

РГАСНТИ 31.23.27

ISSN 0202—795X



# ИТОГИ НАУКИ И ТЕХНИКИ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Том 46

<http://biotex.ibss.org.ua>



Москва 1991

ИТОГИ НАУКИ И ТЕХНИКИ

СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Том 46

ФИКОБИЛИСОМЫ

к. б. н. И. Н. Стадничук

Серия издается с 1966 г.

*Рудольфу Павловичу Штреккенциу  
с искренним уважением от автора.*

*12.5.92.*

*М. Ситю*



Главный редактор информационных изданий ВИНТИ  
проф. П. В. Нестеров

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

информационных изданий ВИНТИ по биологии и биотехнологии

Главный редактор — акад. Р. В. Петров

Члены редакционной коллегии: акад. А. А. Баев,

к. б. н. О. Н. Барсова, чл.-корр. АН СССР А. А. Богданов,

к. б. н. Л. Ф. Борисова (зам. главного редактора),

проф. Э. И. Будовский, чл.-корр. АН СССР А. И. Бызов,

проф. Ю. М. Васильев, акад. АМН СССР Ю. А. Владимиров,

чл.-корр. АН СССР В. Г. Дебабов, к. т. н. Е. Ю. Двойченкова,

чл.-корр. АН СССР Р. П. Евстигнеева, д. б. н. Г. Б. Завильгельский,

акад. В. Т. Иванов, к. б. н. В. А. Игнатова,

чл.-корр. АН СССР С. Г. Инге-Вечтомов, д. б. н. М. А. Каменская,

проф. А. А. Клесов, акад. П. Г. Костюк, акад. Н. К. Кочетков,

к. м. н. В. А. Кочукова, акад. А. А. Красновский,

чл.-корр. АН СССР В. Л. Кретолич, чл.-корр. АН СССР О. А. Крышталъ,

акад. АМН СССР Д. К. Львов, д. м. н. А. А. Меерсон,

д. б. н. А. А. Михайлова (зам. главного редактора),

акад. А. Д. Мирзабеков, акад. А. А. Ничипорович, к. б. н. Т. А. Прокина,

проф. Е. С. Северин, акад. В. П. Скулачев, акад. ВАСХНИЛ А. А. Созинов,

акад. В. Е. Соколов, акад. А. С. Спирин, к. м. н. В. Н. Тарасов,

к. б. н. А. В. Титова, проф. Р. М. Хаитов, акад. Е. И. Чазов,

к. б. н. В. Л. Чернова (ученый секретарь редколлегии),

чл.-корр. АН СССР Ю. А. Чизмаджев, к. б. н. И. П. Шамардина,

д. б. н. В. Р. Шатилов, акад. ВАСХНИЛ В. С. Шевелуха,

к. б. н. Т. Н. Шереметьевская, чл.-корр. АН СССР С. В. Шестаков,

д. м. н. А. И. Шнирельман

Научный редактор д. б. н. В. Я. Быховский

Рецензент д. б. н. Г. Я. Фрайкин

ФИКОБИЛИСОМЫ

к.б.н. И. Н. Стадничук

## 1. СВОЙСТВА И СТРОЕНИЕ ФИКОБИЛИСОМ

1.1. Функции и клеточная локализация фикобилипротеинов

Участие фикобилипротеинов в фотосинтезе было продемонстрировано Энгельманом [64,65] в конце XIX века в опытах с филаментозными сине-зелеными водорослями. Вдоль водорослевых нитей проецировался микроспектр от светового микроскопа, а в водную среду помещались подвижные аэробные нефотосинтезирующие бактерии. При освещении водорослей разлагаемым в спектр светом клетки бактерий преимущественно собирались в той освещенной части сосуда, где выделение  $O_2$  в процессе фотосинтеза было наибольшим. Скопления бактерий наблюдались в участках, освещаемых светом 570–630 нм, который поглощается фикобилипротеинами (Рис. 1).

Данные Энгельмана стали первым доказательством участия пигментов, отличных от хлорофилла  $a$ , в фотосинтезе. Много позже его результаты нашли подтверждение в измерениях спектров действия фотосинтеза [63, 129]. У сине-зеленых и красных водорослей эти спектры, регистрируемые по выделению кислорода, содержат максимумы, совпадающие с максимумами поглощения фикобилипротеинов (Рис. 2), причем, как оказалось в первых же опытах, фотосинтез стимулируется с эффективностью, близкой к максимальной [63].

Участие фикобилипротеинов в фотосинтезе было также подтверждено исследованием спектров возбуждения флуоресценции хлорофилла  $a$  *in vivo*: оказалось, что эти пигменты эффективно сенсibiliзируют его излучение [25, 56, 74, 257]. В настоящее время общепризнано, что фикобилипротеины выполняют функцию передачи поглощенной энергии хлорофиллу. Наиболее вероятно, что миграция протекает по индуктивно-резонансному механизму. В этом случае эффективность переноса возбуждения пропорциональна  $1/R^6$ , где  $R$  – расстояние между молекулами

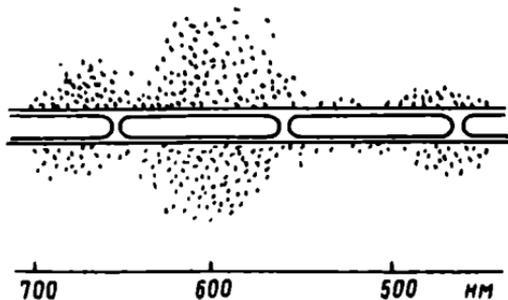


Рис. 1. Схема опыта Энгельмана: клетки филаментозных сине-зеленых водорослей находятся в водной среде, содержащей аэробактерии, и ориентированы перпендикулярно разлагаемому в спектр свету

хлорофилла и хромофорами фикобилипротеинов, которое не может превышать 5-10 нм.

Поскольку хлорофилл находится в фотосинтетических мембранах, то и фикобилипротеины должны локализоваться в фотосинтетических ламеллах или в очень тесном контакте с ними, однако непосредственно в мембранах тилакоидов фикобилипротеины не могут находиться по двум причинам. Во-первых, хорошая растворимость этих белков в воде не позволяет отнести их к мембранным протеидам. Во-вторых, судя по количеству, достигающему в некоторых случаях до 20% сухого веса клетки, они должны занимать объем, превышающий объем тилакоидных мембран, что подтверждено соответствующим расчетом [28]. Следовательно, фикобилипротеины могут содержаться в каких-либо специальных структурах клеток, расположенных вблизи фотосинтетических ламелл. Этому выводу полностью соответствуют особенности ультраструктурной организации тилакоидов у сине-зеленых и красных водорослей. В отличие от хлоропластов высших растений, которые вместо фикобилипротеинов содержат дополнительный пигмент, хлорофилл *b*, фотосинтетические мембраны цианобактерий и багрянок не формируют гран [29]. Их тилакоиды располагаются по отдельности, не контактируя друг с другом (Рис. 3). Фотосинтетические мембраны обычно образуют три и более концентрических слоя, разделенных регулярными промежутками шириной 50 нм [33, 58, 166]. Таким образом, пространственная организация фотосинтетических мембран в клетках сине-зеленых и красных водорослей соответствует цитологическим представлениям о том, что фикобилипротеины следует искать в каких-то структу-

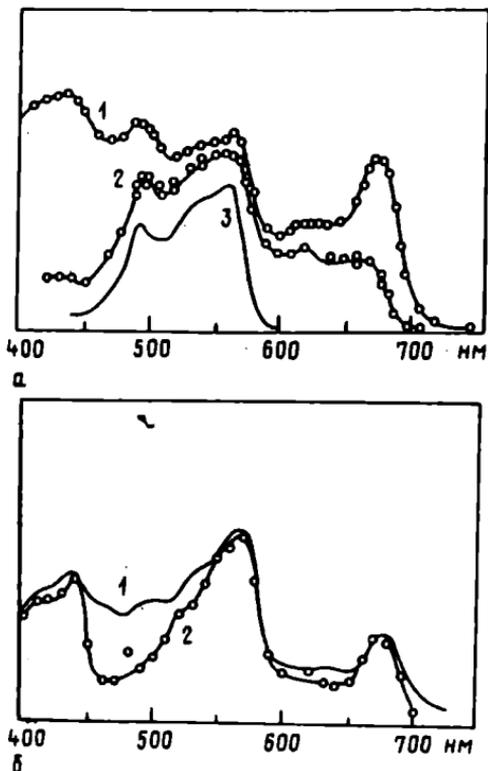


Рис. 2. а) спектр поглощения (1) и спектр действия фотосинтеза (2) красной водоросли *Porphyra pereosystis*; спектр поглощения R- фикоэритрина (3) [129]; б) спектр поглощения (1) и спектр действия фотосинтеза (2) сине-зеленой водоросли *Phormidium ectocarpii* [130]

рах, находящихся в непосредственной близости к этим мембранам. Такие структуры, различимые в виде гранул размером около 30 нм, связанных с ламеллами, были обнаружены на электронных микрофотографиях тонкослойных срезов клеток красной водоросли *Porphyridium cruentum* [84-86]. Хлоропласты высших растений не содержат фикобилипротеинов и не имеют таких гранул.

