupe.

Различные типы белков-белковых взаимодействий, происходящих благодаря домену, содержащему Kelch-повторы (Kelch-repeats) (рис. 15.15), могут приводить к протеасомной деградации белков-мишеней, либо к остановке их деградации. В то время как Zeitlupe (ZTL) в темноте участвует в разрушении регулятора биологических часов TOC1, на синем свете эта его функция блокируется присоединением регулятора GI.

Другой рецептор – *fkf1*, регулирующий цветение, наоборот направляет регулятор в протеасому лишь в присутствии синего света, присоединившись к регулятору GI.

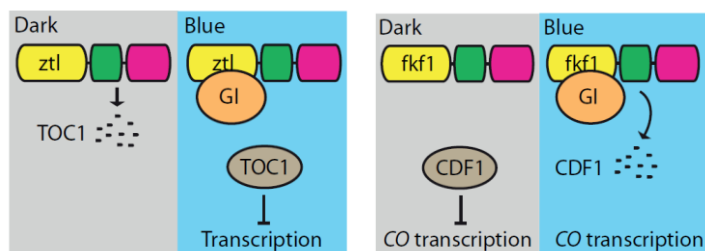


Рис. 15.16. Участие рецепторов семейства *Zeitlupe* в регуляции работы биологических часов (слева) и регуляции цветения (справа).

Рецептор UVR8

Рецептор UVR8 – это рецептор ультрафиолета В, вызывающий разворачивание семядолей, подавляющий рост гипокотыля и стимулирующий синтез флавоноидов – веществ, которые, в том числе участвуют в защите растения от негативного воздействия ультрафиолета, заключающегося, в том числе, в его мутагенной способности.

UVR8 также был обнаружен у мутантов, хуже переносивших последствия воздействия ультрафиолета (рис. 15.17).

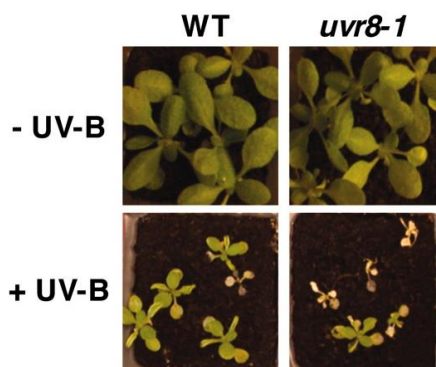


Рис. 15.17. Ответ на ультрафиолет (+UV-B) дикого типа (WT) и мутанта (*uvr8-1*).
 -UV-B – контроль.

В отсутствие ультрафиолета UVR8 димеризован благодаря контактной поверхности, обогащённой основными и кислотными остатками аминокислот, сгруппированными так, чтобы положительные и отрицательные заряды на контактирующих поверхностях мономеров оказались друг напротив друга (рис. 15.18).

Рецептор UVR8 не обладает какими-либо простетическими группами, а фотосенсорную роль в нём осуществляют способные поглощать ультрафиолет остатки триптофана. При передаче сигнала от них происходит нейтрализация заряда и нарушение электростатического взаимодействия мономеров, что приводит к разрушению димера. Затем образовавшиеся мономеры принимают участие в сигналинге.

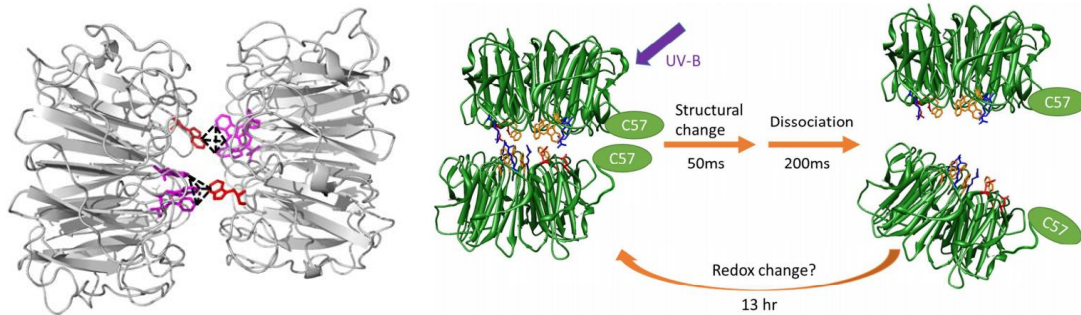


Рис. 15.18. Слева: структура димера UVR-8. Справа: фотоцикл.

