

УДК 581.132.1:582.232

Е.Б. ОНОЙКО

Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины,
ул. Терещенковская, 2, 01001 Киев, Украина

ХЛОРОФИЛЛ *d* – ГЛАВНЫЙ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ПИГМЕНТ *ACARYOCHLORIS MARINA* MIYASHITA ET SHIHARA (CYANOPHYTA)

Обобщены данные об уникальной прокариотической водоросли *Acaryochloris marina*, синтезирующей в качестве главного фотосинтетического пигмента хлорофилл *d* (более 95 % общего количества хлорофилла) и осуществляющей с его участием кислородный фотосинтез. Спектральные свойства хлорофилла *d* позволяют *A. marina* эффективно использовать для фотосинтеза свет ближней инфракрасной области. Приведены сведения об устройстве фотосинтетического аппарата, структуре и организации фотосистем и светособирающего комплекса *A. marina*, распространении её в природе и формах существования *in vivo*.

Ключевые слова: хлорофилл *d*, *Acaryochloris marina*, фотосистема I, фотосистема II, реакционный центр, светособирающая антенна, кислородный фотосинтез.

Введение

Первичные реакции утилизации световой энергии в кислородном фотосинтезе, обеспечивающем существование жизни на Земле, осуществляются с участием зелёного пигмента – хлорофилла. Известно четыре типа хлорофиллов, способных поддерживать этот процесс. Они отличаются по химическому строению, распространению среди живых организмов, а также выполняемым функциям. Все высшие растения, зелёные (*Chlorophyta*), эвгленовые (*Euglenophyta*), хлораракниофитовые (*Chlorarachniophyta*) водоросли содержат хлорофилл *a* и *b*; бурые (*Phaeophyta*), диатомовые (*Bacillariophyta*), золотистые (*Chrysophyta*), жёлтозелёные (*Xanthophyta*), криптофитовые (*Cryptophyta*), гаптофитовые (*Haptophyta*) и многие динофитовые водоросли – хлорофилл *a* и *c* (Водоросли, 1989). У нескольких видов зелёных прازیнофициевых водорослей (*Prasinophyceae*) кроме хлорофиллов *a* и *b* обнаружен пигмент типа хлорофилла *c* – Mg-2,4-дивинилфеопорфирин (Mg-DVP) (Goss et al., 2000; Six et al., 2005). Красные водоросли (*Rhodophyta*) содержат хлорофилл *a*, у некоторых их представителей выявлен также хлорофилл *d* (Водоросли, 1989).

© Е.Б. Онойко, 2010

Данное утверждение было принято ранее, но сейчас нет однозначного ответа на вопрос о наличии у них хлорофилла *d*, поскольку была найдена прокариотическая водоросль *A. marina*, содержащая этот пигмент и обитающая на некоторых красных морских водорослях (Miyashita et al., 1996; Murakami et al., 2004; Larkum et al., 2005).

Для подавляющего большинства фототрофов универсальным пигментом является хлорофилл *a*, тогда как хлорофилл *b* и *c* играют лишь роль дополнительных светособирающих пигментов (Grossman et al., 1995). Единственным исключением стала *A. marina*, в которой хлорофилл *d* оказался доминирующим пигментом (Miyashita et al., 1996). Несмотря на то, что в настоящее время интенсивно проводятся исследования по обнаружению *Acaryochloris* ssp., особенности процесса фотосинтетического преобразования энергии света в *A. marina* остаются до конца не изученными.

Цель данной работы – обобщить сведения о структуре и организации фотосинтетического аппарата *A. marina* и распространении её в природе.

Химическая структура и спектральные свойства хлорофилла *d*

Впервые хлорофилл *d* был открыт в 1943 г. Г. Стрейном и У. Маннингом у некоторых видов красных морских водорослей (*Erythrophyllum delesserioides*¹ *Gigartina papillata*, *G. agardhii* и др.), собранных на мелководье у побережья Мосс Бич (Халф Мун Бэй, Калифорния, США) (Manning, Strain, 1943). Содержание хлорофилла *d* в этих водорослях столь незначительно, что некоторые авторы рассматривали его наличие как артефакт при экстракции пигментов (Holt, Morley, 1959).

Первоначально химическая структура хлорофилла *d* была определена при сравнении спектров поглощения этого пигмента и продукта окисления хлорофилла *a* перманганатом – 2-дезвинил-2-формил хлорофилла *a* (Holt, Morley, 1959) – и подтверждена в дальнейшем методом ЯМР (Miyashita et al., 1997). Согласно этим исследованиям, хлорофилл *d*, также как и хлорофилл *a*, представляет собой сложное циклическое соединение порфирина, содержащий атом Mg. Отличается хлорофилл *d* от хлорофилла *a* лишь замещением винильной группы при третьем углеродном атоме кольца А на формильную (рис. 1). Такие изменения в химической структуре хлорофилла обусловили особые спектральные свойства хлорофилла *d*. Показано, что пик поглощения Q_у хлорофилла *d*, соответствующий 688 нм в диэтиловом эфире и 708-720 нм *in vivo*, сдвинут в инфракрасную часть спектра по сравнению с хлорофиллом *a*, Q_у пик

¹ Здесь и далее авторы видов представлены при наличии их в оригинале.

поглощения которого регистрируется при 662 нм в диэтиловом эфире и 680 нм *in vivo* (Miyashita et al., 1996; Schiller et al., 1997).

Открытие *A. marina*

В 1996 г. произошло „повторное открытие” хлорофилла *d*. Из колоннальных асцидий *Lissoclinum patella* (сем. *Didemnidae*), обитающих в прибрежных водах островов Палау, была изолирована новая прокариотическая водоросль *A. marina* Miyashita et Chihara (Miyashita et al., 1996). Обнаружена она была случайно в клоакальных (выводящих) каналах асцидий вместе с *Prochloron didemni*, хорошо известным экзосимбионтом этих животных.