Присутствие фикобилипротеинов в гранулах установлено в опытах по избирательной экстракции пигментов. При обработке механически разрушенных мембранных фрагментов клеток и хлоропластов неполярными растворителями они освобождаются от

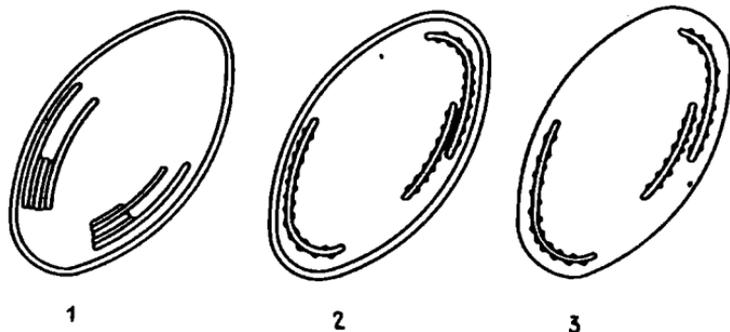


Рис. 3. Упрощенная схема мембранного строения хлоропластов высших растений (1), красных водорослей (2) и клеток цианобактерий (3)

хлорофилла и каротиноидов, сохраняя, как свидетельствует спектр поглощения, окраску, обусловленную фикобилипротеинами. В таких заметно обесцвеченных препаратах на электронных фотографиях еще яснее выявляются гранулы, регулярным образом расположенные на мембранах тилакоидов. Удаление фикобилипротеинов из клетки полярными растворителями ведет к одновременному исчезновению гранул. Все это говорит о локализации фикобилипротеинов в гранулах, названных фикобилисомами, т.е. "фикобилипротеиновыми тельцами" [84]. В дальнейшем фикобилисомы были обнаружены на электронных фотографиях микросрезов у цианобактерий *Synechococcus lividus* [58], *Tolypothrix tenuis* и *Fremyella diplosiphon* [87], а затем и у других изученных сине-зеленых и красных водорослей [48, 59, 67, 171, 268]. Фикобилисомы располагаются на наружной, стромальной стороне внутренней мембраны тилакоидов и напоминают рибосомы на поверхности эндоплазматического ретикулума. Эти частицы хорошо выявляются методом просвечивающей электронной микроскопии в препаратах, фиксированных последовательной обработкой глутаровым альдегидом и  $O_3O_4$  или только  $O_3O_4$  [268].

Обнаружение фикобилисом не всегда является простой процедурой. Например, клетки *Anacystis nidulans*, как и некоторых других водорослей, содержат гранулы гликогена, по размерам и форме близкие к фикобилисомам и расположенные в пространстве между тилакоидами [43]. В отличие от фикобилисом такие гранулы не примыкают к тилакоидной мембране.

## 1.2. Методы выделения фикобилисом

Начиная с пятидесятых годов [10, 253] и по настоящее время (см. [106]) методики выделения фикобипротейнов постоянно совершенствуются. Все они, однако, связаны с разрушением фикобилисом. Протектором при получении цельных фикобилисом служил глутаровый альдегид [86], но биохимический анализ состава и строения этих частиц в его присутствии был невозможен. Успешной заменой глутаровому альдегиду стал 10–30%-ный раствор полиэтиленгликоля [2,193]. Как правило, для выделения используют водные растворы высокой ионной силы, где фикобилисомы устойчивы [90]. Процедура может быть модифицирована в зависимости от вида водорослей и размера фикобилисом. Оптимальным считается применение буферных растворов с концентрацией 0,65–0,8 М и рН от 7 до 8 [82]. Впрочем, для устойчивости фикобилисом термофильной цианобактерии *Mastigocladus laminosus* необходим 0,9 М буферный раствор [212]. Температура должна составлять 20–23°. При понижении температуры, уменьшении ионной силы растворов, изменении рН наблюдается большая или меньшая диссоциация фикобилисом. В 0,75 М фосфатном буферном растворе при комнатной температуре выделенные фикобилисомы сохраняют стабильность в течение нескольких суток.

Гомогенат клеток, разрушенных ультразвуком или с помощью Френч-пресса, подвергают ультрацентрифугированию. Клеточные фрагменты и мембранные компоненты при этом осаждаются, а фикобилисомы остаются в супернатанте. При последующем центрифугировании супернатанта в градиенте плотности сахарозы фракция фикобилисом концентрируется в слое 0,75–1,0 М.

Для лучшего отделения фикобилисом от типакоидной мембраны обычно используют неионный детергент тритон X-100, что повышает выход этих частиц и препятствует их агрегации (Рис. 4), которая, не сказываясь на биохимическом составе, мешает анализу структуры фикобилисом на электронных микрофотографиях. Такие детергенты, как дерифат 160 или мирано S2M-SF, нашли ограниченное применение [112]. В последнее время предложен метод получения фикобилисом с применением катионного детергента штиптриметиламмонийбромида [192], который, в отличие от тритона X-100, позволяет сократить время инкубации с 20–60 мин до 40 с, причем реактив добавляется не к фрагментам мембран, а к целым клеткам, что уменьшает загрязнение хлорофиллом на начальных ста-

Гомогенат разрушенных клеток водорослей  
в 0,75 М фосфатном буферном растворе pH 7,0

↓

Частичная сольubilизация тилакоидных  
мембран с добавлением детергента  
Тритона X-100 в течение 20-60 мин

↓

Центрифугирование при 25.000 g 30 мин с  
отбрасыванием осадка из клеточных фраг-  
ментов и неразрушенных мембран

↓

Наслаивание супернатанта на градиент  
плотности сахарозы с последующим  
центрифугированием при 140.000 g 3 часа

↓

Получение фракции фикобилисом в слое 1М  
сахарозы

Рис. 4. Стандартная схема выделения фикобилисом

дях выделения. Вместо детергентов для разделения фико-  
билисом и мембран тилакоидов можно использовать ограничен-  
ный протеолиз с добавлением трипсина к водным клеточным  
экстрактам [133].

Интактные препараты фикобилисом — по данным на 1979 г.  
[96]—получены из цианобактерий *Agmenellum quadriplicatum*,  
*Anabaena variabilis*, *A. nidulans*, *F. diplosiphon*, *Nostoc sp.* (Mac.),  
*Phormidium persicinum* и красных водорослей *Griffithsia pacifica*,  
*Nemalion multifidum*, *P. cruentum*, *Porphyridium sordidum*,  
*Porphyridium erugineum*, *Rhodosorus marinus*. Кроме того,  
фикобилисомы выделены из водорослей *Synechocystis* 6701  
[269], *M. laminosus* [210], *Anabaena cylindrica*,  
*Plectonema borianum* [193], *Gloeobacter violaceus* [35],  
*Nostoc muscorum* [2] *Rhodella violacea*  
[158], *Gloiopeltis furcata*, *Ahnfeltzia tobuchiensis* [3],  
*Pseudanabaena* 7409 (36), *Nostoc punctiforme* [9],  
*Gracilaria tikvahiae* [162], *Neogardiella bailyi* [161].  
Число видов красных и сине-зеленых водорослей, из которых  
получены фикобилисомы, множится с каждым годом (см., на-  
пример, [98]).

Критериями очистки и интактности фикобилисом служат дан-  
ные электронной микроскопии, а также спектры поглощения и  
флуоресценции. На электронных микрофотографиях выделенные  
в интактном состоянии фикобилисомы не отличаются от прикреп-

ленных к мембране. Спектры поглощения фикобилизом в видимой части зависят от их фикобилиптеинового состава и потому заметно различаются у разных видов водорослей. В то же время ультрафиолетовый максимум (275 нм) обусловлен в основном поглощением белковой части молекул фикобилиптеинов, поэтому его положение у разных фикобилизом и фикобилиптеинов совпадает. Для хорошо очищенных фикобилизом действует эмпирическое правило: интенсивность поглощения в видимой области в 4 или более раз должна превышать ультрафиолетовое поглощение [82,83] (Рис. 5,1).

Максимум флуоресценции фикобилизом составляет 670–675 нм при комнатной температуре (см. рис. 5,2) и сдвигается к 680–685 нм с ее понижением до  $-196^{\circ}\text{C}$  [83]. Флуоресценция в этой области спектра характерна также для нативного хлорофилла, поэтому некоторое время дискутировался вопрос о том, не может ли определенная фракция хлорофилла входить в состав фикобилизом.

Инкубация фикобилизом в растворах тритона X-100 (1–2%) снижает содержание хлорофилла в препаратах с 1 мкг/100 мкг белка до 1 мкг/40 г у цианобактерии *Nostoc* sp. или 1 мкг/25 г у *P. cruentum*. Это соответствует падению содержания хлорофилла до 1 молекулы на 10 фикобилизом. Интенсивность флуоресценции в области 685 нм при этом практически не меняется [282], что указывает на принадлежность излучения именно фикобилизомам. Положение максимума флуоресценции не зависит от длины волны возбуждения т.е. от того, какой из белков-пигментов поглощает возбуждающий свет. Следовательно, тест на флуоресценцию отражает сохранение миграции энергии между пигментами

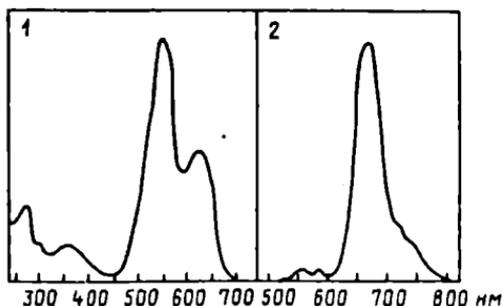


Рис. 5. Спектры поглощения (1) и флуоресценции (2) фикобилизом цианобактерии *Nostoc* sp. [120]

внутри фикобилисом, поэтому он является наиболее чувствительным. При частичной диссоциации фикобилисом в препаратах возрастает флуоресценция в области 575 (фикоэритрин) и 640 нм (фикоцианин).

### 1.3. Попудисковидные и полуэллипсоидальные фикобилисомы

Фикобилисомы не являются тельцами простой округлой формы, как могло показаться по микрофотографиям с недостаточным увеличением и невысокой разрешающей способностью. Очертания и размеры этих суборганелл не одинаковы у разных водорослей [49, 83, 263]. В большинстве случаев фикобилисомы имеют полудисковидную или полуэллипсоидальную форму. Это было выяснено в одном из первых микроскопических исследований Гант и Конти [86], когда обнаружилось, что фикобилисомы двух красных водорослей *P. aeruginosa* и *P. cruentum*, различаются по величине и форме. Очертания фикобилисом были подробно проанализированы на фотографиях микросрезов, проходящих в разных направлениях относительно плоскости тилакоидной мембраны. Своим основанием (диаметром) полудисковидные фикобилисомы (*P. aeruginosa*) прилегают к тилакоиду. Если срез проходит параллельно поверхности ламеллярной мембраны или перпендикулярно к ней и к широкой стороне такого полудиска, т.е. "сверху" или "сбоку", то фикобилисомы выглядят как тельца прямоугольной формы. Только на срезах, перпендикулярных мембране, но параллельных широкой стороне фикобилисом, т.е. с "лицевой стороны", полудисковидная форма ясно различима [204]. Данные морфологии этого типа фикобилисом суммированы Гант [82, 83]. (Табл. 1). Радиальные размеры лицевой стороны подобных фикобилисом составляют 20-40 нм, толщина полудисков - 6-10 нм. На фотографиях обычно хорошо видно, что полудисковидные фикобилисомы состоят из цилиндрических элементов, в виде веера собранных к центру.

