

С. М. КОЧУБЕЙ, Е. Г. САМОХВАЛ, Л. К. ОСТРОВСКАЯ

О СПЕКТРАХ ПОГЛОЩЕНИЯ ЦЕНТРОВ I ФОТОСИСТЕМЫ

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 11 II 1972)

В разностных спектрах поглощения центров I фотосистемы (пигмента P_{700}) у высших растений и водорослей обнаруживаются две полосы в красной области с максимумами около 680 и 700 м μ и отношением амплитуд 1:2 (¹). Прецизионные исследования кинетики этих полос в зависимости от различных внешних факторов (интенсивности актиничного света, возбуждающего спектр, окислительно-восстановительного потенциала среды и пр.), а также установление для них одинакового времени полураспада привели к заключению о дублетном характере поглощения центров в красной области спектра (^{1, 2}). Появление двух полос в разностном спектре центров можно объяснить, однако, и иным способом (³). Полоса 680 м μ может характеризовать сдвиг или изменение формы полосы поглощения какого-либо агрегата хлорофилла а, тесно связанного с P_{700} , в его окислительно-восстановительных превращениях.

Подтверждение дублетного строения спектра поглощения центров и получение формы этого спектра с максимально возможной точностью представляет интерес для построения и расчетов различных моделей центров в виде наклонного димера или более высокомолекулярных агрегатов хлорофилла с вполне определенной укладкой молекул.

В связи с этим нами были предприняты измерения разностных спектров центров, которые индуцировали внесением окисляющей и восстанавливающей добавок. Выбор такого способа измерения связан с возможностью реализовать большую чувствительность, чем в опытах со светопроиндуцированными сигналами. По этим же соображениям вместо целых хлоропластов для измерения использовались суспензии легких фрагментов хлоропластов, обогащенных фотосистемой I.

Фрагменты получали при обработке дигитонином хлоропластов из листьев 12-дневных проростков гороха и последующем дифференциальном центрифугировании по схеме, описанной ранее (⁴). Для спектральных измерений использовали осадок при 145 тыс. g, ресуспендированный в сахарозо-фосфатном буфере pH 7.

Разностные спектры записывали на спектрофотометре СФ-10, который был перестроен для увеличения чувствительности по схемам, любезно предоставленным нам А. Ю. Борисовым. Техника измерения и учет погрешности измерения подробно описан в нашей работе (⁵).

В реакционную смесь вносили в одну из кювет аскорбат натрия в молярной концентрации 100:1 по отношению к хлорофиллу, а в другую — феррицианид в такой же молярной концентрации. Концентрация хлорофилла а + b составляла 0,01 мг/мл, толщина кюветы 5 мм.

Измеренные нами разностные спектры в красной области состоят из нескольких полос различных знаков. В их числе обнаруживаются и обычно описываемые в литературе полосы 680 и 700 м μ . Оказалось, что структура спектра в области полосы 680 м μ сильно зависит от концентрации окисляющей и восстанавливающей добавок и качества материала*.

* Мы различаем зимний материал, выращенный в теплице при добавочном освещении, превышающем естественное на 1500 лк, и летний, выращенный в вегетационном домике.

При малых концентрациях добавок и в летнем, и в зимнем материалах в области 680 мμ наблюдается интенсивная широкая положительная полоса (рис. 1А, 1). Кривая подобной формы получается на летнем материале при концентрации добавок 1:1, на зимнем 1:10. При более высоких концентрациях добавок (100:1) на летнем материале получены спектры с двумя сравнительно

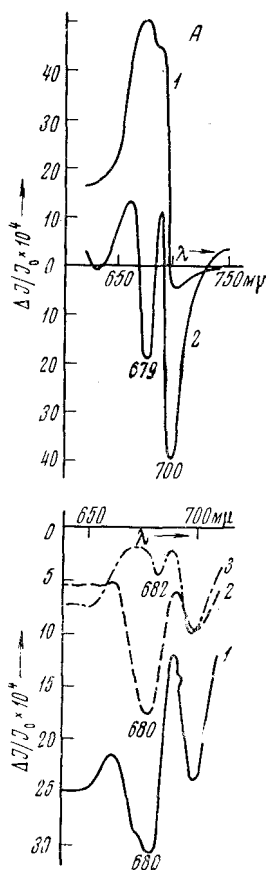


Рис. 1

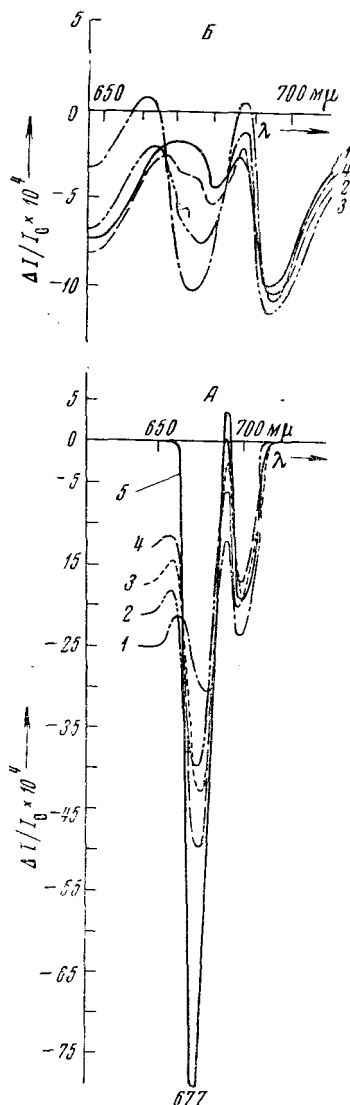


Рис. 2

Рис. 1. Дифференциальные спектрограммы, измеренные на летнем (А) и на зимнем (Б) материале при различных относительных концентрациях окислителя и восстановителя к хлорофиллу. Для А: 1—1:1; 2—100:1; для Б: 1—100:1; 2—10:1; 3—1:1