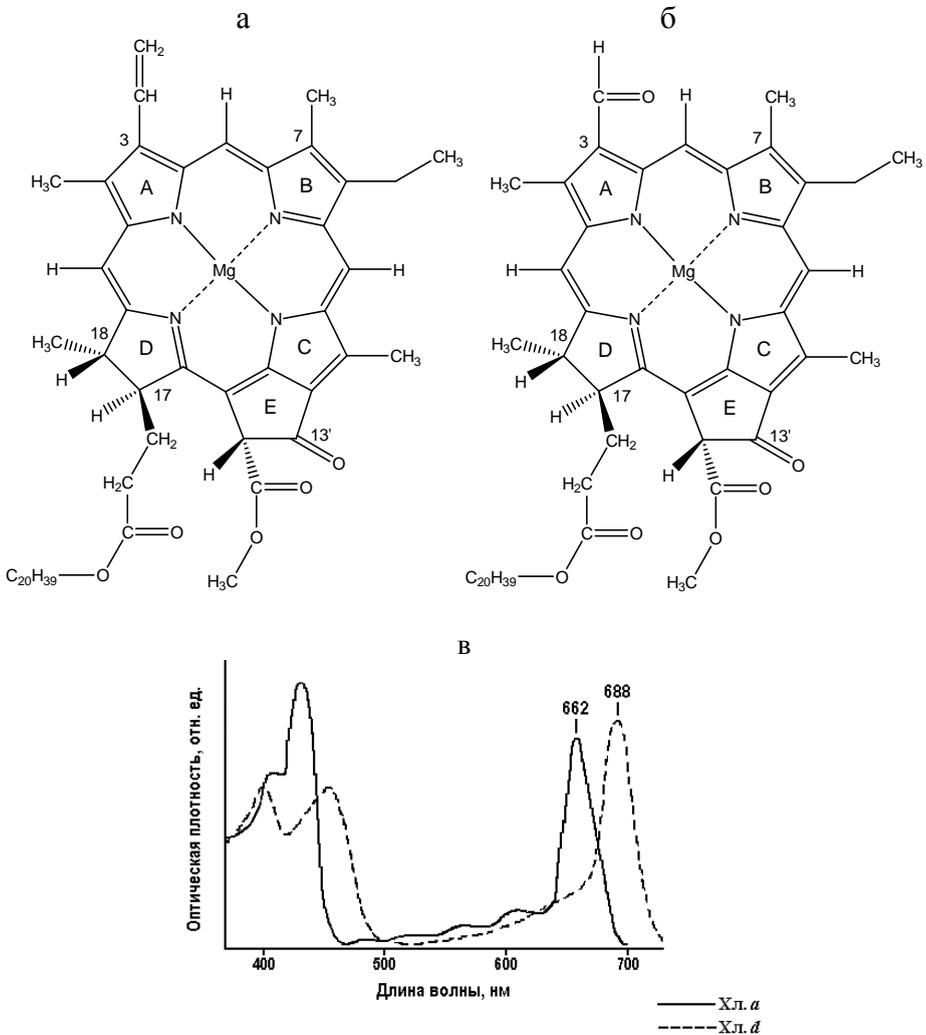


Рис. 1. Структура хлорофилла *a* (а) и *d* (б). Сравнение спектров поглощения хлорофилла *a* и хлорофилла *d* (в) в диэтиловом эфире

Acaryochloris marina является уникальным организмом, содержащим редкий тип хлорофилла – хлорофилл *d*. Это позволяет ему осуществлять кислородный фотосинтез за счёт утилизации квантов света в ближней инфракрасной области спектра (Miyashita et al., 1996). Эти же авторы изолировали из колониальных асцидий Тихого океана и успешно культивируют в лабораторных условиях штамм *A. marina* MBIC-11017, биохимические свойства которого к настоящему времени детально изучены. Установлено, что содержание хлорофилла *d* в *A. marina* составляет более 95 % общего хлорофилла клетки (Miyashita et al., 1996, 1997, 2003; Mimuro et al., 2004), тогда как содержание хлорофилла *a* – всего 1-5 %. При этом соотношение хлорофиллов *a/d* варьирует от 0,03 до 0,09 в зависимости от условий выращивания культуры (Miyashita et al., 1997).

Кроме хлорофиллов *d* и *a* *A. marina* содержит и другие пигменты: Mg-DVP – пигмент типа хлорофилла *c*, зеаксантин, α -каротин (Miyashita et al., 1997); фикобилины (Marquardt et al., 1997; Hu et al., 1999) и феофитин *a* (Akiyama et al., 2001).

Таким образом, хлорофилл *d* в *A. marina* является доминирующим пигментом, а эта прокариотическая водоросль до настоящего времени остаётся единственной детально изученной водорослью, содержащей хлорофилл *d in vivo* (Miyashita et al., 1997, 2003).

Светособирающая система в *A. marina*

Acaryochloris marina занимает специфическую экологическую нишу, обитая в условиях недостатка видимого света и избытка инфракрасного. Она живёт под морскими колониальными асцидиями, покрытыми толстым слоем *Prochloron didemni*, который поглощает видимый свет, прежде чем тот сможет достичь *A. marina*. Поэтому водоросль вынуждена приспосабливаться к изменениям спектрального состава света и использовать длины волн, недоступные другим фототрофам. Высокая фотосинтетическая активность *A. marina* подтверждается данными импульсно-модулированной (РАМ) флуоресценции (Gloag et al., 2007). Эти особенности *A. marina* указывают на существование уникального фотосинтетического аппарата и, прежде всего, уникальной светособирающей системы, не изученной ещё до конца.

Установлено, что *A. marina*, подобно *Prochloron didemni*, *Prochlorothrix hollandica* и *Prochlorococcus marinus*, содержит светособирающие Pcb белки (Chen et al., 2002), кодирующиеся *pcb* генами, *pcbA* и *pcbC* (Chen et al., 2005a). В *P. didemni*, *P. hollandica* и *P. marinus* эти белки связывают хлорофилл *a* и *b* с образованием пигмент-белковых комплексов, функционирующих как наружные антенны фотосистемы I (ФС I) и фотосистемы II (ФС II) (Bibby et al., 2003a, b). В *A. marina* они связывают

хлорофилл *d*, формируя внутреннюю светособирающую систему (Chen et al., 2002). Pcb белки *A. marina* структурно гомологичны белкам IsiA, синтез которых индуцируется у большинства представителей *Cyanophyta* при недостатке железа, а также внутренним антенным полипептидам фотосистемы II – CP47 и, главным образом, CP43 (La Roche et al., 1996; Chen et al., 2005b). М. Чен с соавт. идентифицировали суперкомплекс, включающий хлорофилл *d*-связывающие Pcb белки и реакционный центр ФС II (Chen et al., 2005b). С помощью рентгеноструктурного анализа установлено, что этот суперкомплекс имеет размеры 385 Å × 240 Å и состоит из двух димеров реакционного центра ФС II, окружённых по бокам восьмью симметрично расположенными на каждой стороне Pcb белками (всего 16 копий Pcb субъединиц). Исходя из того, что молекулярная масса димера реакционного центра ФС II составляет 850 кДа, а Pcb белка – 35 кДа, молекулярная масса суперкомплекса оценивается в 2300 кДа (Chen et al., 2005b).

Pcb белки в *P. didemni* (Bibby et al., 2003b) и *P. marinus* (Bibby et al., 2003a) подобным образом локализованы вокруг димера реакционного центра ФС II. В этих водорослях Pcb белки также могут связываться с ФС I, образуя 18-мерное антенное кольцо (Bibby et al., 2001). В фотосинтетическом аппарате *A. marina* такая структура не выявлена.

