

## ДИФфуЗИОННО-КОНТРОЛИРУЕМЫЙ РЕЖИМ ПРОЦЕССА ФОТОФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В ХЛОРОПЛАСТАХ

© 2018 г. И.М. Каргашов

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пушкино Московской обл., ул. Институтская, 2

E-mail: rkartashova@mail.ru

Поступила в редакцию 01.04.16 г.

На основании литературных данных и собственных исследований проведен анализ влияния скорости подачи АДФ различными методами как обратного сигнала на скорость синтеза АТФ хлоропластами. Экспериментальные данные обсуждаются в рамках диффузионно-контролируемого режима процесса фотофосфорилирования.

*Ключевые слова:* регуляция, хлоропласты, диффузия адениннуклеотидов.

**DOI:** 10.1134/S0006302918060091

Выяснение молекулярного механизма фотосинтеза и его саморегуляции необходимо для сознательного управления жизнедеятельностью и продуктивностью растений [1–4]. В основе саморегуляции лежат ключевые реакции, которые могут контролировать всю систему, и механизм типа обратной связи.

При исследовании физиолого-биохимических процессов фотосинтеза редко обращают внимание на диффузионные ограничения суммарных скоростей реакций. В то же время эти ограничения возникают, когда каталитическая активность ферментов выше, чем скорость поступления субстратов [5,6]. Реакция фосфорилирования АДФ АТФ-синтазой ( $CF_0-CF_1$ ) и последующее использование АТФ в качестве источника энергии образуют циклический процесс, составляющий суть энергетического обмена. Принцип цикличности входит в число важнейших принципов, обеспечивающих высокую экономичность и эффективность живых систем, благодаря многократному использованию одних и тех же структур. Циклизация также обеспечивает согласование всех компонентов, реализующих многоэтапный процесс. Наконец, в циклах возможно совершенное гомеостатирование процесса и управление им. При этом различные стационарные состояния могут отличаться разными скоростями генерации и потребления АТФ при общей постоянной концентрации адениннуклеотидов в хлоропластах или же, в другой терминологии, разными скоростями диффузии адениннуклеотидов от мест генерации к местам потребления. Кроме этого, важно отметить, что при кооперативном режиме функционирования каталитических цен-

тров  $CF_1$  хлоропластов [7] энергия связывания субстратов с одним из центров  $CF_1$  может использоваться на стадии диссоциации АТФ с другого центра в соответствии с механизмом, предложенным в работе [8]. В этом случае скорость подачи субстрата АДФ как обратного сигнала от АТФ-потребляющей системы к  $CF_1$  может также влиять на общие скорости генерации АТФ и электронного транспорта, что хорошо согласуется с представлениями о фотосинтезе как саморегулируемом процессе, интенсивность которого может регулироваться потребностями самого растения [1–4]. При этом важно отметить, что анализ влияния скорости подачи АДФ к  $CF_1$  хлоропластов более доступен для экспериментальной проверки, чем в случае митохондрий. Изменение скорости потока также может быть использовано для определения лимитирующей стадии процесса, поскольку она оказывает существенное влияние на скорость диффузии, которая предшествует как образованию, так и разрыву химических связей в биохимических реакциях. Определение лимитирующей стадии является основополагающим моментом при анализе результатов кинетического исследования любого стадийного процесса.

В данной работе приведен анализ влияния скорости подачи АДФ различными методами как обратного сигнала на скорость синтеза АТФ на основе литературных данных и собственных исследований. Из анализа следует, что скорость синтеза АТФ можно изменить (см. таблицу) различными методами, влияющими на скорость подачи АДФ к АТФ-синтазе ( $CF_1$ ) (или на скорость диффузии АДФ). Эти

Диффузионно-контролируемый режим синтеза АТФ в условиях *in vitro*

Методы влияния на скорость подачи АДФ к АТФ-синтазе	Изменение скорости синтеза АТФ	Литературный источник
Повышение концентрации АДФ в среде	+	[9]
Предварительной адсорбцией АДФ тилакоидами	+	[10]
Гипотоническая обработка хлоропластов	+	[11]
Подключение гексокиназы – АТФ-потребляющего фермента	+	[12]
Подключение аденилакиназы – фосфорильного проводя	+	[13]
Влияние вязкости реакционной среды	+	[14]

экспериментальные данные свидетельствуют о возможности диффузионно-контролируемого режима процесса фотофосфорилирования.