Фикобилисомы в виде полудисков имеются у большинства сине-зеленых водорослей. Так, еще в 1974 г. Вильдман и Боуэн [268] у 15 различных видов цианобактерий нашли фикобилисомы этой формы. У красных водорослей они встречаются заметно реже: кроме упомянутого вида (*P. aeruginosa*), они найдены еще у двух одноклеточных водорослей - (*Cyanidium caldarium* [270] и *R. violacea* [263]).

Размеры полудисковидных и полуэллипсоидальных  
фикобилисом, по данным, суммированным Гант [82,83]

Вид водоросли	Форма фикоби- сом	Радиаль- ные раз- меры, нм	Толщи- на, нм	Литера- тура
1	2	3	4	5
Сине-зеленые водоросли				
<i>Cyanophora paradoxa</i>	ПД	35		[30]
<i>Fremyella diplosiphon</i>	ПД	35		[87]
<i>Synechococcus lividus</i>	ПД	35	6	[59]
<i>Chroococcus minutus</i>	ПД	35		[256]
<i>Nostoc</i> sp.	ПД	40		[121]
<i>Anabaena cylindrica</i>	ПД			[268]
<i>Anacystis nidulans</i>	ПД			[268]
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	ПД			[268]
<i>Arthrospira jenneri</i>	ПД			[268]
<i>Calothrix</i> sp.	ПД	35-38	10	[268]
<i>Microcoleus vaginatus</i>	ПД			[268]
<i>Nostoc muscorum</i>	ПД			[268]
<i>Symploea muscorum</i>	ПД			[268]
<i>Telyporthrix distorta</i>	ПД			[268]
<i>Oscillatoria brevis</i>	ПД	23-32	6	[172]
<i>Oscillatoria limosa</i>	ПД	18 × 24	6	[172]
<i>Oscillatoria splendida</i>	ПД	20 × 25	8	[172]
<i>Synechococcus</i> 6312	ПД	23 × 41	8	[37]
Красные водоросли				
<i>Porphyridium cruentum</i>	ПЭ	36	45	[84,86]

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5
<i>Porphyridium cruentum</i>	ПЭ	32 × 47	33	[90]
<i>Porphyridium cruentum</i>	ПЭ	28 × 40	19	[261]
<i>Griffithsia pacifica</i>	ПЭ	38 × 63	38	[94]
<i>Griffithsia pacifica</i>	ПЭ	27 × 45		[260]
<i>Griffithsia flocculosa</i>	ПЭ	37		[218]
<i>Rhodochorton purpureum</i>	ПД-ПЭ	37	21	[169]
<i>Rhodotamniella floridula</i>	ПД-ПЭ	37	17	[169]
<i>Rhodella violacea</i>	ПД	33	7	[264]
<i>Rhodella violacea</i>	ПД	33 × 53		[204]
<i>Porphyra leucosticta</i>	ПЭ	20		[244]
<i>Hypoglossum woodwardi</i>	ПЭ	27		[170]

ПД - полудисковидные и ПЭ - полуэллипсоидальные фикобилисомы.

Сравнение размеров фикобилисом, определяемых по снимкам микросрезов и после негативного контрастирования препаратов, показывает, что в первом случае они примерно на 1/3 меньше, и это объясняется дегидратацией препаратов, проходящих обработку абсолютным спиртом или ацетоном. Сопоставление размеров проведено для водорослей *P. cruentum* [83] и *R. violacea* [264].

Второй тип - глобулярные [83] или полусферические [263] фикобилисомы. Чаше употребляется более точное название - "полуэллипсоидальные" фикобилисомы [99]. Они крупнее полудисковидных, хотя общими очертаниями очень их напоминают (Рис. 6). Этот тип характерен для красных водорослей. По высоте и размерам своей лицевой стороны полуэллипсоидальные фикобилисомы сходны с полудисковидными, но их толщина больше (15-33 нм). Размеры наиболее подробно описанных фикобилисом *P. cruentum* составляют 40 (длина) × 28 нм (толщина). [261]. У ряда видов водорослей эти параметры можно считать промежуточными между двумя описанными типами (см. табл. 1). Наиболее крупные из известных - фикобилисомы багрянки *Griffithsia pacifica* (63 × 38 × 38 нм) [94].

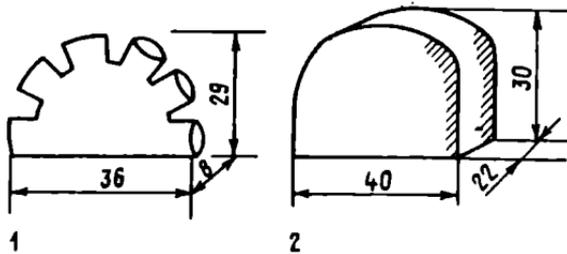


Рис. 6. Схема строения полудисковидных фикобилисом *Rhodella violacea* (1) и полуэллипсоидальных фикобилисом *Porphyridium cruentum* (2) [263]; размеры указаны в нанометрах

Считалось, что у цианобактерий полуэллипсоидальные фикобилисомы отсутствуют, и только в 1985–1987 годах выяснено, что у ряда штаммов *Phormidium* и *Synechococcus* фикобилисомы по размерам и коэффициенту седиментации более соответствуют полуэллипсоидальной форме, нежели полудисковидной [128, 213].

В зависимости от размеров и формы фикобилисом их молекулярная масса, оцененная по коэффициенту седиментации в градиенте плотности сахарозы или исходя из массы составляющих этих частицы фикобилипротеинов, равняется 3–40 МД. Следует отметить, что при выделении фикобилисом красной водоросли *Porphyra umbilicalis* они концентрируются в двух дискретных слоях градиента плотности сахарозы [19]. Электронная микроскопия подтвердила наличие двух типов полудисковидных фикобилисом, различающихся по размерам и доле фикоэритрина. Их соотношение у *P. umbilicalis* зависит от световых условий роста.

Каждая водоросль, за исключением упомянутого случая [19], имеет только один тип фикобилисом. Вывод подтверждается анализом микрофотографий этих суборганелл, где у каждого вида водорослей они выглядят частицами одного размера и формы, поэтому пигментный состав фикобилисом должен совпадать с составом фикобилипротеинов в клетках. В соответствии с этим фикобилисомы могут содержать два, три или четыре типа фикобилипротеинов. Как известно, аллофиоксианин – обязательный компонент всех клеток цианобактерий и багряннок. В дополнение к нему у ряда видов (см. [15]) присутствует только С-фиоксианин. Два этих пигмента и образуют первое возможное сочетание. Вместо С-фиоксианина в фикобилисомах может на-

C-фикоцианин	B-, C-, CU- или R-фикоэритрин или фикоэритроцианин	CU-фикоэритрин
Аллофикоцианин	C-или R-фикоцианин	C-фикоэритрин
1	2	3
	Аллофикоцианин	C-фикоцианин
		Аллофикоцианин

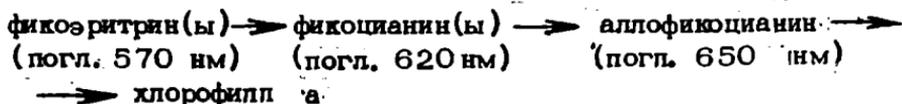
Рис. 7. Три пигментных типа фикобилисом (см. текст)

ходиться R- или RII-фикоцианин, но тогда в дополнение обнаруживаются один из фикоэритринов (B-, R-, C- или CU-фикоэритрины) или фикоэритроцианин. Сочетание трех фикобилипротеинов (аллофикоцианин, один из фикоцианинов и один из фикоэритринов или фикоэритроцианин) образуют вторую композицию. Наконец, у нескольких видов цианобактерий наряду с фикоцианином и аллофикоцианином найдены два фикоэритрина (C- и CU-фикоэритрины — см. [15]). Эти четыре фикобилипротеина образуют третий, наиболее сложный по составу пигментный тип фикобилисом у водорослей (Рис. 7).

#### 1.4. Строение полудисковидных фикобилисом

На электронных микрофотографиях хлоропластов при увеличении в 10 000 – 20 000 раз фикобилисомы предстают как глобулы, прикрепленные к тилакоидной мембране, поэтому в первой приближенной модели [59] фикобилисомы цианобактерий рассматривались попросту как шаровидные скопления фикобилипротеинов. Число молекул пигментов в такой глобуле оценивалось в предположении, что все внутреннее пространство равномерно заполнено фикобилипротеинами. Их взаиморасположение в фикобилисоме оставалось неизвестным и было одним из первых вопросов, которые нуждались в выяснении.

Достаточно очевидно, что строение фикобилисом должно отвечать условию оптимальности миграции энергии по схеме:



Схеме соответствует модель, по которой наружную часть глобул составляет фикоэритрин, в средней части располагается

фикоцианин, а внутренний участок, примыкающий к фотосинтетической мембране, занят аллофикоцианином).

Для локализации фикобилипротеинов были использованы эксперименты по частичной диссоциации фикобилисом в растворах и опыты по взаимодействию антиген-антитела.

Фикобилисомы *in vitro* могут диссоциировать частично или полностью, до отдельных фикобилипротеинов, при изменении рН и уменьшении ионной силы раствора. Последовательность перехода фикобилипротеинов в раствор при этом оказалась закономерной: фикоэритрин, затем фикоцианин и последним — аллофикоцианин. Так, у *P. cruentum* при четырехчасовой диссоциации фикобилисом в 0,055 М фосфатном буферном растворе В-фикоэритрин отмывается полностью, R — фикоцианин на 80% и аллофикоцианин — лишь на 60% [92].