Acaryochloris marina не содержит фикобилисом (Marquardt et al., 1997). В то же время в её светособирающем комплексе помимо Pcb белков, связывающих хлорофилл *d*, выявлены фикобилипротеины, пигментный компонент которых представлен фикоцианином и аллофикоцианином. Они играют роль вспомогательной светособирающей антенны ФС II, тогда как у других представителей *Cyanophyta* и *Rhodophyta* фикобилипротеины, организованные в фикобилисомы (Grossman et al., 1993), выполняют функцию основной светособирающей антенны. С помощью метода электронной микроскопии установлено, что фикобилипротеины образуют стержневидные структуры размером 26,0 × 11,3 нм, выступающие наружу на стромальной стороне тилакоидной мембраны (Marquardt et al., 1997).

Известно, что *Cyanophyta* проявляют заметную хроматическую адаптацию к красному и зелёному свету, а при низкой интенсивности света в их клетках увеличивается содержание фикобилипротеинов (Gantt, 1981). При адаптации *A. marina* к низкой интенсивности белого света, а также при культивировании этой водоросли на красном и зелёном свете содержание в клетке фикоцианина (главного фикобилинового пигмента этого организма) уменьшается, а содержание хлорофилла *d* существенно увеличивается. При этом соотношение хлорофиллов *a/d* практически не изменяется (Gloag et al., 2007).

Таким образом, хлорофилл *d* может представлять собой эффективный инструмент хроматической адаптации, позволяющий *A. marina*

элиминировать содержание фикобилипротеинов и обеспечивать доминирование этой водоросли в её специфическом природном ареале. Именно характеристики спектрального состава света, а также высокое содержание хлорофилла *d* и малое содержание хлорофилла *a* указывают на наличие в *A. marina* нового механизма утилизации световой энергии, включающего хлорофилл *d*.

Х. Шиллер с соавт., получив низкотемпературные (при 77 К) спектры поглощения целых клеток *A. marina*, обнаружили четыре спектральные формы хлорофилла *d*, Qu пик поглощения которых соответствует 694, 714, 726 и 740 нм (Schiller et al., 1997). Ранее были выявлены множественные формы хлорофилла *a* в высших растениях и типичных *Cyanophyta* (French, 1971). Полагают, что различные оптические свойства молекул хлорофилла обусловлены различной степенью агрегации и связи их с белками (Schiller et al., 1997). Присутствие спектрально близких форм хлорофилла обеспечивает высокую эффективность миграции энергии к реакционным фотохимическим центрам фотосистем, где наиболее длинноволновые формы хлорофилла служат ловушкой всей энергии, поглощаемой остальными пигментами.

В результате анализа кривых индукции флуоресценции хлорофилла *d* было определено, что соотношение между F_m (максимальный уровень флуоресценции) и F_0 (уровень флуоресценции адаптированных к темноте водорослей) равняется 5 (Schiller et al., 1997). Такое значение указывает на высокий квантовый выход электронного транспорта ФС II и свидетельствует об эффективном переносе энергии возбуждения между различными спектральными формами хлорофилла *d* и реакционным центром ФС II. Детальная информация о путях и кинетике миграции энергии между различными спектральными формами хлорофилла *d* отсутствует. Необходимы дальнейшие исследования как стационарных спектров флуоресценции, так и спектров, отражающих изменения испускания во времени при различной длине волны в пикосекундном временном диапазоне.

Фотосистема I и фотосистема II в *A. marina*

Первичные фотохимические процессы при фотосинтезе инициируются поглощением квантов света молекулами хлорофилла светособирающих комплексов, миграцией экситонов к реакционным центрам фотосистем с последующим разделением зарядов. В результате начинается транспорт электронов от воды, которая разлагается в ФС II (с выделением кислорода), к конечному акцептору электронов ФС I – НАДФ⁺. Необычный пигментный состав *A. marina* приводит к иному, отличному от других кислородных фототрофов, строению её фотосистем.

Поскольку в спектре поглощения изолированных частичек ФС I наблюдалось обратимое обесцвечивание полосы при 740 нм, то реакционный центр ФС I в соответствии со своими оптическими характеристиками был назван P₇₄₀ (Hu et al., 1998, Tomo et al., 2008). Разделение зарядов в этом реакционном центре управляется особой парой (димерами) хлорофиллов, являющейся первичным донором электронов. Первоначально полагали, что P₇₄₀ представляет собой гомодимер хлорофилла *d* (Hu et al., 1998), а после обнаружения хлорофилла *d'* (13²-эпимер хлорофилла *d*) (Akiyama et al., 2001) – что это гомодимер хлорофилла *d'*. Наконец, недавно пришли к заключению, что P₇₄₀ является гетеродимером хлорофиллов *d'/d* (Akiyama et al., 2004; Kobayashi et al., 2007), подобно хлорофиллам *a'/a* в P₇₀₀ высших растений и типичных *Суанопхита* (Kobayashi et al., 1988; Jordan et al., 2001). Димерная модель P₇₄₀ была подтверждена исследованиями инфракрасных спектров (Sivakumar et al., 2003). В ФС I предполагается присутствие дополнительной молекулы хлорофилла *d* (Itoh et al., 2007), которая участвует в передаче энергии возбуждения от антенны непосредственно к P₇₄₀.

С помощью лазерного фотолиза (Kumazaki et al., 2002), а также спектрального анализа (Itoh et al., 2007) установлено, что первичным акцептором электронов в ФС I *A. marina*, A₀, служит не хлорофилл *d*, а хлорофилл *a*. Однако такое утверждение остаётся спорным. Дальнейшие исследования с использованием методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЖХ), масс-спектрометрии и анализа спектров поглощения интактных клеток *A. marina* (Ohashi et al., 2008), изолированного комплекса ФС I (Tomo et al., 2008) показали, что вторичным акцептором электронов, A₁, служит филлохинон. Экспериментально подтверждено также функционирование железо-серных центров F_A/F_B и F_X (Hu et al., 1998; Sivakumar et al., 2003). В общих чертах строение ФС I в *A. marina* представлено на рис. 2 А, Б. Строение фотосистем типичных *Суанопхита* показано (для сравнения) на рис. 2 В.

Имеются убедительные доказательства, свидетельствующие о том, что первичным акцептором электронов в ФС II *A. marina* является не феофитин *d*, а феофитин *a* (Akiyama et al., 2001, 2002, 2004; Mimuro et al., 2004; Tomo et al., 2007). Это связано с использованием электронного акцептора для феофитина пластохинона, так как восстановительный потенциал феофитина *d* в ацетонитриле (–0,63 В) меньше, чем феофитина *a* (–0,75 В) (Kobayashi et al., 2007).