Режим диффузионно-контролируемого процесса фотофосфорилирования, как и другие данные по влиянию диффузии адениннуклеотидов на процессы генерации и потребления АТФ в хлоропластах, согласуется с основными положениями работ [5,6] о важной роли диффузии метаболитов в биологических системах, выдвинутых на основе анализа физических и химических закономерностей основных этапов биологической эволюции. В этих работах рассмотрены два возможных способа ослабления диффузионных ограничений. Первый способ включает пространственное сближение ферментов и их правильную ориентацию в надмолекулярных комплексах. Этот способ имеет экспериментальное подтверждение при исследовании кинетики иммобилизованных полиферментных систем, в которых за счет специфического пространственного закрепления соседних ферментов наблюдается более эффективный перенос метаболитов по сравнению с диффузионным механизмом в растворе [15,16]. Согласно второму способу перенос метаболитов от одного катализатора к другому может осуществляться специфическими маршрутами с участием катализаторов (ферментов). Другими словами, простая диффузия должна быть заменена облегченной для эффективного и регулируемого энергообеспечения физиологических процессов в соответствии с потребностями. В митохондриях в переносе могут принимать участие такие ферменты, как аденилаткиназа и креатинкиназа [17,18], а в хлоропластах, по нашим данным, аденилаткиназа [13]. Важно отметить, что регуляция диффузии адениннуклеотидов с участием аденилаткиназы с изменяемой активностью биологически более выгодна, поскольку позволяет избежать инерционности энергообмена и лучше приспособлять транспорт энергии к действию различных факторов в соответствии с потребностями клетки, обеспечивая при этом эконо-

мию энергии при использовании бета-фосфорила АТФ.

Таким образом, экспериментальные данные *in vitro* (таблица) свидетельствуют о возможности диффузионно-контролируемого и саморегулируемого режима процесса фотофосфорилирования. Участие аденилаткиназы в регуляции диффузии адениннуклеотидов, вероятно, проявляется и в интактных хлоропластах, в которых одновременно наблюдали как изменения времени достижения (лаг-период) стационарных скоростей  $\text{CO}_2$ -зависимого выделения  $\text{O}_2$  (кислорода), так и их изменения при добавлении к ним адениннуклеотидов [9].

При этом изменения стационарных скоростей при добавлении АМФ к интактным хлоропластам могут быть обусловлены участием аденилаткиназы и ее влиянием на время перехода или время, необходимое для диффузии адениннуклеотидов к активным центрам участвующих ферментов, которое, как известно, может быть непосредственно связано с суммарными скоростями реакций [5,6,16,19].

Рассматривая АТФ как «гибкий» источник энергии, можно отметить, что с участием ферментов можно получить нужные дозы ее для непосредственного использования в нужном месте. При этом участие аденилаткиназы в регуляции диффузии адениннуклеотидов может быть важно не только для фундаментального познания механизмов контроля процесса фотосинтеза, но и для практических целей диагностики растительного организма в биологическом и экологическом мониторинге, необходимым для сознательного управления жизнедеятельностью и продуктивностью растений.

Известно, что для каждого вида организмов выработался генетически закрепленный тип энергообмена, интенсивность которого определялась условиями существования и обеспечивалась путем сложной регуляции синтеза *de novo* и активности существующих ферментов. В этой связи в работах [5,6] отмечается, что та или иная биохимическая реакция достигла в ходе

эволюции необходимой скорости в соответствии с нуждами данного этапа существования и при этом подчеркивается, что во всех конкретных случаях под давлением естественного отбора были найдены оптимальные решения.

С точки зрения теории оптимального управления [20,21] темпы доставки вещества, энергии и информации в биологических системах тщательно регулируются и регуляторные механизмы стремятся обеспечить динамическое равенство; при этом также отмечается, что совершенная регуляция достигнута в процессе длительной эволюции. В этой связи важно отметить, что если без энергии АТФ не может идти речи ни о каких функциональных процессах в растениях, включая и их различную биопродуктивность, то такое различие в биопродуктивности может быть следствием различной эффективности механизма обратной связи, позволяющей подстраивать энергообмен в растениях в зависимости от условий среды, или пропускной способностью узкого места в другой терминологии [2]. При этом в работе [2] отмечается, что должны существовать специальные механизмы саморегуляции, действующие по принципу обратной связи. Так как скорость обратного сигнала АДФ от АТФ-потребления может регулироваться аденилаткиназой в С3-, С4-, САМ-растениях [9], то нельзя исключить возможность того, что различная активность фермента в этих растениях отражается, вероятно, на их различной биопродуктивности, так как любые физиологические процессы требуют затрат энергии. При этом весьма заманчиво предположение, что именно аденилаткиназная активность как характеристика энергообмена в хлоропластах растений может служить критерием для селекционеров при отборе сельскохозяйственных растений, но для этого надо более тщательно изучить корреляцию аденилаткиназной активности и биопродуктивности.

