

Член-корреспондент АН СССР А. А. КРАСНОВСКИЙ, М. И. БЫСТРОВА, Ф. ЛАНГ

МОДЕЛИРОВАНИЕ РАЗНЫХ ФОРМ ПРОТОХЛОРОФИЛЛОВЫХ ПИГМЕНТОВ В ТВЕРДЫХ ПЛЕНКАХ И В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ, ОБРАБОТАННЫХ δ -АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

В нашей лаборатории было показано, что при самосборке агрегированных форм хлорофилла и его аналогов в твердых пленках наблюдаются те же типы молекулярной упаковки пигментов, что и в живых фотосинтезирующих организмах (см. обзор 1). Настоящая работа посвящена изучению самосборки агрегированных форм протохлорофилловых пигментов.

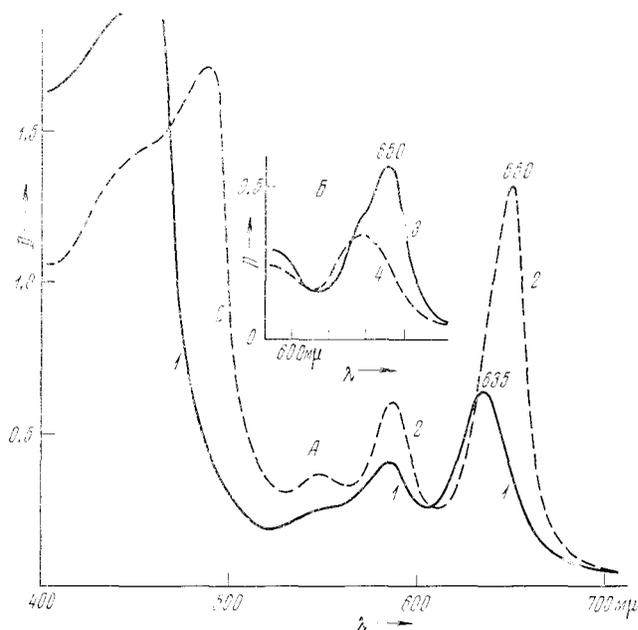


Рис. 1. Спектры поглощения пленок винилпротохлорофилла. А — исходная (1) и после обработки парами метанола при 20° в течение 20 мин. (2); В — после обработки парами серного эфира при 20° в течение 30 мин. (3) и та же пленка при 90° (4)

Образование агрегированной формы «635» в твердых пленках протохлорофилла (точнее 4-винилпротохлорофилла), выделенного из оболочек семян тыквы, наблюдалось еще в 1953 г. (2). Спектры люминесценции таких пленок, измеренные при 20° в вакууме, обнаруживали максимумы около 705 м μ и в области 750—760 м μ (3). Обработка пленок парами аммиака приводила к образованию формы с максимумом поглощения около 645 м μ (4). В работе (5) было показано образование максимума 655 м μ в спектре поглощения растворов протохлорофиллида в неполярных растворителях, наблюдаемое через несколько часов после растворения пигмента и обратимое в присутствии полярных примесей.

Протохлорофилл и 4-винилпротохлорофилл в четыреххлористом углероде, по данным (6), обнаруживают в инфракрасной области спектра появление «агрегационного» максимума при 1668 см^{-1} . Это свидетельствует об участии координационных связей $\text{C}=\text{O} \dots \text{Mg}$ в агрегации протохлорофилловых пигментов, механизм которой, по-видимому, сходен с механизмом агрегации хлорофилла а. Однако у протохлорофилловых пигментов до сих пор не наблюдалось образования высокоагрегированных форм, соответствующих длинноволновым кристаллическим структурам хлорофилла а.

В данной работе нас интересовала возможность моделирования различного типа форм протохлорофилловых пигментов в твердых пленках и в этиолированных листьях, обработанных δ -аминолевулиновой кислотой (АЛК) с целью накопления в них пигмента.

Для получения пленок использовали 4-винилпротохлорофилл и протохлорофилл, выделяемые из внутренних оболочек семян тыквы (сорта «Столовая») по методике (6). Пленки получали из эфирных растворов пигментов, как описано ранее (3, 4). При обработке пленок парами метанола, ацетона или серного эфира растворитель помещали в боковой отвод трубки Тунберга; по мере выдерживания образцов в парах растворителя (при 20°) регистрировали спектры поглощения на приборе СФ-10.

В опытах с АЛК этиолированные листья 7–8 дневных проростков кукурузы выдерживали 24 часа в темноте при 26° в $0,01 \text{ M}$ растворе АЛК в фосфатном буфере с рН 7, 2, после чего регистрировали спектры люминесценции при -196° (3).