Устройство ФС II в *A. marina* до сих пор не определено, поскольку нет единого мнения об организации особой пары в её реакционном центре. Существуют три модели, описывающие организацию такой пары: 1) гомодимер хлорофилла *a*; 2) гетеродимер хлорофиллов *a/d* (рис. 2 А) и 3) гомодимер хлорофилла *d* (рис. 2 Б). Первая модель базируется на результатах флуоресцентных исследований (Mimuro et al., 1999, 2004) и

стехиометрии пигментов (Akiyama et al., 2002, 2004). Вторая модель предложена на основании измерений редокс-потенциалов хлорофиллов *a* и *d* (Kobayashi et al., 2007), спектрального (Schlodder et al., 2007) и теоретического анализов (Renger, Schlodder, 2008). Третья модель описана на основании результатов исследований инфракрасных спектров (Tomo et al., 2007), а также спектров поглощения тилакоидных мембран *A. marina* (Itoh et al., 2007).

В целых клетках *A. marina*, культивируемой при низкой интенсивности света, минимальное соотношение хлорофилл *a* : феофитин *a* составляет 2 : 2 (Mimuro et al., 2004). Поэтому модель, в которой особой парой служит гомодимер хлорофилла *a*, является наименее вероятной, поскольку в ФС II может присутствовать только одна молекула хлорофилла *a* (Kobayashi et al., 2005) с учётом одной молекулы хлорофилла *a* в ФС I в качестве A_0 (Kumazaki et al., 2002) и соотношений феофитин *a*/ФС II = 2, ФС I/ФС II = 1 (Akiyama et al., 2001).

Будучи сторонниками различной модели устройства особой пары в реакционном центре ФС II, С. Ито (Itoh et al., 2007) и Е. Шлодер (Schlodder et al., 2007) регистрировали одинаковое обесцвечивание полосы в области Qu-спектра поглощения 725 нм. Однако интерпретация полученного результата у авторов была разная. Так, С. Ито полагал, что обесцвечивание обеспечивает особая пара, сформированная гомодимером хлорофилла *d*, P_{725} (первичный донор электронов), а наблюдаемый электрохромный сдвиг вызывает дополнительный хлорофилл *d* (рис. 2 Б). Со своей стороны, Е. Шлодер предположил, что обесцвечивание связано только с электрохромным сдвигом, за который отвечает дополнительный хлорофилл *d*, а особая пара является гетеродимером хлорофиллов *a/d*. В этом случае дополнительный хлорофилл *d*, аккумулируя энергию возбуждения, функционирует как электронный донор при первичном разделении зарядов (рис. 2 А). Т. Томо, получив при спектральном анализе обесцвечивание полосы при 713 нм, пришел к выводу, что оно вызвано особой парой – гомодимером хлорофилла *d* – и назвал её P_{713} (Tomo et al., 2007). Имеется мнение, что обесцвечивание полосы при 713 нм может происходить за счёт накопления разрушенных хлорофиллов в результате использования для возбуждения более длительного времени (Ohashi et al., 2008).

Присутствие в комплексе ФС II хлорофилла *a* подтверждено экспериментально (Schlodder et al., 2007; Tomo et al., 2007), хотя окончательного вывода о его роли в фотохимических реакциях ещё не сделано. По мнению Е. Шлодера, после образования первичной радикальной пары $P^+Q_A^-$ положительный заряд стабилизируется на молекуле хлорофилла *a*, тем самым обеспечивая формирование высокого редокс-потенциала, достаточного для окисления воды (Schlodder et al., 2007).

Таким образом, вопрос о природе первичного электронного донора в ФС II *A. marina* остаётся дискуссионным, для его выяснения важную роль могут сыграть рентгеноструктурные исследования. Организация остальных компонентов донорной и акцепторной сторон в ФС II *A. marina* такая же, как в других кислородных фотосинтетических организмах.

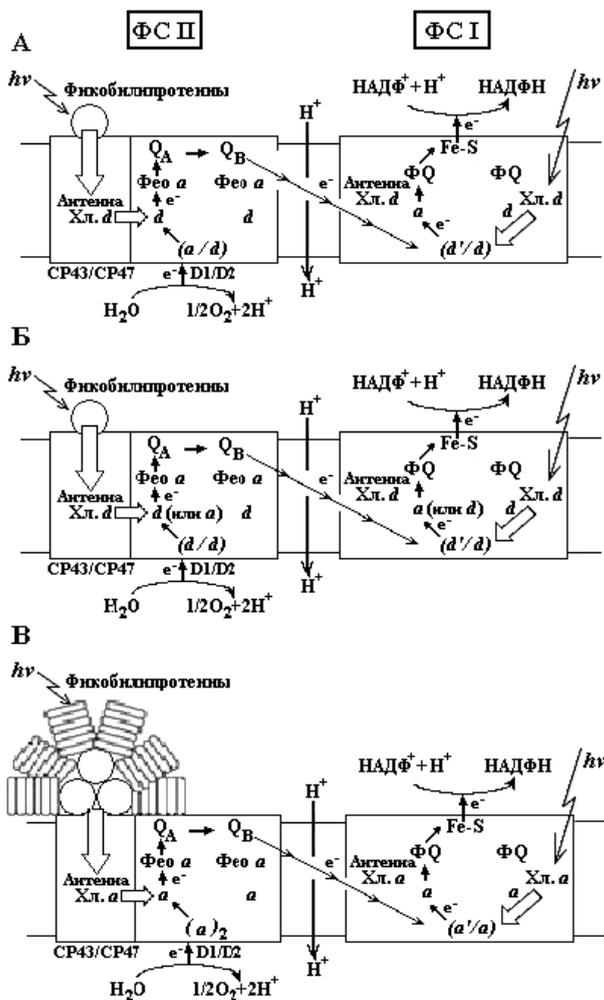


Рис. 2. Организация фотосистем в *Acaryochloris marina* (А, Б) и типичных *Cyanophyta* (В). ФQ – вторичный акцептор электронов (А₁, филлохинон) ФС I; Fe-S – железосерные центры (F_A/F_B и F_X) ФС I; Фео *a* – первичный акцептор электронов (феофитин *a*) ФС II; Q_A и Q_B – вторичные акцепторы электронов (хиноны) ФС II

Некоторые аспекты энергетики *A. marina*

Фотосинтетические пигменты при фотосинтезе функционируют не только как компоненты светособирающей системы, но и как компоненты

электрон-транспортной цепи. Эффективность светосбора зависит от ориентации и энергетического состояния молекул пигментов, а протекание электрон-транспортных реакций – от редокс-потенциалов их компонентов, поскольку для фотосинтетического окисления воды требуется очень высокий потенциал, а для восстановления НАДФ⁺ – очень низкий потенциал. Большинство хлорофиллов в тилакоидной мембране связаны с белками, образуя пигмент-белковые комплексы. Белки определяют положение, расстояние, ориентацию и окружение пигментных молекул, тем самым оказывая влияние на их функции. Хлорофилл *d* в *A. marina* является главным антенным пигментом для обеих фотосистем (Schiller et al., 1997; Chen et al., 2002, 2005a), а также входит в состав особой пары реакционных центров P₇₄₀ в ФС I и P₇₂₅ в ФС II (Akiyama et al., 2004; Itoh et al., 2007; Kobayashi et al., 2007; Schlodder et al., 2007; Tomo et al., 2007).