Фикобилисомы цианобактерии *Nostoc* sp. содержат примерно равные количества трех фикобилипротеинов: С — фикоэритрина, С — фикоцианина и аллофикоцианина. У этих фикобилисом преципитация с антителами к С-фикоэритрину и к аллофикоцианину протекает более выражено, чем с антителами к С — фикоцианину. Время преципитации для растворов с диссоциированными фикобилисомами, по сравнению с интактными, сокращается только для С — фикоцианина [97]. Опыты по диссоциации фикобилисом и их взаимодействию с антителами можно объяснить, исходя из представлений о наружном положении фикоэритрина, о находящемся посередине и поэтому заэкранированном для антител слое фикоцианина и о центральном, но доступном для антител после отделения фикобилисомных глобул от мембраны расположении аллофикоцианина. В этом отношении более убедительны исследования тилакоидных мембранных везикул с прикрепленными к ним с наружной стороны фикобилисомами. Такой препарат является как бы промежуточным между интактными мембранами, несущими фикобилисомы, и очищенными фикобилисомами *in vitro*. Частичное или полное удаление фикобилисом с поверхности везикул достигается в растворе с низкой ионной силой (0,03 М вместо 0,75 М). Везикулы при диссоциации теряют прежде всего фикоэритрин, что свидетельствует о его наружном расположении [97].

В условиях высокой ионной силы раствора, стабилизирующей фикобилисомы, с везикулами преципитируют лишь антитела к фикоэритрину. При низкой ионной силе, в условиях диссоциации фикоэритрина и фикоцианина, с везикулами связываются антитела, полученные к аллофикоцианину. Это говорит о том, что аллофикоцианин находится в участке фикобилисомы, примыкаю-

шем к мембране тилакоидов [93]. Полное отмывание фикобилисом от везикулярной мембраны ведет к потере взаимодействия антител и с аллофикоцианином. Все это позволяет считать, что в глобулярной модели фикобилисом различные фикобилипротеины должны располагаться "послойно" (Рис. 8).

Естественно задаться вопросом о том, за счет чего фикобилипротеины объединяются в фикобилисомную глобулу. К началу структурного изучения фикобилисом была хорошо известна способность этих белков-пигментов к агрегации [186]. Даже при низких концентрациях фикобилипротеинов в растворах легко регистрируются агрегаты-гексамеры, имеющие форму дисков диаметром 11-12 нм и толщиной 5-6 нм. Очевидно, что фикобилисомы можно рассматривать как суперагрегаты фикобилипротеинов. Действительно, в свежих водных экстрактах клеток цианобактерий наблюдаются более крупные агрегаты С - фикоцианина, чем в чистых препаратах этого пигмента [153, 165]. В частности, в неочищенном клеточном экстракте из *Calothrix parietina*, судя по коэффициенту седиментации, присутствуют 18-меры С-фикоцианина [165]. При этом в поле зрения электронного микроскопа после негативного контрастирования препарата видны цилиндрические элементы, равные по длине трем состыкованным дискам - гексамерам этого пигмента. Следовательно, агрегаты фикобилипротеинов высоких порядков формируются не хаотично, а путем последовательной стыковки дисковидных элементов с наращиванием длины возникающих при этом цилиндров. С совершенствованием методов выделения интактных фикобилисом удалось получить микрофотографии с увеличением более 100 000, на которых выявилось внутреннее строение этих органелл. Особенно удачными, с ясным разрешением структуры, оказались снимки полудисковидных фикобилисом. На них было хорошо различимо, что эти тельца состоят из нескольких состыкованных цилиндрических элементов. Диаметр цилиндров совпадает с измеренным ранее для агрегатов фикобилипротеинов в растворах. Такие агрегаты-цилиндры в полудисковидных фикобилисомах образуют две структурные группы. Одна из них находится в центре и состоит из трех контактирующих друг с другом цилиндров, которые соприкасаются параллельными боковыми сторонами, формируя трехгранник, получивший название "ядра" фикобилисомы. Вторую группу образуют еще шесть цилиндров, примыкающих к ядру своей торцевой частью. Эти цилиндрические элементы не имеют контактов друг с другом. Полудисковидный контур возникает за счет того, что боковые цилиндры, стыкующиеся с ядром, распо-



Рис. 8

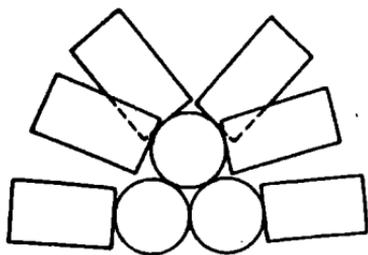


Рис. 9

Рис. 8. Простейшая глобулярная модель фикобилисом, основанная на данных по их диссоциации в растворе и иммунопреципитации (1 - аллофикоцианин, 2 - фикоцианин, 3 - фикоэритрин) [97]

Рис. 9. Модель полудисковидной фикобилисомы: "трехгранное" ядро и шесть боковых цилиндров [204]

лагаются в виде веера и примерно в одной плоскости. На микрофотографиях фикобилисом, связанных с тилакоидной мембраной, видно, что контакт осуществляется за счет прилегания к мембране двух из трех цилиндров ядра. Третий цилиндр и шесть боковых цилиндров фикобилисомы не входят с ней в соприкосновение (Рис. 9). Впервые структура полудисковидных фикобилисом была определена у красной водоросли *R.violacea* [204], и затем подтверждена при изучении суборганелл у сине-зеленых водорослей [37].

При детальном изучении структуры фикобилисомных цилиндров выясняется, что они состоят из нескольких "шайб", или дисков, размеры которых совпадают с размерами гексамеров фикобилипротеинов. Анализ состава и расположения шайб в цилиндрах ранее всего проведен для фикобилисомы *R.violacea* [157, 158], состоящих из В-фикоэритрина, С-фикоцианина и аллофикоцианина в молярном соотношении 2:1:1. При частичной диссоциации фикобилисом удается разобрать их на части: отделить боковые цилиндры от ядра и проанализировать пигментный состав. Как оказалось, боковые цилиндры не содержат аллофикоцианина, находящегося, очевидно, только в ядре. Это согласуется с предыдущими иммунохимическими данными: аллофикоцианин находится в примыкающей к хлоропластной мембране центральной части фикобилисомы.

Каждый из шести боковых цилиндров состоит из трех дисков. Исходя из соотношения В-фикоэритрина и С-фикоцианина (2:1), можно было допустить, что два из трех дисков содержат В-фикоэритрин и один - С-фикоцианин. При дезагрегации боковых цилиндров на диски в буферных растворах пониженной ионной силы были получены четыре фракции: чистого В-фикоэритрина, чистого С-фикоцианина и две смешанные, содержащие оба пигмента в соотношениях 1:1 и 2:0,5. Эти данные позволили установить строение боковых цилиндров фикобилисомы. Молекулярная масса частиц во фракции чистого В-фикоэритрина соответствовала гексамерам этого пигмента, частицы во фракции чистого С-фикоцианина были тримерами и гексамерами. Следовательно, в пределах гексамеров и тримеров фикобилипротеины не образуют смешанных агрегатов, так как каждый диск содержит только один пигмент. Присутствие двух фракций с дискретным молярным соотношением пигментов (1:1 и 2:0,5) можно объяснить только тем, что боковые цилиндры несут по два диска В-фикоэритрина и одному диску С-фикоцианина. Молекулярная масса фракции "1:1" равна сумме молекулярных масс двух гексамеров. Наличие этой фракции должно объясняться тем, что в результате диссоциации трех дисков, составляющих боковой цилиндр, диск В-фикоэритрина отделяется, а додекамер, состоящий из С-фикоцианина и В-фикоэритрина, остается. Сочетание пигментов 2:0,5 объясняется тем, что каждый диск-гексамер состоит из двух прилегающих друг к другу тримеров. В ходе диссоциации один из тримеров С-фикоцианина отделяется от партнера-тримера, сохраняющего связь с двумя дисками В-фикоэритрина. Наличие фракции "2:0,5" показывает, что в боковых цилиндрах два диска В-фикоэритрина примыкают друг к другу и не разделены диском С-фикоцианина (Рис. 10).

На основе этих данных предложена первая модель дисковидной фикобилисомы с установленной локализацией пигментов: ядро, состоящее из трех цилиндров, каждый длиной в два гексамера или четыре тримера аллофикоцианина, и шесть боковых цилиндров с более коротковолновыми пигментами. Диски С-фикоцианина примыкают к ядру, а диски В-фикоэритрина расположены снаружи. Это вытекает из предыдущих иммунологических опытов, из схемы миграции энергии в фикобилисоме, а также из данных по уменьшению количества фикоэритрина в клетках с ростом интенсивности света, при котором содержание С-фикоцианина остается неизменным. Последнее можно объяснить лишь наружным положением В-фикоэритрина в боковых цилиндрах фикобилисомы.

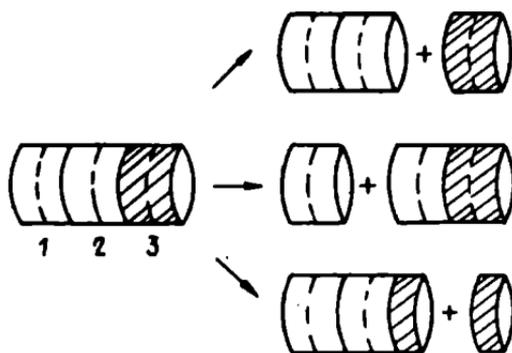


Рис. 10. Варианты диссоциации боковых цилиндров фикобилисом *Rhodella violacea*; 1 и 2 – диски-гексамеры В-фикоэритрина, 3 – гексамер С-фикоцианина (см. текст) [157]

Цилиндрические элементы, образованные состыкованными дисками фикоэритрина и фикоцианина, были найдены также в полудисковидных фикобилисомах цианобактерий *F. diploiphon* [230], *Nostoc* sp. [42, 281], *Pseudanabaena* 7409 [54], *Synechocystis* 6701 [102] и красной водоросли *P. sordidum* [174], а также в полуэллипсоидальных фикобилисомах красной водоросли *P. cruentum* [265]. Аналогичные диски фикоэритроцианина и С-фикоцианина найдены в боковых цилиндрах полудисковидных фикобилисом *M. laminosus* [210].