Рис. 2. Временные изменения формы дифференциальных спектров, измеренных на зимнем материале, при относительной концентрации окислителя и восстановителя к хлорофиллу 100:1 (А) и 1:1 (Б). Для А: 1—через 10 мин. после внесения окислителя и восстановителя; 2, 3, 4—с 5-минутными промежутками; для Б: 1—4—через 5 мин. после внесения окислителя и восстановителя и затем с 5-минутными промежутками

узкими отрицательными полосами 680 и 700 мμ (рис. 1А, 2). Относительная интенсивность этих полос изменяется от опыта к опыту, но остается практически неизменной в течение нескольких часов для каждого конкретного опыта. Иначе обстоит дело с зимним материалом. При концентрациях добавок 100:1, 10:1 и 1:1 наблюдается изменение формы разностного спектра тем более быстрое, чем выше концентрация добавок. На

рис. 1Б показаны разностные спектрограммы образцов, записанные через 5 мин. после внесения добавок различной концентрации. Как видно, отрицательная полоса 680 мμ преобладает в спектрах образцов с концентрацией добавок 100:1, 10:1. В следующие промежутки времени отмечается быстрый рост этой полосы (рис. 2А). В спектрах образцов с добавкой 1:1 наблюдается более сложная кинетика в области 680 мμ (рис. 2Б). После пятиминутной экспозиции с добавками в этой области спектра видна полоса с максимумом 682 мμ. При увеличении времени экспозиции появляется полоса с максимумом 672 мμ, интенсивность которой растет значительно быстрее, чем первой. В результате образуется более широкая полоса, огибающая первые две, с максимумом при 678 мμ. Далее интенсивность суммарной полосы увеличивается, а полосы 700 мμ остается неизменной в пределах точности нашего эксперимента. Временные изменения формы спектра в области 690 мμ позволяют предполагать наличие здесь положительной полосы с максимумом около 690 мμ. Действительно, увеличение интенсивности полосы 678 мμ должно было бы приводить к увеличению перекрытия ее с полосой 700 мμ и, следовательно, уменьшению провала между этими полосами. Однако, как видно из рисунка, этот провал со времени углубляется.

Изменения формы спектра наблюдаются и в области 660 мμ, где тоже можно предполагать появление положительной полосы.

Обнаруженное нами изменение во времени интенсивности отрицательной полосы с максимумом около 680 мμ в спектре поглощения центров, а также сильная зависимость скорости этого изменения от концентрации добавок и качества материала (зимний — летний) позволяет предположить, что в разностных спектрах окисленный — восстановленный в этой области кроме возможной компоненты мультиплета, принадлежащего поглощению P_{700} , присутствует полоса или ряд полос иной природы.

Положения максимумов несколько отрицательных (682 и 672 мμ) и положительных (660 и 690 мμ) полос, появляющихся в разностных спектрах при низких концентрациях добавок, оказываются близкими к значениям максимумов индивидуальных полос светособирающих комплексов, полученных при разложении красной полосы поглощения хлорофилла *a in vivo* (⁶, ⁷). Различие знаков этих полос либо свидетельствует о различии величины выцветания хлорофилла различных нативных форм под действием окисляющей или восстанавливающей добавок, либо связано с изменениями конформации липопротеидного носителя светособирающей системы хлорофилла.

Возможно, что полоса 680 мμ в светоиндуцируемом разностном спектре поглощения центров не является компонентой мультиплета поглощения центров, а связана с определенным конформационным изменением мембран, обуславливающим возможность окисления центров.

Произведенная нами оценка возможного расстояния между центрами молекул хлорофилла, входящих в наклонный димер (если считать, что полосы 680 и 700 мμ — компоненты соответствующего дублета), дает значение около 20 Å, что представляет собой слишком большую величину для плотноупакованного димера. Это обстоятельство тоже служит аргументом против отнесения полосы 680 мμ к поглощению собственно центров I фотосистемы.

Институт физиологии растений
Академии наук УССР
Киев

Поступило
9 II 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ G. Döring, J. L. Bailey et al., *Naturwiss.*, 5, 219 (1968). ² N. Murata, A. Takamiya, *Plant and Cell Physiol.*, 10, 193 (1969). ³ L. P. Vornon, H. G. Gishamoto, T. Ogawa, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 63, 911 (1969). ⁴ Л. К. Островская, С. М. Кочубей, Т. А. Рейнгард, *Биофизика*, 14, 265 (1969). ⁵ С. М. Кочубей, Е. Г. Самохвал, *Физиол. и биохим. культурных растений*, 4, в. 2 (1972). ⁶ Ф. Ф. Литвин, Б. А. Гуляев, *Научн. докл. высшей школы, биол. науки*, № 2, 118 (1969). ⁷ C. S. French, J. S. Brown, *Intern. Conference on the Photosynthetic Unit, U.S.A.*, 1970.