

OXIDATION OF WATER
AND OXYGEN RELEASE
IN PHOTOSYNTHESIS

V. V. KLIMOV

Modern concept of the mechanism of photosynthetic water oxidation and oxygen release (a unique biological process that has global significance) is discussed. Data on the content, structural and functional organization of plant photosystem 2 responsible for the photosynthetic oxidation of water as well as on its high sensitivity to the action of stress factors are presented.

Обсуждаются современные представления о механизме фотосинтетического окисления воды и выделения кислорода – уникального биологического процесса, имеющего глобальное значение. Приведены данные о компонентном составе, структурной и функциональной организации фотосистемы 2 растений, ответственной за фотосинтетическое окисление воды, и о природе ее высокой чувствительности к действию стрессовых факторов.

© Климов В.В., 1996

ОКИСЛЕНИЕ ВОДЫ
И ВЫДЕЛЕНИЕ
МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА
ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

В. В. КЛИМОВ

Пущинский государственный университет

Способность окислять воду с выделением молекулярного кислорода за счет энергии поглощенного солнечного света – одно из важнейших эволюционных приобретений живой природы на Земле. Более 2 млрд лет назад фотоокислению могли подвергаться лишь восстановленные вещества типа сероводорода, представленные на Земле в довольно ограниченном количестве. Фотоокисление воды растениями привело к появлению в атмосфере значительных (21%) количеств молекулярного кислорода, включение которого в окислительно-восстановительные метаболические реакции (дыхание) привело к переходу биоэнергетики на качественно новый уровень аэробного метаболизма, что позволило живым организмам со значительно более высокой эффективностью сжигать органическое топливо. Появление молекулярного кислорода в атмосфере привело также к формированию озонового экрана на Земле (в результате образования O_3 из O_2), защищающего все живое от жесткого ультрафиолетового излучения Солнца.

Все это послужило основой для прогрессивного развития живой материи на Земле, и в настоящее время фотосинтетическое окисление воды и выделение молекулярного кислорода сохраняют свое глобальное биосферное значение. Выяснив, каков механизм комплекса фотобиохимических реакций, приводящих к высокоэффективному окислению воды до O_2 , можно ответить на вопрос о том, как управлять этим процессом, как направленно модифицировать этот процесс с целью повышения его эффективности и устойчивости к действию повреждающих факторов, как практически перейти к промышленному воспроизведению этого процесса с использованием солнечной энергии и воды в качестве возобновляемого энергетического сырья. Воспроизведение этого процесса будет иметь большое значение для обеспечения молекулярным кислородом длительных космических экспедиций.

Несмотря на то что фотосинтез был открыт английским естествоиспытателем Дж. Пристли более 200 лет назад именно по способности растений выделять кислород при освещении, механизм этого процесса остается малоизученным и пока не поддается высокоэффективному искусственному воспроизведению, что во многом связано со сложностью

строения биохимической системы окисления воды и чрезвычайно низкой устойчивостью при попытках ее выделения из хлоропластов.

Известно, что фотосинтетические реакции происходят в хлоропластах — автономных цитоплазматических тельцах, содержащих все, что требуется для фотосинтеза. В состав хлоропластов входят так называемые тилакоиды — замкнутые сплюснутые “мешочки”, состоящие из двухслойных липидных мембран. В эти мембраны толщиной около 50 Å погружены сложные пигмент-белковые комплексы, в которых сосредоточен весь хлорофилл клетки и в которых происходит первичное преобразование солнечной энергии. В одном из таких хлорофилл-белковых комплексов, в так называемой фотосистеме 2 (рис. 1), осуществляется фотосинтетическое окисление воды. Хлорофилл-белковый комплекс фотосистемы 2 можно условно разделить на три основных структурно-функциональных блока: 1) система эффективного улавливания световой энергии путем ее поглощения и передачи энергии возбуждения хлорофиллов на специализированный фотохимический центр; 2) фотохимический реакционный центр фотосистемы 2, который превращает энергию возбуждения хлорофилла, поглотившего квант света, в энергию разделенных зарядов, в результате чего образуется самый сильный биологический окислитель — хлорофилл P680, потерявший один электрон ($P680^+$), и 3) собственно ферментативный центр выделения кислорода, который сначала сам многократно окисляется (отдает свои электроны) с помощью $P680^+$, а затем отбирает недостающие электроны от молекул воды, превращая ее в молекулярный кислород.

В состав светособирающего (или “антенного”) комплекса фотосистемы 2 зеленых растений входит около двухсот молекул пигментов (хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, каротиноиды), расположенных на белках с молекулярной массой от 25000 до 47000. У цианобактерий роль “антенны” выполняют также фикобилины — пигмент-белковые комплексы, поглощающие зеленый свет, который недостаточно эффективно улавливается хлорофиллом. При поглощении квантов света молекулы пигментов переходят в возбужденное состояние, и энергия возбуждения мигрирует между молекулами пигментов, попадая в конечном счете на специализированные молекулы хлорофилла, входящие в состав фотохимического реакционного центра.