Несмотря на то, что энергия фотонов при 725-740 нм на 7-10 % меньше энергии фотонов при 680-700 нм, которая поглощается P₆₈₀ и P₇₀₀ всех других окисленных фототрофов (Itoh et al., 2007), *A. marina* успешно осуществляет окисленный фотосинтез. Поэтому необходимо выявить изменения в фотосинтетической реакционной системе, связанные с изменением пигментного состава при замещении хлорофилла *a* на хлорофилл *d*.

Экспериментально установлено, что среднеточечный потенциал (E_m) P₇₀₀ в ФС I высших растений и типичных *Cyanophyta* составляет +0,430 В (Nakamura et al., 2005). В *A. marina* значение E_m P₇₄₀ определено как +0,335 В (Hu et al., 1998). Следовательно, хлорофилл *d* имеет более низкий окислительный потенциал (E_{ок}), чем хлорофилл *a*. С другой стороны, М. Кобаяши с соавт. (Kobayashi et al., 2007) получили более высокое значение E_{ок} хлорофилла *d* в ацетонитриле (+0,880 В) по сравнению с хлорофиллом *a* (+0,810 В). P₇₄₀ использует свет со значительно меньшей энергией квантов (740 нм = 1,68 эВ), однако он генерирует восстановительную силу, эквивалентную силе, производимой особой парой хлорофилла *a* (P₇₀₀), поглощающей красный свет при 700 нм (1,77 эВ) (Hu et al., 1998). Очевидно, это связано с тем, что меньшая энергия возбуждённого состояния P₇₄₀^{*} компенсируется отрицательным сдвигом E_m (на 0,100 В) P₇₄₀ по сравнению с P₇₀₀.

Недавно разными исследователями получены новые значения E_m P₇₄₀, соответствующие +0,430 В (Benjamin et al., 2007; Telfer et al., 2007) и +0,439 В (Tomo et al., 2008), что выше первоначально заявленного значения (+0,335 В) и практически равно среднеточечному потенциалу P₇₀₀. Сходство окислительных потенциалов P₇₄₀ и P₇₀₀ обусловлено использованием общего донора электронов пластоцианина для P₇₄₀⁺ и P₇₀₀⁺. Как известно, величина редокс-потенциала пластоцианина зависит от природы белков, окружающих его активный центр. В *A. marina* аминокислотные последовательности таких белков, по сравнению с другими *Cyanophyta* и

высшими растениями, являются высококонсервативными. Поэтому редокс-потенциал пластоцианина в этих организмах будет практически одинаков (Benjamin et al., 2007; Tomo et al., 2008). Тогда вследствие меньшей энергии возбуждённого состояния P_{740}^* энергетика электронного потока на акцепторной стороне ФС I в *A. marina* будет отличаться от других *Cyanophyta* (Benjamin et al., 2007), а величина редокс-потенциала A_0 будет меньшей.

Изменение пигментного состава индуцирует изменения в белках, связанных с ними. Они, в свою очередь, могут в случае необходимости вызывать изменения энергетических уровней пигментов и редокс-потенциалов электрон-транспортных компонентов (Mimuro et al., 2008). В *A. marina* аминокислотные последовательности двух главных полипептидов ФС I PsaA и PsaB всего на 75-76 % гомологичны типичным *Cyanophyta* (Akiyama et al., 2001; Swingley et al., 2008), что, вероятно, можно объяснить замещением в реакционном центре хлорофилла *a* на хлорофилл *d* и хлорофилла *a'* на хлорофилл *d'* (Mimuro et al., 2008). Поэтому модификация акцепторной стороны ФС I является важнейшей задачей для дальнейших исследований.

ФС II должна быть организована таким способом, чтобы осуществлялась её главная функция – генерировать высокий редокс-потенциал для окисления воды. Способы реализации такой функции в *A. marina* в настоящее время интенсивно исследуются. Имеющиеся разногласия относительно устройства реакционного центра в ФС II *A. marina* вызывают трудности при рассмотрении энергетических аспектов.

Полагают, что у большинства окисленных фототрофов энергия возбужденного состояния P_{680}^* , необходимая для первичного разделения зарядов в ФС II, составляет примерно 1,8 эВ, тогда как в *A. marina* энергия возбужденного состояния особой пары реакционного центра, включающего хлорофилл *d*, соответствует примерно 1,7 эВ (Itoh et al., 2007). Если $E_m P_{725}$ в ФС II будет более отрицательный, чем среднеточечный потенциал P_{680} , тогда P_{725}^* способен производить восстановительную силу, эквивалентную P_{680}^* . При этом перепад энергии между редокс-потенциалами тирозина Z и P_{725} будет уменьшаться, что приведёт к постепенному снижению скорости восстановления P_{725}^+ и, затем, к снижению скорости выделения кислорода (Mimuro et al., 1999, 2000, 2004). Имеются данные, подтверждающие, что скорость окисления тирозина Z сохраняется на том же уровне, что и в ФС II большинства окисленных фототрофов (Razeghifard et al., 2005). С другой стороны, если считать, что среднеточечный потенциал P_{725} практически равен $E_m P_{680}$, тогда редокс-потенциал P_{725} в возбужденном состоянии (P_{725}^*) должен быть более положительным, чем редокс-потенциал P_{680}^* . Это подтверждают результаты, полученные Д. Шевела с соавт. (Shevela et al., 2006). В таком

случае движущая сила для переноса электронов к акцептору феофитину *a* будет уменьшаться, что может привести к рекомбинации зарядов и значительной потере квантовой энергии (Itoh et al., 2007). Чтобы этого не происходило, необходимо регулировать редокс-потенциалы электрон-транспортных компонентов, что неизбежно связано с модификацией белкового матрикса.

В ФС II *A. marina* аминокислотные последовательности двух главных полипептидов D₁(PsbA) и D₂(PsbD) имеют высокую степень гомологии с аминокислотными последовательностями типичных *Cyanophyta* – 86-83 и 88-87 % соответственно (Akiyama et al., 2001; Mimuro et al., 2008). Несмотря на это, изменения в них возможны, и, прежде всего, это касается аминокислотных последовательностей, локализованных вблизи пигментов. Так, с помощью направленного мутагенеза выявлены модификации некоторых остатков аминокислот, находящихся вблизи акцептора феофитина *a* (Merry et al., 1998; Curi et al., 2004). Показана модификация фенилаланина 206, локализованного на полипептиде D₁ рядом с феофитином *a* (Itoh et al., 2007), в результате чего редокс-потенциал этого пигмента может меняться (Tomo et al., 2007). Кроме того, на редокс-потенциал феофитина *a* также могут оказывать влияние изменения, связанные с аминокислотными остатками глутамина 130 и тирозина 126 на полипептиде D₁ (Giorgi et al., 1996; Loll et al., 2008). Согласно имеющимся данным (Ishikita et al., 2005), редокс-потенциал каждого компонента ФС II определяется всеми электростатическими взаимодействиями внутри большого комплекса. Поэтому можно предположить, что модификации аминокислотных остатков, расположенных вдали от феофитина *a*, могут вызывать значительные изменения редокс-потенциала этого пигмента.