Локализация аллофикоцианина исключительно в ядре фикобилисомы подтверждена в ряде опытов. Так, при частичной диссоциации фикобилисом *M. laminosus* была получена стабильная фракция, состоящая только из ядер с коэффициентом седиментации 24S. Спектр поглощения этой фракции практически совпадал со спектром аллофикоцианина (см. [206]). Получены также мутантные фикобилисомы *A. nidulans* с укороченными боковыми цилиндрами и неизменным ядром. В мутантном штамме AN 112 прослежена полная пропорциональность между сокращением длины боковых цилиндров и уменьшением молярного соотношения между С-фикоцианином (цилиндры) и аллофикоцианином (ядро) с 4:1 до 1,4:1 [112]. Наконец, у цианобактерий *Synechocystis* 6701 (мутантный штамм UV16) [24] и *Synechocystis* PCC 6803 (мутанты PMB 10 и PMB 11) [62] функционально активные фикобилисомы полностью утратили боковые цилиндры и состояли только из тригональных ядер. Такие фикобилисомы содержат лишь аллофикоцианин.

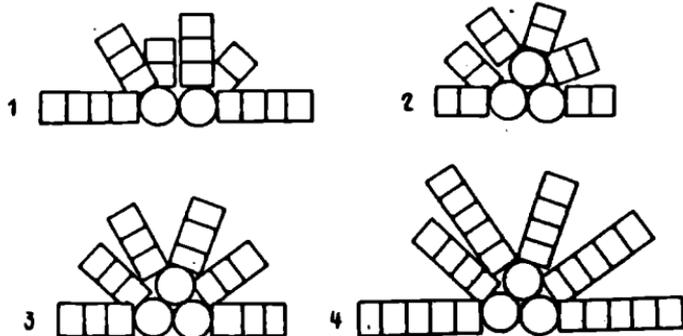


Рис. 11. Строение полудисковидных фикобилисом *Anacystis nidulans* (1), *Microcystis aeruginosa* (2), *Rhodella violacea* (3) *Tolypothrix tenuis* (4) (см. текст)

Принципиальная схема строения полудисковидных фикобилисом включает аллофиоксианиновое ядро и шесть боковых цилиндров. В зависимости от вида водорослей и условий выращивания длина цилиндров может заметно различаться. Так, следует отметить фикобилисомы *A. nidulans*, у которых ядро редуцировано до двух цилиндрических элементов, в то время как боковые цилиндры могут содержать от одного до семи гексамерных дисков [112]. Фикобилисомы цианобактерии *Microcystis aeruginosa* имеют в каждом боковом цилиндре по два диска, независимо от освещения [222]. В большинстве же известных случаев, как у *R. violacea*, боковые цилиндры состоят из трех дисков. У цианобактерий *F. diplosiphon* и *T. tenuis* длина боковых цилиндров достигает четырех-пяти дисков. У цианобактерий, относящихся к так называемой группе *Lyngbya - Plectonema-Phormidium*, боковые цилиндры фикобилисом состоят из шести дисков (Рис. 11).

### 1.5. Линкерные полипептиды фикобилисом

Белок-белковые взаимодействия в фикобилисомах значительно слабее, чем в других белковых ансамблях [150]. Хотя фикобилисомы, диссоциированные на фрагменты, способны к реассоциации [41, 42, 179], очищенные фикобилипротеины, смешанные в растворах в соответствующих пропорциях, самопроиз-

вольно не образуют фикобилисом. Следовательно, в клетке должны существовать определенные факторы, способствующие сборке белков-пигментов в фикобилисому. Кроме того, оставалось неясным, какие условия обеспечивают взаиморасположение фикобилипротеиновых дисков, за счет каких причин происходит присоединение боковых цилиндров к ядру и ядра фикобилисомы к мембране тилакоидов. Электрофоретическое исследование выделенных и тщательно очищенных фикобилисом показало, что наряду с фикобилипротеинами они содержат несколько различных минорных полипептидов [254], составляющих 10-15% от суммарного белка фикобилисом. В отличие от хорошо растворимых в воде фикобилипротеинов, они являются гидрофобными белками с основными свойствами [203].

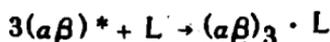
Дополнительные, минорные белки фикобилисом принято делить на четыре группы в зависимости от их молекулярных масс: 70-120, 25-35, 16-22 и 9-12 кД (Табл. 2). Возникло предположение, что эти полипептиды участвуют в сборке различных фикобилипротеинов в одну частицу - фикобилисому.

Сопоставление электрофореграмм фикобилисом трех видов цианобактерий (*Synechococcus* 6301, *Nostoc* sp. и *Synechocystis* 6701), из которых только первый вид не содержит С-фикоэритрина, показало, что у них наблюдается сходный ряд полипептидов. Однако фикобилисомы с С-фикоэритрином, имеющие более длинные боковые цилиндры, несут дополнительные минорные белки [115], что и служит одним из доказательств сделанного предположения. Большинство минорных белков не имеет хромофоров, поэтому их чаще всего называют "бесцветными" или "связующими" ("линкерными") полипептидами, однако ни одно из названий не отражает полностью их роли. Часть этих полипептидов, как выяснилось позже, несет хромофорные группы, а функции не ограничиваются только соединением, связыванием фикобилипротеинов в единую органеллу.

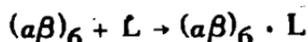
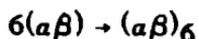
Оказалось, что минорные полипептиды, выполняют следующие функции: способствуют образованию гексамеров фикобилипротеинов - основных структурных элементов фикобилисомы; обеспечивают порядок, направленность сборки разных фикобилипротеинов в фикобилисому; соединяясь с агрегатами фикобилипротеинов, меняют их спектральные свойства, обеспечивая длинноволновые сдвиги максимумов поглощения; обеспечивают связь фикобилисом с тилакоидной мембраной; участвуют в образовании пигментных субкомплексов - конечных акцепторов, энергии в ядре фикобилисомы.

### 1.5.1. Связующая функция минорных полипептидов

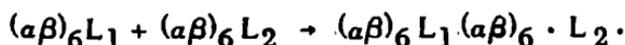
Минорные полипептиды принято обозначать буквой L, что подчеркивает их линкерную, т.е. связующую, роль. Линкерные белки после выделения удается ренатурировать, после чего возможны модельные эксперименты по взаимодействию с фикобилипротеинами [104, 277, 278]. При смешивании тех и других в растворах было выяснено, что линкеры стимулируют образование тримеров, а затем гексамеров фикобилипротеинов:



Фикобилипротеины легко объединяются в гексамеры и в отсутствие линкеров, поэтому в клетках последовательность реакций может быть и иной:



В любом случае стехиометрия реакций такова, что один линкерный белок приходится на один гексамер фикобилипротеинов. Затем формируются додекамеры и агрегаты большего размера:



Последняя реакция невозможна без линкеров: фикобилипротеины, очищенные от связующих белков, не образуют более крупных, агрегатов, чем гексамеры (см. [186]).

С учетом представления о линкерах проведено изучение формирования боковых цилиндров, у которых связующую роль выполняют полипептиды с молекулярной массой 27–35 кД. Найдена их наиболее вероятная локализация в боковых цилиндрах. Дело в том, что в составе В- и R-фикоэритринов есть так называемые  $\gamma$ -субъединицы с молекулярной массой 30–33 кД. Как и линкерные белки в цилиндрических элементах фикобилисом,  $\gamma$ -полипептиды находятся с  $(\alpha\beta)$ -субъединицами в соотношении 1:6. Отличие лишь в том, что  $\gamma$ -субъединицы окрашены за счет хромофоров и при переходе фикоэритринов в раствор сохраняют связь с  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептидами. Тример-

\* $\alpha$ - и  $\beta$ - полипептиды – это белковые субъединицы фикобилипротеинов

Таблица 2.

## Минорные полипептиды фикобилисом

<i>Synechococcus</i> 6301 [273, 274]	<i>Synechocystis</i> 6701 [269]	<i>Pseudanabaena</i> 7409 [54]	<i>Anabaena</i> <i>variabilis</i> [278]	<i>Porphyridium</i> <i>aeruginum</i> [263]	<i>Porphyridium</i> <i>cruentum</i> [223]
75 кД	99 кД	94 кД	120 кД	77 кД	95 кД
33 кД	33,5 кД	34,2 кД	32,5 кД	33,8 кД	38 кД
	31,5 кД	32,6 кД	30,5 кД		35,5 кД
	30,5 кД	31,3 кД	29,0 кД		32,5 кД
27 кД	27 кД	30,8 кД			31,5 кД
		27,4 кД	27 кД	25,5 кД	25,5 кД
18,3 кД АРС В	18,5 кД АРС В				24,0 кД
10,5 кД	10 кД	10 кД			

Сокращения: кД - килодальтоны; АРС В -  $\alpha$ -полипептид аллофикоцианина В

ные и гексамерные диски фикобилипротеинов имеют срединное отверстие размером 3 нм. Оценка показывает, что этого достаточно для размещения полипептида массой около 30 кД. Действительно, на электронных микрофотографиях агрегатов С-фиикоцианина срединное отверстие ясно различимо, в то время как у гексамеров В-фиикоэритрина оно заполнено электронно плотным материалом (см. [15, 186]). Кроме того, проведены электронномикроскопическое изучение агрегатов и рентгеноструктурное исследование кристаллов В-фиикоэритрина [18], и хотя разрешение в 5 Å оказалось недостаточным для окончательной локализации  $\gamma$ -субъединиц, центральное отверстие считается наиболее вероятным местом их "пребывания". Все это позволяет считать, что L-полипептиды располагаются в центральной полости  $(\alpha\beta)_6$ -гексамеров.

L-полипептид утоплен во внутреннее отверстие не полностью, поскольку его С-концевой участок размером 5,7 кД легко подвержен протеолизу [80, 277]. Выступая из гексамерного диска, он, вероятно, служит для связи этого диска с последующим аналогичным гексамером. Линкерные полипептиды могут быть уподоблены штифтам, соединяющим пыле диски в цилиндрические элементы фикобилисом (Рис. 12).

### 1.5.2. Последовательность самосборки элементов фикобилисом и спектральные сдвиги максимумов поглощения у фикобилипротеинов

Фикобилисомы содержат не один, а несколько различных полипептидов с молекулярной массой 30-35 кД (см. табл. 2). Это объясняется тем, что каждый диск в соответствии со своим положением в цилиндре соединен с определенным линкерным полипептидом. Линкеры соединяют диски-гексамеры в строгой последовательности, определяя порядок сборки.