Получены следующие результаты.

При испарении в вакууме эфира из эфирного раствора протохлорофилла или 4-винилпротохлорофилла в большинстве случаев получаются пленки пигмента с максимумом поглощения $\sim 635 \text{ м}\mu$ (3, 4). Мы нашли, что в присутствии паров органических растворителей происходит перестройка структуры пленок с образованием отчетливого максимума при $650 \text{ м}\mu$, доминирующего в спектре. Наиболее эффективное действие оказывал метиловый спирт (рис. 1А).

Рис. 2. Спектры люминесценции пленки протохлорофилла с максимумом поглощения $650 \text{ м}\mu$ при 20° . 1 — при первоначальной регистрации в вакууме, 2 — после освещения возбуждающим светом в течение 3 мин.

Пары серного эфира и ацетона при действии на пленки винилпротохлорофилла (в течение 20–45 мин. при 20°) также вызывают образование максимума $650 \text{ м}\mu$. Общий вид спектра, соотношение высот максимумов 650 и $635 \text{ м}\mu$ не постоянны в разных вариантах опытов; во многих случаях у пленок можно было наблюдать спектры поглощения, соответствующие спектрам интактных этиолированных листьев (рис. 1Б, 3).

Протохлорофилл и протохлорофиллид не отличаются от винилпротохлорофилла по способности к образованию формы $650 \text{ м}\mu$. У некоторых образцов протохлорофилла эту форму удавалось наблюдать в спектрах поглощения исходных пленок без какой-либо дополнительной обработки. Форма « 650 » сохраняется в пленках после длительного (более 2 час.) эвакуирования вакуумным насосом. При нагревании до 90° основное количество формы « 650 » исчезает, и максимум $635 \text{ м}\mu$ становится основным в спектре (рис. 1Б, 4).

Пленки пигментов, поглощающие при $650 \text{ м}\mu$, обладают при комнатной температуре заметной люминесценцией с отчетливым максимумом при

655 м μ и двумя другими — около 710 и 755 м μ (рис. 2). Максимум 655 м μ быстро падает под действием возбуждающего света, в то время как интенсивность длинноволновой люминесценции с максимумом ~ 710 м μ значительно возрастает; после освещения в течение 1—2 мин. максимум 710 м μ становится основным в спектре (рис. 2). Возможно, что этот эффект связан с фотоокислением формы «650» остаточным кислородом, уменьшением его тушающего действия и возгоранием в результате этого длинноволновой люминесценции.

Спектры люминесценции пленок (в спектре поглощения которых доминирует форма 650 м μ) при первоначальной регистрации в вакууме при комнатной температуре, во многом напоминают низкотемпературные

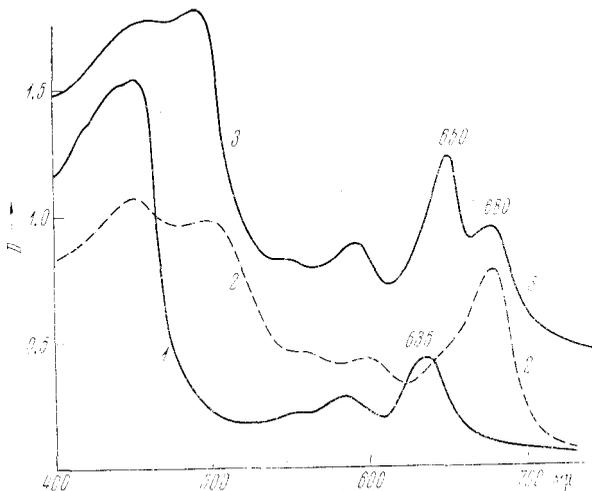


Рис. 3. Образование формы 675—680 м μ в пленках протохлорофилловых пигментов. Спектры поглощения. 1 — исходная пленка винилпротохлорофилла, 2 — после обработки парами ацетона в течение 1 часа, 3 — пленка протохлорофилла после обработки парами ацетона в течение 2 час.

спектры неосвещенных этиолированных листьев. Вместе с тем относительная величина максимума 655 м μ в листьях выше, чем в пленках. Этот максимум люминесценции в листьях практически не заметен при комнатной температуре, что обусловлено высокой квантовой эффективностью фотопревращения предшественника хлорофилла (хлорофиллида). В пленках же форма 650 м μ не подвергается фотовосстановлению, поэтому обнаруживает заметную люминесценцию при комнатной температуре.