Помимо участия в системе защиты от повреждающего действия ультрафиолета, UVR8 также регулирует фотоморфогенез у проростков (разворачивание семядолей, ингибирование удлинения гипокотыля, фототропизм). У взрослых растений он регулирует площадь листовой пластинки, ингибирует удлинение стебля и участвует в настройке биологических часов.

Фотопериодизм

Биологические часы регулируют открытие устьиц, движение листьев, раскрытие цветков, переход в состояние физиологического покоя или переход к цветению.

Фундаментальными принципами биологических часов являются:

- *эндогенность* – ритмы осуществляются благодаря работе системе регуляции генной экспрессии;
- *периодичность* – повторяемость процессов через равные промежутки времени;
- *подстраиваемость* – способность сдвигать фазу ритма под влиянием внешних стимулов (свет, температура), синхронизируя часы с периодом вращения Земли;
- *температурная компенсация* – поддержание периода в широком диапазоне температур.

Системы регуляции генной экспрессии, входящие в состав биологических часов, работают по принципу отрицательных обратных связей. Цепь систем отрицательных обратных связей, формирующую ритмичность часов, называют *центральным осциллятором*. Так белки – продукты “утренних” генов будут подавлять экспрессию «ночных» генов и наоборот.

Подстройка же часов осуществляется благодаря известным нам фоторецепторам: фитохромам, криптохромам, UVR8 и Zeitlupe.

Растения, выбирающие разные биологические стратегии, могут цвести как ранней весной, так и летом или осенью. Определение ими времени года будет зависеть от наиболее надёжного в сравнении с температурой признака – длиной светового дня. Так выделяют растения, цветущие на коротком световом дне, и растения, цветущие на длинном (рис. 15.18).

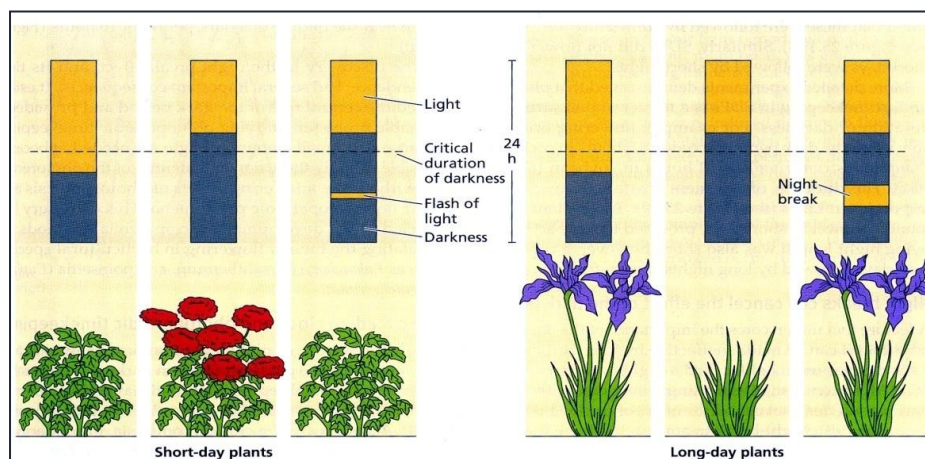


Рис. 15.18. Слева: растение цветет на коротком световом дне. Справа: растение цветет на длинном световом дне. Сверху показаны соотношения дня и ночи. Если посреди ночи включить свет на короткий срок, то короткий в реальности день будет воспринят как длинный.

Советский учёный М.Х. Чайлахян провел эксперимент на короткодневном растении *Chrysanthemum indicum* два стебля которых помещались в разные камеры: в ту, где световой период составлял 8 часов (короткий день) и ту, где световой период длился в течение 16 часов (рис. 15.19). При этом, цветение наступало лишь в том случае, если в “короткодневной камере” находились листья растения, а зацветать мог цветок, находившийся даже в “длиннодневной камере”. Это означало, что именно листья “измеряют” длину светового дня, синтезируют некое вещество, которое может транспортироваться в соседнюю камеру и вызвать цветение.