Все основные компоненты реакционного центра фотосистемы 2 расположены на комплексе из двух белков с молекулярной массой около 32000, так называемых D_1 и D_2 — белков, пронизывающих насквозь фотосинтетическую мембрану (см. рис. 1).

По современным представлениям, первичная фотохимическая реакция в реакционных центрах фотосистемы 2 заключается в переносе электрона от возбужденной молекулы хлорофилла P680 (получив-

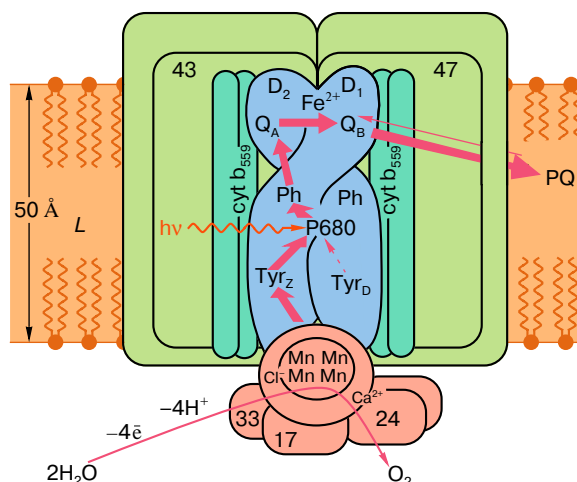


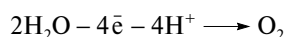
Рис. 1. Схема расположения основных компонентов пигмент-белкового комплекса фотосистемы 2, ответственной за фотосинтетическое окисление воды и выделение кислорода в тилакоидной мембране. P680 — димер хлорофилла, первичный донор электрона, передающий свой электрон на молекулу феофитина при возбуждении в результате поглощения кванта света; Ph — молекула феофитина (безмагниевого производного хлорофилла), промежуточный акцептор электрона; Q_A — первичный донор электрона, комплекс молекулы пластохинона с атомом Fe^{2+} ; Q_B — вторичный акцептор электрона, молекула пластохинона (PQ), связанная с пигмент-белковым комплексом фотосистемы 2; Tyr_z — вторичный донор электрона, остаток тирозина, входящего в состав белка D_1 (в положении 161 от N-конца); D_1 и D_2 — белки с молекулярной массой около 32000, на которых расположены основные компоненты фотохимического реакционного центра; cyt_{b559} — цитохром b_{559} , имеющий максимум поглощения при 559 нм, выполняющий, вероятно, защитную роль при фотоинакации фотосистемы 2 за счет ускорения рекомбинации разделенных зарядов; 17, 24, 33, 43, 47 — белки с молекулярной массой соответственно 17000, 24000, 33000, 43000, 47000; $h\nu$ — квант света; L — липиды, образующие мембрану тилакоида.

шего такое название в связи с тем, что его спектр поглощения характеризуется максимумом при 680 нм) на молекулу феофитина (Ph) — производного хлорофилла, в котором центральный атом магния замещен на два атома водорода. Этот процесс протекает за несколько пикосекунд ($1 \text{ пкс} = 10^{-12} \text{ с}$), в результате образуется состояние с разделенными зарядами $P680^+Ph^-$, живущее лишь 10^{-8} с вследствие рекомбинации зарядов (обратного возврата электрона от Ph^- на $P680^+$). Однако этот процесс предотвращается благодаря более быстрому ($2 \cdot 10^{-10} \text{ с}$) переносу электрона от Ph^- на молекулу акцептора электрона Q_A (комплекс пластохинона с атомом Fe^{2+}). При этом теряется около 30% энергии, запасенной в результате первичного фотоакта, но образуется более стабильное состояние $P680^+PhQ_A^-$.

(время жизни $1,5 \cdot 10^{-4}$ с). В конечном счете электрон, оторванный от молекулы хлорофилла P680, передается на систему хиноновых переносчиков электрона (и далее используется в фотосинтетической фиксации CO_2 с образованием первичных сахаров), что приводит к стабилизации состояния реакционного центра с окисленным хлорофиллом P680.

Таким образом, в результате первичного фотоакта в реакционном центре фотосистемы 2 образуется самый сильный биологический окислитель — P680^+ , окислительно-восстановительный потенциал (отражающий склонность вещества отдавать свои или принимать дополнительные электроны) которого (+1,1 В по отношению к нормальному водородному электроду) недостаточен для окисления воды.