Кроме феофитина *a* должно осуществляться регулирование редокс-потенциалов и других компонентов ФС II, например Q_A и Q_B. Установлено, что перенос электронов между Q_A и Q_B, а также реакции рекомбинации зарядов между восстановленными Q_A и Q_B и окисленными компонентами донорной стороны ФС II в *A. marina* отличаются от других *Cyanophyta* (Cser et al., 2008). При исследовании окислительной стороны ФС II обсуждается возможность изменения редокс-потенциала тирозина Z (Cser et al., 2008), хотя ранее считали, что этот потенциал не меняется (Razegnifard et al., 2005; Shevela et al., 2006).

Таким образом, замена хлорофилла *a* на хлорофилл *d* в фотосинтетическом аппарате *A. marina* приводит к значительным изменениям редокс-потенциалов и аминокислотного окружения целого ряда компонентов электрон-транспортной цепи. Учитывая сказанное выше, для понимания энергетики фотохимических реакций в *A. marina* требуются

прямые измерения редокс-потенциалов всех электрон-транспортных компонентов ФС II *in vivo*. Необходимы также дальнейшие исследования по модификации белков, влияющие на свойства донорной и акцепторной сторон ФС II, а также восстановительной стороны ФС I, поскольку только недавно геном *A. marina* был полностью секвенирован (Swingley et al., 2008).

Заключение

После обнаружения *A. marina* было найдено множество других *Acaryochloris*-подобных организмов. Выявлены обширные популяции *Acaryochloris* sp. с различными формами существования *in vivo*: от свободноживущих до симбиотических и от морских до наземных организмов. Например, одни представители живут свободно на дне соленого озера Солтон-Си, расположенного в пустыне Колорадо, а также эвтрофных гиперсоленых искусственных озер в Калифорнии (США) (Miller et al., 2005). Другие представители образуют тонкий слой (биоплёнку) на нижней части колониальных асцидий, таких как *Lissoclinum patella* и *Diplosoma virens* (Kühlm et al., 2005; Larkum, Kühlm et al., 2005). В 2004 г. *Acaryochloris* sp. обнаружили на красных морских водорослях *Callophyllis japonica* и *Carpopeltis prolifera*, а также на талломах красной водоросли *Ahnfeltiopsis flabelliformis*, в которой был открыт штамм Awaji (Murakami et al., 2004). Эти же авторы обнаружили *Acaryochloris* sp. на красных морских водорослях (Murakami et al., 2004). Интересными оказались результаты, подтверждающие существование *Acaryochloris* sp. в составе эпилитных и эндолитных сообществ антарктических скал, а также в известковых породах при археологических раскопках мая в Мексике (Smith et al., 2000; McNamara et al., 2006; De los Rios et al., 2007). В настоящее время для выявления этих организмов используется быстрый метод скрининга на основе применения ранее разработанной пары праймеров (Nübel et al., 1997). Установлено, что *Acaryochloris* ssp. могут обитать не только на красных водорослях, но на зелёных и бурых (Ohkubo et al., 2006).

Таким образом, *Acaryochloris* ssp. широко распространены в природе от субтропических зон до полярных областей, что обусловлено высокой гибкостью их фотосинтетического аппарата. Физиологическая пластичность *A. marina* и её способность поддерживать оптимальную фотосинтетическую активность за счёт вариации пигментного состава привлекает внимание многих ученых. Изучение особенностей процесса фотосинтетического преобразования энергии в этом организме внесет важный вклад в понимание механизмов оксигенного фотосинтеза.

E.B. Onoiko

N.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,
2, Tereschenkivska St., 01001 Kiev, Ukraine

CHLOROPHYLL *d* IS THE MAJOR PHOTOSYNTHETIC PIGMENT OF
ACARYOCHLORIS MARINA MIYASHITA ET CHIHARA (*CYANOPHYTA*)

Data on the unique prokaryotic organism *Acaryochloris marina*, which synthesizes chlorophyll *d* as a primary (above 95% of total chlorophyll) photosynthetic pigment supporting oxygenic photosynthesis, were reviewed. Due to its spectral properties, *A. marina* efficiently uses near infrared light for photosynthesis. Information on photosynthetic apparatus characteristics, structure and organization of photosystems, and the light-harvesting complex of *A. marina*, its distribution in the nature, and lifestyles *in vivo* were reported.

Key words: chlorophyll *d*, *Acaryochloris marina*, photosystem I, photosystem II, reaction center, light-harvesting antenna, oxygenic photosynthesis.

Водоросли: Справочник / Под общ. ред. С.П. Вассера. – Киев: Наук. думка, 1989. – 608 с.

Akiyama M., Miyashita H., Kise H. et al. Detection of chlorophyll *d'* and pheophytin *a* in a chlorophyll *d*-dominating oxygenic photosynthetic prokaryote *Acaryochloris marina* // Analit. Sci. – 2001. – **17**, N 1. – P. 205-208.

Akiyama M., Miyashita H., Kise H. et al. Quest for minor but key chlorophyll molecules in photosynthetic reaction centers – unusual pigment composition in the reaction centers of a chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina* // Photosyn. Res. – 2002. – **74**, N 2. – P. 97-107.

Akiyama M., Gotoh T., Kise H. et al. Stoichiometries of chlorophyll *d'*/PS I and chlorophyll *a*/PS II in a chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina* // J. Jap. Phycol. – 2004. – **52**. – P. 67-72.

Benjamin B., Finazzi G., Benson S. et al. Study of intersystem electron transfer in the chlorophyll *d* containing cyanobacterium *Acaryochloris marina* and a reappraisal of the redox properties of P₇₄₀ // Photosyn. Res. – 2007. – **91**, N 2/3. – P. 155.

Bibby T., Nield J., Partensky F., Barber J. Oxyphotobacteria. Antenna ring around photosystem I // Nature. – 2001. – **413**, N 6856. – P. 590.

Bibby T., Mary I., Nield J. et al. Low-light-adapted *Prochlorococcus* species possess specific antennae for each photosystem // Ibid. – 2003a. – **424**, N 6952. – P. 1051-1054.

Bibby T., Nield J., Chen M. et al. Structure of a PS II supercomplex isolated from *Prochloron didemni* retaining its chlorophyll *a/b* light harvesting system // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2003b. – **100**, N 15. – P. 9050-9054.