В пленках винилпротохлорофилла и протохлорофилла при обработке парами ацетона или серного эфира (при 20°) можно наблюдать образование формы с максимумом поглощения 675—680 м μ . Эта форма отчетливо обнаруживается в спектре вслед за начальным образованием формы «650» в указанных условиях. После обработки разных образцов пленок пигментов парами растворителя в течение 1—2 час. получают спектры поглощения, различающиеся соотношением основных максимумов. Наиболее типичные варианты представлены на рис. 3, 2, 3.

В спектрах люминесценции пленок с формой 675—680 м μ , измеряемых в вакууме, проявляется максимум 685—690 м μ , соответствующий флуоресценции основной поглощающей формы, а также более длинноволновые максимумы — около 710 и 760 м μ . Последние два максимума свойственны спектрам люминесценции пленок любого типа независимо от положения и формы основного максимума поглощения. При освещении в присутствии воздуха обнаруживается резкое падение их интенсивности, что согласуется

с нашими прежними результатами по свойствам магниевых комплексов (3, 7).

Получение различных спектральных форм в пленках определяется спонтанно протекающим пигмент-пигментным взаимодействием, в котором существенную роль могут играть молекулы связанной воды, содержащейся, по всей вероятности, в используемых нами препаратах пигментов. Пары органических растворителей, по-видимому, расшатывают жесткую структуру пленок, создавая благоприятные условия для межмолекулярного взаимодействия с образованием агрегированных форм различного типа.

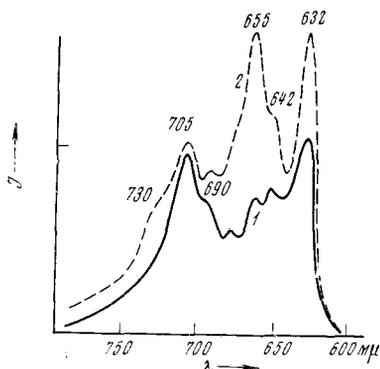


Рис. 4. Спектры люминесценции этиолированных листьев кукурузы при -196° после обработки δ -аминолевулиновой кислотой. 1, 2 — разные листья

Формы «635» и «650» по спектральным свойствам соответствуют формам протохлорофилловых пигментов в листьях. Форма «650» в пленках, как и в естественном состоянии, отличается термолабильностью, форме «635» свойственна термостойкость. Указанные формы могут быть получены и в пленках бесфитольного аналога протохлорофилла — протохлорофиллида, выделенного из этиолированных листьев.

Протохлорофиллид в составе этиолированных листьев под действием экзогенной АЛК (8) образует главным образом формы, поглощающие в области 628—630 и 635—637 мμ, которые обнаруживаются в низкотемпературных спектрах люминесценции листьев в виде максимумов около 632 и 642 мμ соответственно (рис. 4). Их соотношение у разных листьев даже одного и того же возраста варьирует в довольно широких пределах. Кроме указанных максимумов, в спектрах люминесценции этиолированных листьев, обработанных АЛК, как и в пленках, всегда проявляются компоненты 655, ~675, 685—690, ~705 и ~730 мμ. Из них последние три могут принадлежать квазикристаллическим структурам протохлорофиллида, вторично образуемым на пропластидных мембранах в условиях многократно усиливающегося биосинтеза пигмента. Эти структуры могут соответствовать наблюдаемым в твердых пленках протохлорофилловых пигментов.

Описанные эксперименты указывают на то, что в проявлении спектральных свойств естественного протохлорофиллид-белкового комплекса может играть роль межмолекулярное взаимодействие протохлорофилловых пигментов (9).

Описанные эксперименты указывают на то, что в проявлении спектральных свойств естественного протохлорофиллид-белкового комплекса может играть роль межмолекулярное взаимодействие протохлорофилловых пигментов (9).

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
9 VIII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 А. А. Красновский, В сборн. Функциональная биохимия клеточных структур, «Наука», 1970, стр. 15. 2 А. А. Красновский, Л. М. Воробьева, К. К. Войновская, ДАН, 92, 1201 (1953). 3 М. И. Быстрова, А. А. Красновский, Молекулярная биология, 2, 847 (1968). 4 М. И. Быстрова, А. А. Красновский, там же, 1, 362, 1967. 5 С. J. Seliskar, В. Ке, Biochim. et biophys. acta, 153, 685 (1968). 6 С. Houssier, K. Sauer, Biochim. et biophys. acta, 172, 476 (1969). 7 А. А. Красновский, М. И. Быстрова, ДАН, 182, 211 (1968). 8 M. Gassman, L. Bogorad, Plant Physiol., 42, 781 (1967). 9 L. I. Fradkin, A. A. Shlyk, L. M. Kalinina, Photosynthetica, 3 (4), 326 (1969).