Для образования молекулы O_2 из H_2O необходимо отобрать у двух молекул воды четыре электрона (e^-) и четыре протона (H^+) согласно реакции:



Однако, как уже отмечалось, фотохимический реакционный центр фотосистемы 2 функционирует как одноэлектронная “машина”, производящая один окислительный эквивалент (P680^+) на один поглощенный квант света. Следовательно, для образования молекулы O_2 из двух молекул H_2O необходимы четыре фотохимических акта реакционного центра. В связи с этим возникают вопросы: способен ли реакционный центр фотосистемы 2 последовательно (четыре раза по одному) отрывать четыре электрона от H_2O с образованием промежуточных продуктов окисления воды, или же между фотохимическим реакционным центром и водой есть некий аккумулятор — система, накапливающая четыре окислительных эквивалента в результате четырех последовательных фотоактов в реакционном центре и лишь затем осуществляющая одномоментное четырехэлектронное окисление двух молекул H_2O с образованием одной молекулы O_2 ?

Исходя из оценки окислительно-восстановительного потенциала P680^+ , можно с определенностью сказать, что одноэлектронный путь окисления воды в растениях невозможен, поскольку для этого необходим потенциал выше +2 В, тогда как потенциал P680^+ составляет лишь +1,12 В. В то же время этого потенциала вполне достаточно для эффективного окисления воды по четырехэлектронному механизму, для которого требуется около 0,81 В.

По современным представлениям, накопление четырех окислительных эквивалентов, необходимых для четырехэлектронного окисления воды, происходит на энзиматическом центре, расположенном между фотохимическим реакционным центром и водой и состоящем из четырех атомов марганца — металла переходной группы, обладающего переменной валентностью. Местом связывания этого марганцевого комплекса, вероятнее всего, являются белки D_1 и D_2 реакционного центра

фотосистемы 2, хотя для его стабилизации существенную роль играют белок с молекулярной массой 33000, а также пигмент-белковый комплекс с молекулярной массой около 47000. На рис. 2 показана наиболее вероятная структура марганцевого центра окисления воды, в котором четыре атома Mn образуют два димера Mn—Mn с расстоянием около 2,7 Å между двумя атомами Mn в димере и около 3,3 Å между двумя димерами. В процессе накопления окислительных эквивалентов в марганцевом комплексе (вследствие его окисления фотохимическим реакционным центром) валентность марганца меняется от +2 (или +3) до +4, а в результате последующего окисления воды перешедшие на марганец электроны вновь понижают его валентность.

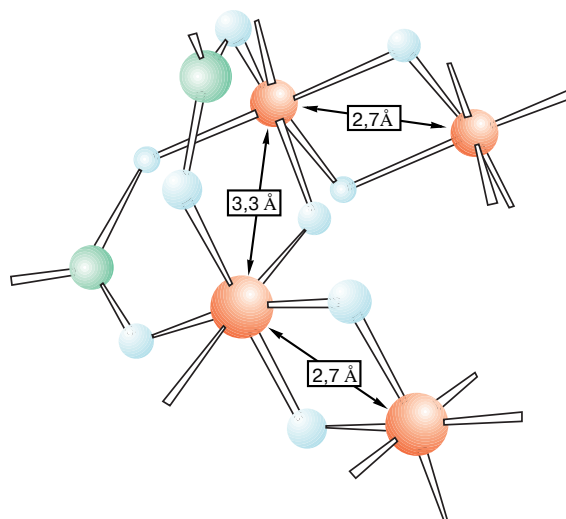


Рис. 2. Схема четырехмарганцевого центра фотосинтетического окисления воды. Красным цветом обозначены ионы марганца, голубым — атомы кислорода, зеленым — атомы углерода (по: Jachandra V.K. et al., 1993).

Цикличность процесса окисления воды и выделения кислорода при фотосинтезе подтверждается экспериментально: при освещении растений серией коротких (микросекундных) вспышек света (за время которых каждый реакционный центр фотосистемы 2 получает лишь один квант света и, следовательно, каждый марганцевый комплекс окисляется лишь однажды) максимальное выделение кислорода наблюдается на каждую четвертую по счету вспышку света, отражая четырехтактное накопление окислительных эквивалентов в марганец-содержащей системе окисления воды.