В заключение по аналогии с аденилаткиназой митохондрий [18], можно отметить, что энергетическая роль аденилаткиназы хлоропластов может иметь особое значение вследствие установления того факта, что этот фермент облегчает перенос и утилизацию гамма- и бета-фосфориллов в молекуле АТФ через цепь последовательных реакций, функционирующих циклическим способом, обеспечивая при этом сохранение нуклеотидного пула и экономию энергии при использовании бета-фосфорила АТФ.

Важно отметить, что скорость подачи АДФ с участием аденилаткиназы хлоропластов к  $CF_1$  может также влиять на общие скорости генерации АТФ и электронного транспорта, что

хорошо согласуется с представлениями о фотосинтезе как саморегулируемом процессе, интенсивность которого регулируется потребностями самого растения [22]. При этом абсолютное содержание АТФ может быть низким при высокой скорости его синтеза и одновременно высокой скорости расходования [22,23]. Реального дефицита АТФ не существует, так как абсолютное содержание АТФ является величиной регуляторной [23]. Можно также отметить, что анализ регуляции энергообмена на уровне генерации и потребления АТФ в хлоропластах с учетом диффузии адениннуклеотидов может иметь большое значение в плане понимания приспособления растений к изменяющимся условиям произрастания, а также для определения возможности направленного регулирования продукционного процесса [5,6,24].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. А. Красновский, *Биоконверсия солнечной энергии* (Пушино, 1984).
2. А. Б. Рубин, *Соровский образоват. журн.* **10**, 84 (1998).
3. А. Н. Тихонов, *Биохимия* **9**, 1153 (2012).
4. В. И. Чиков, *Физиология растений* **55**, 140 (2008).
5. С. Э. Шноль, *Журн. общ. биологии* **34**, 331 (1973).
6. С. Э. Шноль, *Физико-химические факторы биологической эволюции* (Наука, М., 1979).
7. А. Н. Мальян, *Успехи биол. химии* **53**, 297 (2013).
8. P. D. Boyer, *Biochim. Biophys. Acta* **1140**, 215 (1993).
9. S. P. Robinson and J. T. Wiskich, *Plant Physiol.* **58**, 156 (1976).
10. И. М. Карташов, А. Д. Макаров и А. Н. Мальян, *Биофизика* **18**, 272 (1973).
11. C. Aflalo and N. Shavit, *FEBS Lett.* **154**, 175 (1983).
12. C. Aflalo and N. Shavit, in *Curr. Topics in Cellular Regulation. Enzyme Catalysis and Control* (1984).
13. И. М. Карташов, *Успехи соврем. биологии* **130**, 471 (2010).
14. И. М. Карташов, В. К. Опанасенко и А. Н. Мальян, *Биофизика* **60**, 481 (2015).
15. И. В. Березин и С. Д. Варфоломеев, *Биокинетика* (Наука, М., 1979).
16. П. Фридрих, *Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы* (Мир, М., 1986).
17. V. Saks, N. Bernhand, and T. Walliman, *Int. J. Mol. Sci.* **9**, 751 (2008).
18. P. Dzeja and A. Terzic, *Int. J. Mol. Sci.* **10**, 1729 (2009).
19. Б. И. Курганов, *Физико-химические механизмы регуляции активности ферментов.* (М. Наука. 1992).
20. Л. С. Понтрягин, В. Г. Болтянский, Р. В. Гамкрелидзе и Е. Ф. Мищенко, *Математическая теория оптимальных процессов* (Наука, М., 1969).

21. И. И. Шмальгаузен, *Кибернетические вопросы биологии* (Новосибирск, 1968).
22. В. В. Кузнецов и Г. А. Дмитриева. *Физиология растений* (Высш. шк., М., 2006).
23. И. Е. Суховатая, В. А. Кратасюк, В. В. Межевикин и др., *Фотобιοфизика* (ИПК СФУ, Красноярск, 2008).
24. А. А. Кособрюхов, *Физиология растений* **56**, 1 (2009).

## **Diffusion Controlled Mode of Photophosphorylation Process in Chloroplasts**

**I.M. Kartashov**

*Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaya 2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

An analysis of the effect of the rate of ADP input as a feedback signal on the rate of ATP synthesis in chloroplasts has been presented based on literature data and our research results. Experimental data are discussed within a diffusion controlled mode of photophosphorylation.

*Keywords: regulation, chloroplasts, diffusion of adenine nucleotides*