С этим свойством связано и другое - батохромный сдвиг максимума поглощения гексамера под влиянием бесцветного линкерного белка. Так, из фикобилисом красной водоросли *Lyotrichium tene* получены две фракции R-фиикоцианина [262]. Одна из них содержала только чистый R-фиикоцианин, а вторая - еще и L-полипептид массой 30 кД. В первом случае максимум поглощения находился при 617 нм, а максимум флуоресценции - при 634 нм, тогда как во втором - максимумы претерпевали красный сдвиг и были расположены соответственно при 624 и 643 нм (Рис. 13). Аналогичный эффект наблюдался для С-фиикоцианина водоросли *M. laminosus* [238] и в ряде других случаев. Изменение спектра происходит, вероят-

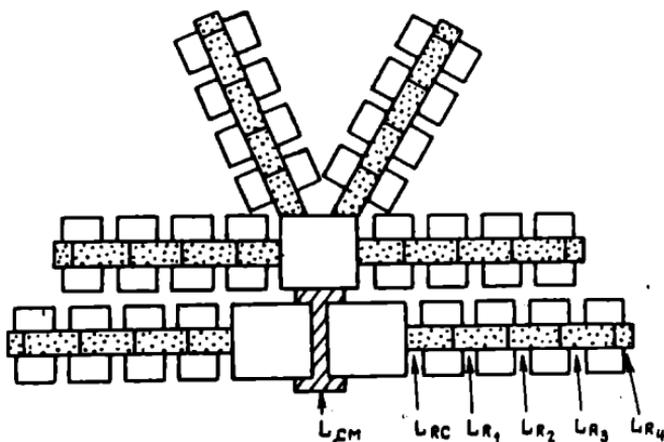


Рис. 12. Расположение линкерных полипептидов в боковых цилиндрах фикобилисом (представлено по [114] с изменениями)

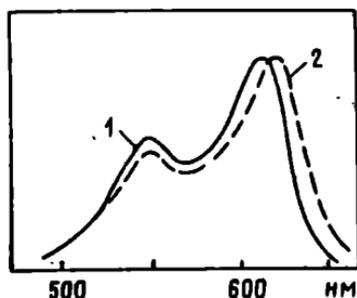


Рис. 13. Спектры поглощения R-фикоэритрина красной водоросли *Apotrichium tenue* в 0,05 М фосфатном буферном растворе, pH 7,0 до (1) и после (2) добавления линкерного полипептида [262]

нее всего, за счет взаимодействия линкерного полипептида с  $\beta$ -84 хромофорами фикобилипротеинов [237]. Этот хромофор, как следует из рентгеноструктурных данных, расположен наиболее близко к центральному каналу дисков, т.е. там, где находится и линкерный полипептид. Величина красного сдвига не превышает 5–20 нм, но каждый линкер обеспечивает свой дискретный сдвиг, отличный от смещения максимума, вызываемого другими связующими полипептидами. При этом диски, имеющие наиболее измененный спектр, располагаются в боковых цилиндрах ближе к центру фикобилисом, что обеспечивает направленный сток поглощаемой энергии от дистального края цилиндров к фикобилисомному ядру.

### 1.5.3. Обозначения линкерных полипептидов

Установлено, что в формировании дисков боковых цилиндров и дисков, составляющих ядро, а также в соединении фикобилисом с тилакоидной мембраной участвуют разные линкеры, поэтому обозначения линкеров были детализированы. Полипептиды, находящиеся в боковых цилиндрах, обозначают  $L_R$  (Rod-цилиндр), а расположенные в ядре  $L_C$  (Core - ядро). Для белков, связывающих ядро фикобилисомы с мембраной тилакоида, предложено обозначение  $L_{CM}$  (Core - ядро, Membrane- мембрана). Наконец, для тех из них, что участвуют в связи боковых цилиндров и ядра, используется индекс  $L_{CR}$ .

### 1.5.4. Связь боковых цилиндров и ядра фикобилисомы

Диски боковых цилиндров, непосредственно примыкающие к ядру фикобилисомы, связаны с линкерными полипептидами массой 25-29 кД. Таким образом, их молекулярная масса несколько меньше, чем у дистальных линкеров в цилиндрах. Наиболее вероятно, что они как и  $L_R$ -полипептиды, располагаются во внутренней полости соответствующих гексамерных дисков. Остается неясным, какие структуры ядра отвечают за взаимодействие, удерживающее боковые цилиндры фикобилисомы на поверхности ядра.

### 1.5.5. Полипептиды, завершающие рост цилиндров

Длина боковых цилиндров и особенно цилиндров ядра у полудисковидных фикобилисом выдерживается достаточно точно, что говорит о наличии факторов, ограничивающих их рост. Можно было бы предположить, что один из полипептидов  $L_R$  29-35, стыкующих гексамерные диски, выполняет также роль терминатора, или ограничителя роста, однако в ядре полипептиды с молекулярной массой 29-35 кД отсутствуют\*. Зато и в ядре, и в дистальной части фикобилисом находятся полипептиды массой 9-12 кД. Определить их точное число в боковых цилиндрах из-за низкого содержания довольно трудно, но ясно, по крайней мере, что оно меньше, чем один полипептид на гек-

\* Цифровой индекс при обозначении  $L$ -полипептида указывает его молекулярную массу

самерный диск. Вероятно, один полипептид этого класса приходится на один боковой цилиндр. В ядре число полипептидов с массой 9–12 кД известно точно: на каждый из трех цилиндров приходится по два таких белка. Есть основания полагать, что  $L^{9-12}$  являются полипептидами-ограничителями длины цилиндров. Получен мутант цианобактерии *Synechococcus* PCC 7002, в фикобилисомах которого боковые цилиндры не содержат  $L^9$  – белка. У мутанта возрастает гетерогенность фикобилисом: меняется число боковых цилиндров и число дисков в них [178]. Наиболее простым и привлекательным объяснением этого можно считать описываемую выше роль  $L^{9-12}$ -белков как ограничителей роста.

### 1.5.6. Минорные полипептиды, несущие хромофоры

Известно три минорных белка фикобилисом, несущих, наподобие фикобилипротеинов, хромофорные группы. Все три входят в состав ядра фикобилисома в количестве не более нескольких молекул. Это полипептид с молекулярной массой 16–19 кД, не имеющий собственного обозначения, еще один полипептид, по молекулярной массе близкий к первому и обозначаемый как  $\alpha$ APB ( $\alpha$  – полипептид аллофиоксианина В), и  $L_{CM}$  – белок с массой 75–120 кД. Каждый несет только по одному хромофору, во всех случаях представленному фикоцианобилином. Для выявления минорных полипептидов, имеющих хромофоры, предложено использовать ионы цинка, существенно усиливающие флуоресценцию денатурированных фикобилипротеинов. В частности, этим методом показано, что установить наличие хромофора у  $L_{CM}$  из *M. aeruginosa* можно по флуоресценции в полиакриламидном геле [221].

По данным о первичной структуре [251], у  $\alpha$ APB и белка массой 16–19 кД хромофор связан с цистеиновым остатком в 84-й позиции, подобно тому как это наблюдается в аминокислотной последовательности  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей фикобилипротеинов. У  $L_{CM}$  – белка фикобилиновый хромофор связан с остатком цистеина в позиции 195, которая соответствует положению 84 с учетом значительно большей молекулярной массы  $L_{CM}$  [139]. В растворе эти три полипептида имеют более длинноволновые максимумы поглощения и флуоресценции, чем у  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептидов С-фикоцианина и аллофиоксианина. В частности, для  $\alpha$ APB из *M. lamosus* эти максимумы равны

соответственно 645 и 672 нм вместо 615 и 642 нм у  $\alpha$ -полипептида аллофикоцианина [185]. На основе анализа первичной структуры  $\alpha$ APB сделано предположение, что остатки триптофана в позициях 60 и 90, не встречающиеся в  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепях фикобилипротеинов, должны взаимодействовать с хромофором, продуцируя красный сдвиг [251]. В составе ядра фикобилисомы перечисленные полипептиды образуют субкомплексы с аллофикоцианином с максимумами поглощения в области 660–680 нм, т.е. наиболее длинноволновыми из всех известных для фикобилипротеинов.

### 1.5.7. Якорный L<sub>CM</sub> –полипептид фикобилисом

Большие полипептиды L<sub>CM</sub> с молекулярной массой 75 – 120 кД служат обязательным компонентом всех фикобилисом. При диссоциации последних на фрагменты эти крупные белки всегда оказываются во фракции, содержащей аллофикоцианин. Так как, судя по спектральным характеристикам, аллофикоцианин способен к передаче поглощенной энергии хлорофиллу, возникло предположение, что полипептиды массой 70–120 кД необходимы для связывания фикобилисомы и тилакоидной мембраны. Действительно, при протеолитическом бездетергентном способе получения фикобилисом происходит расщепление трипсином именно полипептидов с молекулярной массой 75 – 120 кД [133]. При этом фикобилисомы отделяются от мембраны. Если тилакоидные мембраны отмывать от фикобилисом буферным раствором низкой ионной силы, то постепенно можно удалить все фикобилипротеины; долее всего сохраняет связь с мембраной L<sub>CM</sub> –полипептид [232]. В связи с этим L<sub>CM</sub> –полипептид назван "якорным" белком [223, 232], закрепляющим фикобилисому на мембране тилакоида. В контакте с мембраной участвует лишь небольшая часть белка, так как при протеолитической обработке разобщение фикобилисом и мембран происходит после утраты полипептидных фрагментов L<sub>CM</sub>, не превышающих 14 кД. Этот небольшой белковый домен можно рассматривать как интегральную часть тилакоида, а остальную, большую часть L<sub>CM</sub>, – как принадлежащую непосредственно ядру фикобилисомы [133, 207, 232]. Со стороны мембраны в контакте с L<sub>CM</sub> участвуют белки сходной молекулярной массы. Так, у *Nostoc sp.* и *P. cruentum* получены L<sub>CM</sub><sup>94</sup> – полипептиды из фикобилисом и полипептиды массой 92 кД из

отмытых от фикобилисом тилакоидных мембран [95, 196, 197]. Несмотря на отличия в аминокислотном составе, последние преципитируют с антителами к  $L_{CM}^{94}$ , поэтому высказано мнение, что оба белка — один со стороны фикобилисомы, другой со стороны мембраны — образуют комплекс, обеспечивающий прикрепление фикобилисомы.