На рис. 3 представлена упрощенная схема фотонакопления четырех окислительных эквивалентов на системе окисления воды (S) и ее перехода из исходного состояния S_0 в состояние S_4 за счет

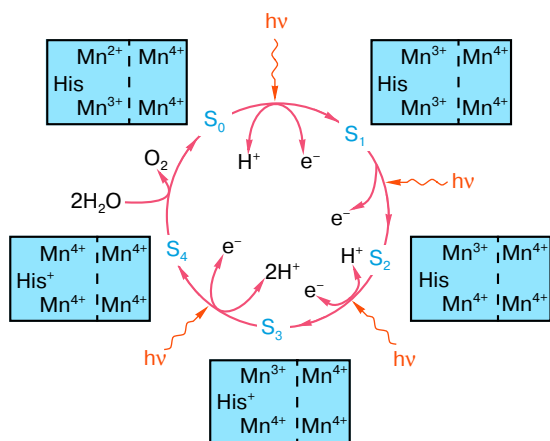


Рис. 3. Схема индуцированных светом циклических переходов системы окисления воды (S) от исходного состояния S_0 до состояния с четырьмя потерянными электронами (S_4) при окислении ее реакционным центром фотосистемы 2 и последующим возвращением в состояние S_0 в результате окисления двух молекул воды, сопровождающегося образованием одной молекулы O_2 . His – остаток аминокислоты гистидина.

последовательной потери ионами марганца четырех электронов, которая восполняется за счет четырехэлектронного окисления двух молекул воды с образованием O_2 и четырех ионов водорода. Не исключено, что помимо марганцевого комплекса в фотонакоплении окислительных эквивалентов участвует также остаток тирозина (ароматической аминокислоты, входящей в состав белка D_1), выполняющего роль промежуточного переносчика электрона между $P680^+$ и марганцевым комплексом, или остаток другой ароматической аминокислоты – гистидина. Кроме того, в функционировании системы фотосинтетического окисления существенную роль играют такие кофакторы, как ионы Ca^{2+} , Cl^- и, вероятно, HCO_3^- .

Фотосистема 2 и система фотосинтетического окисления воды являются одними из наиболее уязвимых звеньев фотосинтетического аппарата, которое, как правило, в первую очередь повреждаются при действии таких стрессовых факторов внешней среды, как повышенная и пониженная температура, ультрафиолетовое излучение, высокая интенсивность видимого света, тяжелые металлы и другие химические загрязнители. Действие более 50% гербицидов, используемых в настоящее время, основано на их способности подавлять фотоперенос электронов в фотосистеме 2, что приводит к остановке всего процесса фотосинтеза.

Известно также, что видимое излучение Солнца (энергия которого запасается при фотосинтезе, что служит энергетической основой развития биосферы) обладает также повреждающим действием на фотосинтетический аппарат растений. Этот про-

цесс получил название фотоинактивации, и фотосистема 2 обладает наиболее высокой чувствительностью к повреждающему действию света. Это во многом связано со способностью фотосистемы 2 генерировать такой сильный окислитель, как $P680^+$, который (в случае, если он не используется для окисления воды по каким-то причинам) может окислять ближайшее окружение, вызывая самосожжение реакционного центра фотосистемы 2. Известно, например, что в процессе фотоинактивации происходит разрушение белка D_1 , входящего в состав реакционного центра фотосистемы 2, и существует специализированная система замены поврежденного белка D_1 на вновь синтезируемый такой же белок. Даже при нормальных (физиологических) интенсивностях света обновление этого белка происходит быстрее, чем любого другого белка растительной клетки, что, вероятно, является платой за способность растений окислять такое трудноокисляемое вещество, как вода.

В заключение необходимо отметить, что, несмотря на кажущуюся простоту процесса фотосинтетического окисления воды, остается неясным молекулярный механизм его ключевых этапов. Так, не выяснен вопрос, за счет чего достигается такой высокой окислительный потенциал хлорофилла $P680$, равный 1,1 В, тогда как у хлорофилла в растворе этот потенциал не превышает 0,8 В. Точно так же не ясно, за счет чего достигается понижение окислительно-восстановительного потенциала марганца, входящего в состав системы окисления воды, поскольку для окисления ионов Mn^{2+} в водном растворе требуется потенциал, превышающий 1,2 В. Окончательно не выяснены компонентный состав водоокисляющего комплекса, количество находящихся в нем атомов марганца и его валентность, место и химическая природа его связывания с фотосинтетической мембраной, состояние воды, подвергающейся окислению, участие аминокислотных остатков, ионов Ca^{2+} , Cl^- и HCO_3^- в этом процессе.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Фотосинтез / Под ред. Р. Клейтона. М.: Мир, 1982.
2. Фотосинтез / Под ред. Говинджи. М.: Мир, 1987. Т. 1–2.
3. Шувалов В.А. Первичное преобразование световой энергии при фотосинтезе. М.: Наука, 1990.

* * *

Вячеслав Васильевич Климов, профессор, доктор биологических наук, зав. лабораторией фотосинтетического окисления воды Института почвоведения и фотосинтеза Российской Академии наук. Автор более 170 научных работ.