Chen M., Quinell R.G., Larcum A.W.D. The major light-harvesting pigment protein of *Acaryochloris marina* // FEBS Lett. – 2002. – **514**, N 2/3. – P. 149-152.

- Chen M., Hiller R.G., Howe C.J., Larkum A.W.D. Unique origin and lateral transfer of prokaryotic chlorophyll *b* and chlorophyll *d* light-harvesting system // *Mol. Biol. Evol.* – 2005a. – **22**, N 1. – P. 21-28.
- Chen M., Bibby T., Nield J. et al. Structure of a large photosystem II supercomplex from *Acaryochloris marina* // *FEBS Lett.* – 2005b. – **579**, N 5. – P. 1306-1310.
- Cser K., Deak Z., Telfer A. et al. Energetics of photosystem II charge recombination in *Acaryochloris marina* studied by thermoluminescence and flash-induced chlorophyll fluorescence measurement // *Photosyn. Res.* – 2008. – **98**, N 1/3. – P. 131-140.
- Curi A., Zion L., Sayer R. et al. Modification of the pheophytin midpoint potential in photosystem II: modulation of the quantum yield of charge separation and of charge recombination pathways // *Phys. Chem. and Chem. Phys.* – 2004. – **6**, N 20. – P. 4825-4831.
- De los Rios A., Grube M., Sanch L.G., Ascaso C. Ultrastructural and genetic characteristics of endolithic cyanobacterial biofilm colonizing Antarctic granite rocks // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2007. – **59**, N 2. – P. 386-395.
- French C.S. The distribution and action in photosynthesis of several forms of chlorophyll // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1971. – **68**, N 11. – P. 2893-2897.
- Gantt E. Phycobilisomes // *Ann. Rev. Plant Physiol.* – 1981. – **32**. – P. 327-347.
- Giorgi L.B., Nixon P.J., Merry S.A.P. et al. Comparison of primary charge separation in the photosystem II reaction center complex isolated from wild-type and D1-130 mutants of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803 // *J. Biol. Chem.* – 1996. – **271**, N 4. – P. 2093-2101.
- Gloag R.S., Ritchie R.J., Chen M. et al. Chromatic photoacclimation, photosynthetic electron transport and oxygen evolution in the chlorophyll *d*-containing oxyphotobacterium *Acaryochloris marina* // *Biochim. and Biophys. Acta.* – 2007. – **1767**, N 2. – P. 127-135.
- Goss R., Wilhelm C., Garab G. Organization of the pigment molecules in the chlorophyll *a/b/c* containing alga *Mantoniella squamata* (*Prasinophyceae*) studied by means of absorption, circular and linear dichroism spectroscopy // *Ibid.* – 2000. – **1457**, N 3. – P. 190-199.
- Grossman A.R., Schaefer M.R., Ching G.G., Collier J.L. The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions // *Microbiol. Rev.* – 1993. – **57**, N 3. – P. 725-749.
- Grossman A.R., Bhaya D., Apt K.E., Kehoe D.M. Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: diversity, control, and evolution // *Ann. Rev. Genet.* – 1995. – **29**. – P. 231-288.
- Holt A.S., Morley H.V. A proposed structure for chlorophyll *d* // *Can. J. Chem.* – 1959. – **37**, N 3. – P. 507-514.
- Hu Q., Miyashita H., Iwasaki I. et al. A photosystem I reaction center driven by chlorophyll *d* in oxygenic photosynthesis // *Proc. Nat. Acad. Sci.* – 1998. – **95**, N 22. – P. 13319-13323.
- Hu Q., Marquardt J., Iwasaki I. et al. Molecular structure, localization and function of biliproteins in the chlorophyll *a/d* containing oxygenic photosynthetic prokaryote *Acaryochloris marina* // *Biochim. and Biophys. Acta.* – 1999. – **1412**, N 3. – P. 250-261.

- Ishikita H., Loll B., Biesiadka J. et al.* Redox potentials of chlorophylls in the photosystem II reaction center // *Biochemistry*. – 2005. – **44**, N 10. – P. 4118-4124.
- Itoh S., Mino H., Itoh K. et al.* Function of chlorophyll *d* in reaction centers of photosystems I and II of the oxygenic photosynthesis of *Acaryochloris marina* // *Ibid.* – 2007. – **46**, N 43. – P. 12473-12481.
- Jordan P., Fromme P., Witt H.T. et al.* Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution // *Nature*. – 2001. – **411**, N 6840. – P. 909-917.
- Kobayashi M., Watanabe T., Nakazato M. et al.* Chlorophyll *a*/P-700 and pheophytin *a*/P-680 stoichiometries in higher plants and cyanobacteria determined by HPLC analysis // *Biochim. and Biophys. Acta.* – 1988. – **936**, N 1. – P. 81-89.
- Kobayashi M., Watanabe S., Gotoh T. et al.* Minor but key chlorophylls in photosystem II // *Photosyn. Res.* – 2005. – **84**, N 1/3. – P. 201-207.
- Kobayashi M., Ohashi S., Iwamoto K. et al.* Redox potential of chlorophyll *d* *in vitro* // *Biochim. and Biophys. Acta.* – 2007. – **1767**, N 6. – P. 596-602.
- Kühl M., Chen M., Ralph P.J. et al.* Ecology: a niche for cyanobacteria containing chlorophyll *d* // *Nature*. – 2005. – **433**, N 7028. – P. 820.
- Kumazaki S., Abiko K., Ikegami I. et al.* Energy equilibration and primary charge separation in chlorophyll *d*-based photosystem I reaction center isolated from *Acaryochloris marina* // *FEBS Lett.* – 2002. – **530**, N 1/3. – P. 153-157.
- Larkum A.W.D., Kühl M.* Chlorophyll *d*: the puzzle resolved // *Trends Plant Sci.* – 2005. – **10**, N 8. – P. 355-357.
- La Roche J., van der Staay G.W.M., Partensky F. et al.* Independent evolution of the prochlorophyta and green chlorophyll *a/b* light-harvesting proteins // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1996. – **93**, N 26. – P. 15244-15248.
- Loll B., Broser M., Kos P.B. et al.* Modeling of variant copies of subunit D1 in the structure of photosystem II from *Thermosynechococcus elongatus* // *Biol. Chem.* – 2008. – **389**, N 5. – P. 609-617.
- Manning W.M., Strain H.H.* Chlorophyll *d*, a green pigment of red algae // *J. Biol. Chem.* – 1943. – **151**, N 1. – P. 1-19.
- Marquardt J., Senger H., Miyashita H. et al.* Isolation and characterization of biliprotein aggregates from *Acaryochloris marina*, a *Prochloron*-like prokaryote containing mainly chlorophyll *d* // *FEBS Lett.* – 1997. – **410**, N 2/3. – P. 428-432.
- McNamara C., Perry T., Bearce K. et al.* Epilithic and endolithic bacterial communities in limestone from a Maya archaeological site // *Microbiol. Ecol.* – 2006. – **51**, N 1. – P. 51-64.
- Merry S.A., Nixon P.J., Barter L.M.C. et al.* Modulation of quantum yield of primary radical pair formation in photosystem II by site-directed mutagenesis affecting radical cations and anions // *Biochemistry*. – 1998. – **37**, N 50. – P. 17439-17447.
- Miller S.R., Augustine S., Olson T.L. et al.* Discovery of a free-living chlorophyll *d*-producing cyanobacterium with a hybrid proteobacteria/cyanobacterial small-subunit *rRNA* gene // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2005. – **102**, N 3. – P. 850-855.