С ролью якорного белка идеально сочетается уже рассмотренная функция длинноволнового акцептора энергии в фикобилисоме. Третья функция  $L_{CM}$  — это обеспечение контактов цилиндров аллофиоксианина, которые составляют ядро фикобилисомы. Так, у *A. variabilis* ядро было отделено от боковых цилиндров фикобилисом, а затем диссоциировано на фрагменты. При смешивании фрагментов в растворе с повышением ионной силы происходила их самосборка, но при добавлении антител к  $L_{CM}$  или после предварительного его частичного расщепления трипсином она оказывалась невозможной [146]. Прослежено также, что большему числу цилиндров аллофиоксианина, образующих ядро фикобилисомы, соответствует и большая молекулярная масса  $L_{CM}$ -белка. Так, у *A. nidulans*, число таких цилиндров минимально и равно, как отмечалось, двум, а масса  $L_{CM}$ -полипептида — 75 кДа [113]. Для большинства полудисковидных фикобилисом с трехцилиндровым ядром масса  $L_{CM}$ -полипептида близка к 90 кД. Наконец, фикобилисомы цианобактерии *A. variabilis* содержат пять цилиндров аллофиоксианина (см. далее), а масса  $L_{CM}$  составляет 115 кД [146, 230]. Эта закономерность указывает на вероятную связь  $L_{CM}$  с каждым из цилиндров ядра в фикобилисоме.

Хотя масса  $L_{CM}$  относительно велика, обычно он составляет лишь 1–2% от суммарного белка фикобилисом, так как каждая фикобилисома содержит только две молекулы этого полипептида.

### 1.5.8. Первичная структура линкерных полипептидов

На сегодня известна первичная структура  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептидов аллофиоксианина, С-фиоксианина, фикоэритроцианина и С-фикоэритрина. Установлена гомология полипептидных цепей всех исследованных фикобилипротеинов. Эти данные в немалой степени помогли установлению аминокислотных последовательностей в линкерных полипептидах. Первичная структура декодирована напрямую или на основе секвенирования генов у многих из них. Полнее всего изучены линкеры у циано-

бактерии *M. laminosus*: установлена первичная структура окрашенного линкерного белка массой 16,2 кД,  $L_R^{8,9}, L_C^{8,9}$ ,  $\alpha$ АРВ – полипептидов и линкерных белков, связанных с боковыми цилиндрами [75–80, 231, 251].

Наиболее интересны данные о полной первичной структуре  $L_{CM}$ -полипептида из *F. diplosiphon* [139]. Белок состоит из 1080 аминокислотных остатков. Его N-концевой участок высокогомологичен N-концевым последовательностям в  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептидах фикобилипротеинов. Остальная часть белковой молекулы состоит из четырех повторяющихся доменов, гомологичных концевым участкам линкерных полипептидов  $L_R^{30-35}$ , связывающих в фикобилисомах гексамерные диски C-фикоцианина. Для  $L_R$ -полипептидов установлено, что их N-концевые участки гомологичны  $\beta$ -полипептидам C-фикоцианина и фикоэритроцианина, а C-концы обладают большей гомологией с  $\alpha$ -субъединицами фикобилипротеинов. Очевидно, семейство линкерных полипептидов возникло благодаря комбинации генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц [176, 219], а по своему происхождению все белки фикобилисом представляют собой одно семейство с общим родоначальным геном [216] (Рис. 15).

#### 1.6. Гены фикобилипротеинов и линкерных полипептидов

Проведено клонирование и секвенирование большинства генов, кодирующих фикобилипротеины и линкерные белки фикобилисом [21, 22, 23, 27, 38, 39, 40, 50, 51, 52, 53, 57, 68, 118, 119, 124, 125, 137, 138, 140, 147, 148, 149, 163, 164, 167, 173, 175–178, 189, 219, 255]. Цианобактерии как прокариоты выгодно отличаются от других оксигенных фотосинтетиков легкостью генетических манипуляций [16, 34]. Геном цианобактерий в сотни раз меньше, чем у высших растений и эукариотных водорослей, а среди самих цианобактерий есть виды, например рода *Synechococcus*, в которых геном еще в несколько раз меньше, чем у остальных представителей этой группы, и сравним по размерам с геномом *Escherichia coli* [34]. Цианобактерии могут быть относительно легко генетически трансформированы добавкой экзогенной ДНК или могут служить реципиентами плазмидной ДНК, взятой от *E. coli*. Для клонирования можно использовать специфичные олигонуклеотиды, синтезированные по данным об известной первичной структуре фикобилипротеинов, прежде всего C-фикоцианина. Геном цианеллы из *Cyanophora paradoxa* еще меньше, чем у сине-зеле-

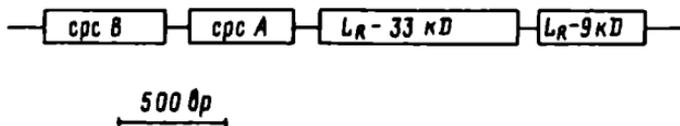


Рис. 14. Фрагмент генетической карты цианобактерии *Synechococcus* 7002, включающий гены С-фикоцианина и линкерных полипептидов [177, 178]

ных водорослей. *S. paradoxa* оказалась первым организмом, у которого были получены гены С-фикоцианина [176]. Последовавшее затем секвирование генов фикобилипротейнов у цианобактерий *Synechococcus* 6301 (*A. nidulans*), *Synechococcus* 7002, *F. diplosiphon*, *M. laminosus*, *Calothrix* sp. и *Al. variabilis* позволило установить их общие характеристики (см. [123]). Гены  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц любого фикобилипротеина располагаются на генетической карте последовательно друг за другом и транскрибируются совместно, поэтому  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептиды находятся в фикобилисомах в соотношении 1:1. мРНК этих полипептидов преобладает в клетке. Гены, кодирующие  $\beta$ -полипептиды С-фикоцианина (cpc B), С-фикоэритрина (cpe B) и фикоэритроцианина (pec B), предшествуют генам  $\alpha$ -полипептидов (cpc A, cpe A и pec A), в то время как для двух полипептидов аллофикоцианина порядок является обратным.

У цианобактерий гены линкерных белков образуют кластеры с генами собственно фикобилипротейнов и транскрибируются совместно с ними [27, 175]. У эукариотов (красные водоросли и клетки-хозяева цианелл) линкеры кодируются ядерным геномом, а  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептиды — хлоропластным, что создает условия для ядерного контроля за сборкой фикобилисом [26, 60]. Гены белков фикобилисом образуют достаточно крупные кластеры. Например, у *F. diplosiphon* гены аллофикоцианина, фикоцианина и ряда линкерных белков содержатся в геномном фрагменте размером 15 килобаз (15 000 пар оснований) [52]. Гены линкерных белков, входящие в состав ядра фикобилисом, находятся рядом с генами, кодирующими полипептиды аллофикоцианина [137, 140]. Ген, кодирующий L<sub>R</sub><sup>33</sup>-полипептид, функцией которого является связывание в гексамер  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептидов С-фикоцианина, находится на генетической карте непосредственно рядом с геном  $\alpha$ -субъединицы этого фикобилипротеина [177]. Сразу вслед за ним расположен ген линкера, который ограничивает рост боковых цилиндров (Рис. 14) [178].

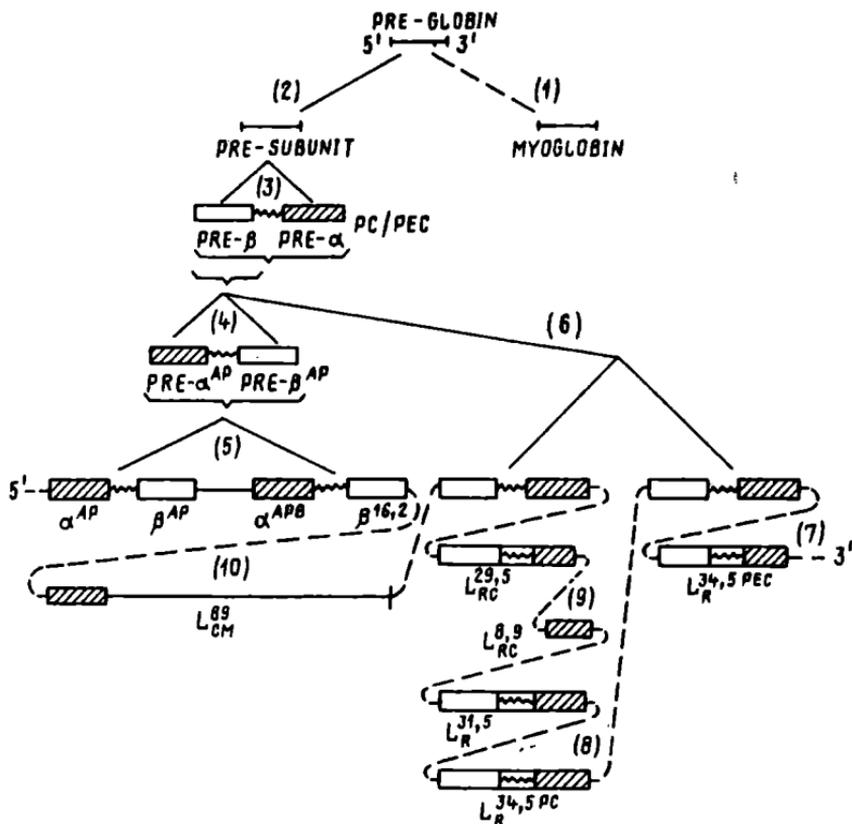


Рис. 15. Вероятная схема эволюционных взаимосвязей генов, кодирующих полипептиды фикобилинсом *M. laminosus*. Каждый ген изображен в виде прямоугольника. Гены  $\alpha$ -субъединиц заштрихованы, гены  $\beta$ -полипептидов представлены светлыми прямоугольниками. Волнистыми линиями обозначены короткие последовательности нуклеотидов между  $\alpha$ -и  $\beta$ -генами [78]. См. также текст

У *F. diplovirphon* найдено три пары *src A* и *src B* генов, кодирующих С-фикоцианин (см. [123]). Первая пара транскрибируется независимо от условий выращивания водорослей, вторая — только на красном свете, преимущественно поглощаемом С-фикоцианином. Третий оперон (гены *src A3* и *src B3*) транскрибируется в условиях дефицита серы [190], когда единственными серусодержащими аминокислотами в фикобилипротейнах являются остатки цистеина, ковалентно связанные с хромофорами. Первые два блока генов находятся на генетичес-

кой карте очень близко друг от друга, на расстоянии, не превышающем трех килобаз, третья же пара срс-генов расположена отдельно. Дупликация генов С-фикоцианина установлена также у *Synechococcus* 6301 и *Synechococcus* 7492, хотя остается неясным, в зависимости от каких условий транскрибируется та или иная генная пара [149].