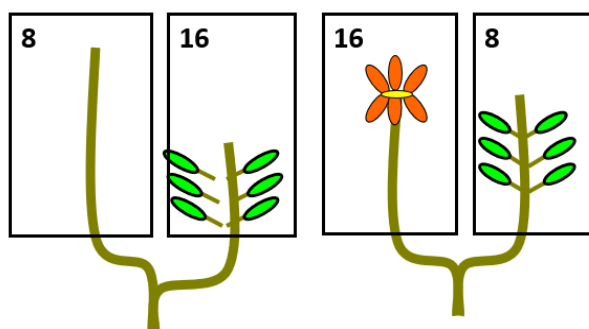


Рис. 15.19. Опыты М.Х. Чайлахяна.

Затем в серии опытов по прививке листа, находившегося на коротком световом дне к короткодневному растению, выращенному на длинном дне, было показано, что трансплантированный лист вызывает цветение у этих растений (рис. 15.20).

Этот гормон цветения был обнаружен лишь в 2007 году и получил название *флориген*. Это небольшой белок, синтезирующийся в листьях при необходимой для растения длине светового дня. Он транспортируется из листьев по флоэме в

апикальную меристему, где индуцирует развитие цветка. Помимо цветения флориген может вызывать разные морфогенетические эффекты в зависимости от контекста: места действия, набора факторов транскрипции и наличия или отсутствия ингибиторов. Основным ингибитором флоригена является очень похожий по структуре белок – антифлориген. Он синтезируется в апикальной меристеме и не транспортируется по растению, ингибируя переход меристемы к флоральному морфогенезу.

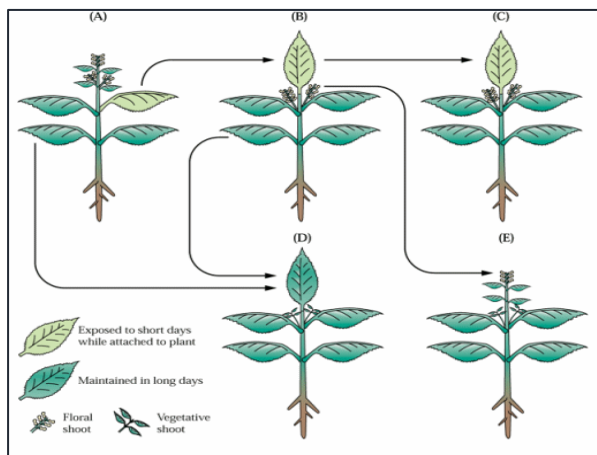


Рис. 15.20. Опыты по прививке листа, находившегося на коротком световом дне к растению, выращенному на длинном.

В целом, индукция цветения у растений – очень сложный и высокорегулируемый процесс ввиду его очевидной важности в биологической жизни растения и в их эволюции (рис. 15.21).

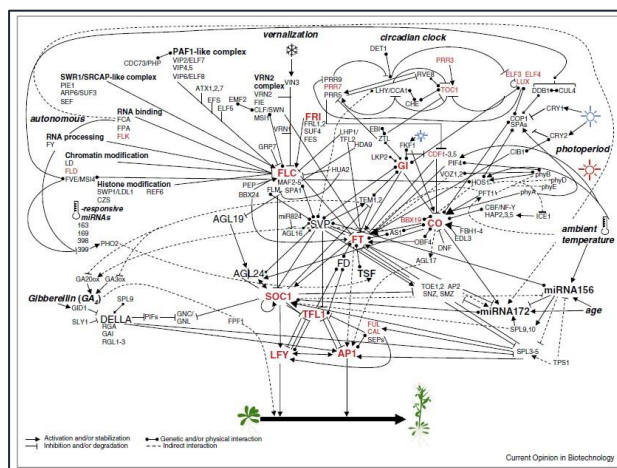


Рис. 15.21. Цветение Arabidopsis – сложно регулируемый процесс.



БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА

teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