- Mimuro M., Akimoto S., Yamazaki I. et al. Fluorescence properties of chlorophyll *d*-dominating prokaryotic alga, *Acaryochloris marina*: studies using time-resolved fluorescence spectroscopy on intact cells // Biochim. and Biophys. Acta. – 1999. – **1412**, N 1. – P. 37-46.
- Mimuro M., Hirayama K., Uezono K. et al. Uphill energy transfer in a chlorophyll *d*-dominating oxygenic photosynthetic prokaryote, *Acaryochloris marina* // Ibid. – 2000. – **1456**, N 1. – P. 27-34.
- Mimuro M., Akimoto S., Gotoh T. et al. Identification of the primary electron donor in PS II of the chl. *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina* // FEBS Lett. – 2004. – **556**, N 1/3. – P. 95-98.
- Mimuro M., Tomo T., Tsuchiya T. Two unique cyanobacteria lead to a traceable approach of the first appearance of oxygenic photosynthesis // Photosyn. Res. – 2008. – **97**, N 2. – P. 167-176.
- Miyashita H., Ikemoto H., Kurano N. et al. Chlorophyll *d* as a major pigment // Nature. – 1996. – **383**, N 6599. – P. 402.
- Miyashita H., Adachi K., Kurano N. et al. Pigment composition of a novel oxygenic photosynthetic prokaryote containing chlorophyll *d* as the major chlorophyll // Plant Cell Physiol. – 1997. – **38**, N 3. – P. 274-281.
- Miyashita H., Ikemoto H., Kurano N. et al. *Acaryochloris marina* gen. et sp. nov. (Cyanobacteria), an oxygen photosynthetic prokaryote containing chl. *d* as a major pigment // J. Phycol. – 2003. – **39**, N 6. – P. 1247-1253.
- Murakami A., Miyashita H., Iseki M. et al. Chlorophyll *d* in an epiphytic cyanobacterium of red algae // Science. – 2004. – **303**, N 5664. – P. 1633.
- Nakamura A., Suzawa T., Kato Y., Watanabe T. Significant species-dependence of P700 redox potential as verified by spectroelectrochemistry: comparison of spinach and *Theromosynechococcus elongatus* // FEBS Lett. – 2005. – **579**, N 11. – P. 2273-2276.
- Nübel U., Garcia-Pichel F., Muyzer G. PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – **63**, N 8. – P. 3327-3332.
- Ohashi S., Miyashita H., Okada N. et al. Unique photosystems in *Acaryochloris marina* // Photosyn. Res. – 2008. – **98**, N 1/3. – P. 141-149.
- Ohkubo S., Miyashita H., Murakami A. et al. Molecular detection of epiphytic *Acaryochloris* ssp. on marine macroalgae // Appl. Environ. Microbiol. – 2006. – **72**, N 12. – P. 7912-7915.
- Razegnifard M.R., Chen M., Hughes J.L. et al. Spectroscopic studies of photosystem II in chlorophyll *d*-containing *Acaryochloris marina* // Biochemistry. – 2005. – **44**, N 33. – P. 11178-11187.
- Renger T., Schlodder E. The primary electron donor of photosystem II of the cyanobacterium *Acaryochloris marina* is a chlorophyll *d* and the water oxidation is driven by a chlorophyll *a*/chlorophyll *d* heterodimer // J. Phys. Chem. – 2008. – **112**, N 25. – P. 7351-7354.
- Schiller H., Senger H., Miyashita H. et al. Light-harvesting in *Acaryochloris marina* – spectroscopic characterization of a chlorophyll *d*-dominated photosynthetic antenna system // FEBS Lett. – 1997. – **410**, N 2/3. – P. 433-436.

- Schlodder E., Çetin M., Eckert H.J. et al. Both chlorophylls *a* and *d* are essential for the photochemistry in photosystem II of the cyanobacteria, *Acaryochloris marina* // Biochim. and Biophys. Acta. – 2007. – **1767**, N 6. – P. 589-595.
- Shevela D., Nöring B., Eckert H.-J. et al. Characterization of the water oxidizing complex of photosystem II of the Chl. *d*-containing cyanobacterium *Acaryochloris marina* via its reactivity towards endogenous electron donors and acceptors // Phys. Chem. and Chem. Phys. – 2006. – **8**, N 29. – P. 3460-3466.
- Sivakumar V., Wang R., Hastings G. Photo-oxidation of P₇₄₀, the primary electron donor in photosystem I from *Acaryochloris marina* // Biophys J. – 2003. – **85**, N 5. – P. 3162-3172.
- Six C., Worden A.Z., Rodriguez F. et al. New insights into the nature and phylogeny of prasino-phyte antenna proteins: *Ostreococcus tauri*, a case study // Mol. Biol. Evol. – 2005. – **22**, N 11. – P. 2217-2230.
- Smith M.C., Bowman J.P., Scott F.J., Line M.A. Sublithic bacteria associated with Antarctic quartz stones // Antarct. Sci. – 2000. – **12**, N 2. – P. 177-184.
- Swingley W.D., Chen M., Cheung P.C. et al. Niche adaptation and genome expansion in the chlorophyll *d*-producing cyanobacterium *Acaryochloris marina* // Proc. Nat. Acad. Sci. – 2008. – **105**, N 6. – P. 2005-2010.
- Telfer A., Pascal A., Barber J. et al. Electron transfer reactions in photosystems I and II of the chlorophyll *d*-containing cyanobacterium, *Acaryochloris marina* // Photosyn. Res. – 2007. – **91**, N 2/3. – P. 143.
- Tomo T., Okubo T., Akimoto S. et al. Identification of the special pair of photosystem II in a chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2007. – **104**, N 17. – P. 7283-7288.
- Tomo T., Kato Y., Suzuki T. et al. Characterization of highly-purified photosystem I complexes from the chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina* MBIC 11017 // J. Biol. Chem. – 2008. – **283**, N 26. – P. 18198-18209.

Получена 23.03.09

Рекомендовал к печати И.Ю. Костиков