Набор генов, кодирующих белки фикобилисом и регулирующих их биосинтез, значительно шире уже известного. Например, у *Synechococcus* 7002 вместе с генами линкерных полипептидов найдены два гена, не кодирующие каких-либо белков в фикобилисоме. Предполагается, что они отвечают за включение хромофора в  $\alpha$ -полипептид С-фикоцианина, так как при их инактивации с помощью направленного мутагенеза  $\alpha$ -полипептид утрачивает хромофорную группу, хотя по-прежнему включается в боковые цилиндры фикобилисомы [38].

Наиболее подробно исследованы гены цианобактерии *F. diplosiphon* (Таблица 3). Как и в ряде других случаев [27] опероны генов фикобилипротеинов у *F. diplosiphon* связаны с несколькими транскриптами. Уровень транскрипции, вероятно, регулируется световыми условиями.

### 1.7. Фикобилисомы цианобактерии *Synechococcus* 6301 (*Anacystis nidulans*)

Фикобилисомы *Synechococcus* 6301 были подвергнуты интенсивному изучению [113, 180-185, 271-275]. Они содержат С-фикоцианин и аплофикоцианин и относятся к полудисковидным. На микрофотографиях ясно различимы ядро и примыкающие к нему в виде веера боковые цилиндры (Рис. 16). У всех исследованных полудисковидных фикобилисом ядро имеет три цилиндра, тогда как фикобилисомы *Synechococcus* 6301 устроены проще: их ядро состоит лишь из двух примыкающих друг к другу цилиндрических элементов. Простота строения, как указывает Глазер [112], относительна, так как каждый из двух цилиндров собран из многих "деталей", которыми служат полипептиды фикобилисомы.

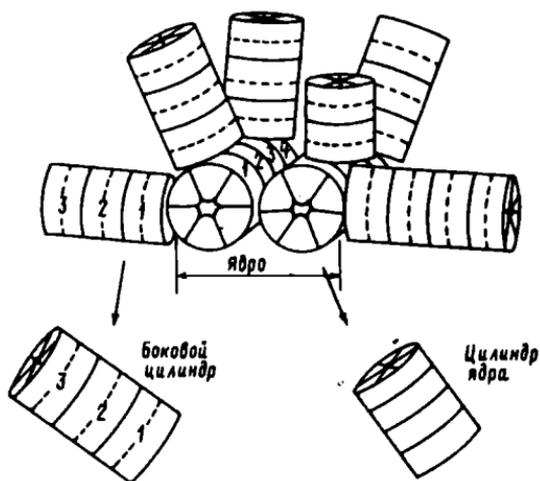
#### 1.7.1. Строение боковых цилиндров

Шесть боковых цилиндров образованы состыкованными "шайбами", или дисками диаметром 12 и толщиной 6 нм, число ко-

Гены, кодирующие полипептиды цианобактерии *F. diplosiphon*  
 Данные суммированы в работе [123]

Полипептиды	Гены	Возможные транскрипты
С-фикоэритрин и ассоциированные с ним полипептиды		
$\beta\alpha^{PE}$	срс BA	1,4 т.п.о. срс BA
$L_R^{355}$	срс C	2,1 т.п.о. срс CD
$L_R^{35}$	срс D	3,2 т.п.о. срс CD
С-фикоцианин* и ассоциированные с ним полипептиды		
$\beta\alpha^{PCc}$	срс B1A1	1,5 т.п.о. срс B1A1
$\beta\alpha^{PCi}$	срс B2A2	1,6 т.п.о. срс B2A2
$L_R^{375}$	срс H2	3,7 т.п.о. срс B2A2H2J2D2
$L_R^{39}$	срс J2	
$L_R^{9,7}$	срс D2	
$\beta\alpha^{PCs}$	срс B3A3	2,0 т.п.о. срс B3A3
$L^{PCi}$	срс H3	3,3 т.п.о. срс B3A3H3
	срс J3	5,0 т.п.о. срс B3A3H3J3D3
	срс D3	
аллофикоцианин и ассоциированные с ним полипептиды		
$\alpha\beta^{AP}$	арс A1B1	1,4 т.п.о. арс AB
$L_C^{7,8}$	арс C	0,4 т.п.о. арс C
$L_{CM}^{92}$	арс E	3,0 т.п.о. арс E
		1,8 т.п.о. арс ABC
		6,0 т.п.о. арс EABC
$\alpha^{APB}$	арс D	

\*Примечание. С-фикоцианин имеет три пары генов. Гены для  $PC_c$  транскрибируются независимо от условий, гены для  $PC_i$  - только на красном свете и гены для  $PC_s$  - в условиях дефицита серы



$$1) (\alpha\beta)_6^{PC} \cdot L_{ЯС}^{27}$$

$$2) (\alpha\beta)_6^{PC} \cdot L_{Я}^{33}$$

$$3) (\alpha\beta)_6^{PC} \cdot L_{Я}^{30}$$

$$1) (\alpha\beta)_3^{AP}$$

$$2) (\alpha\beta)_3^{AP} \cdot L_C^{10,5}$$

$$3) (\alpha\beta)_2^{AP} \cdot \beta^{18,3} \cdot L_{CM}^{76}$$

$$4) \alpha_2^{AP} \cdot \beta_3^{AP} \cdot \alpha^{APB} \cdot L_C^{10,5}$$

Рис. 16. Строение фикобилисом *Synechococcus* 6301 [112]

торых в каждом цилиндре может варьировать от одного до семи, что зависит от условий выращивания культуры *Synechococcus* 6301. Частичной диссоциацией фикобилисом боковые цилиндры были отделены от ядра. Анализ полипептидного состава этой фракции показал, что, кроме С-фикоцианина, она содержит четыре бесцветных связующих полипептида с массой 33, 30, 27 и 12 кД [184, 272]. Последний, вероятнее всего, это терминирующий белок, ограничивающий длину цилиндров. В фикобилисомах, боковые цилиндры которых состоят в среднем из трех дисков, на каждый цилиндр приходится по одному полипептиду с массой 33, 30 и 27 кД, поэтому можно предполагать, что каждый из дисков-гексамеров С-фикоцианина соединен с одним из этих бесцветных полипептидов. Распределение полипептидов по дискам было выяснено следующими способами: измерением размеров фикобилисом в условиях азотного голодания или в других условиях культивирования клеток; анализом неполных фикобилисом у мутантных клеток; реконструк-

цией—сборкой боковых цилиндров из связующих полипептидов и молекул С—фикоцианина *in vitro*.

При дефиците связанного азота в среде культивирования содержание фикобилипротеинов в клетках падает [20,164]. При этом уменьшается коэффициент седиментации выделяемых фикобилисом, т.е. уменьшаются их размеры. Содержание С—фикоцианина снижается на 30%, а соотношение аллофикоцианин /С—фикоцианин в клетке растет. Кроме того, максимум флуоресценции фикобилисом сдвигается от 673 до 676 нм. Все это свидетельствует об избирательном уменьшении содержания С—фикоцианина. Одновременно из фикобилисом исчезает бесцветный полипептид с массой 30 кД, что говорит о вероятной связи его с наружными дисками—гексамерами боковых цилиндров, так как уменьшение размеров фикобилисом можно объяснить только исчезновением наружных дисков [271].

Противоположный эффект — увеличение количества С—фикоцианина — можно получить повышением температуры культивирования, увеличением содержания CO<sub>2</sub> в среде или уменьшением интенсивности света [61, 116, 214]. В этих условиях происходит удлинение боковых цилиндров и подъем молярного соотношения С—фикоцианин/аллофикоцианин в два раза. Пропорционально увеличивается и количество полипептидов с массой 30 и 33 кД, а содержание полипептида с массой 27 кД не меняется. Следовательно, наращивание длины цилиндров происходит благодаря взаимодействию дисков—гексамеров С—фикоцианина и полипептидов с массой 30 и 33 кД [278].

При воздействии на клетки нитрозогуанидином получены два мутанта *Synechococcus* 6301 с пониженным содержанием С—фикоцианина. Один из них, обозначенный как AN 135, содержит 50% С—фикоцианина, второй (AN 112) — лишь 35%, по сравнению с диким штаммом [272, 274]. Содержание аллофикоцианина у мутантов остается неизменным. Фикобилисомы *Synechococcus* AN 112 имеют боковые цилиндры размером только в один диск. Эта минимальная длина цилиндров не меняется в зависимости от условий выращивания. Кроме того, у мутанта AN 112 отсутствуют два связующих полипептида с массой 33 и 30 кД. В фикобилисомах *Synechococcus* AN135 содержание первого полипептида снижено, а второй регистрируется только в условиях, стимулирующих образование С—фикоцианина. В нормальных условиях культивирования боковые цилиндры фикобилисом AN135 имеют длину преимущественно в один—два диска. Сопоставление структуры боковых цилиндров и полипептидного состава фикобилисом двух мутантов и дикого штамма,

исследованного в разных условиях выращивания, показывает, что полипептид с массой 33 кД связан со вторым (считая от ядра к периферии) диском-гексамером С-фикоцианина, а полипептид с массой 30 кД - с более отдаленными дисками, начиная с третьего [272].

Для проведения опытов по самосборке боковых цилиндров предварительно были получены С-фикоцианин из *Synechococcus* 6301 и очищенные полипептиды с массами 33, 30 и 27 кД [181, 184]. Затем в растворах С-фикоцианин в разных сочетаниях смешивался с бесцветными связующими полипептидами. Концентрация солей в растворе ступенчато повышалась до 0,6 М, когда фикобилисомы устойчивы. В этих условиях происходила агрегация С-фикоцианина. Как оказалось, полипептиды с массами 30 и 33 кД способствуют самосборке С-фикоцианина в диски-гексамеры и далее в цилиндры, состоящие из нескольких дисков. Микроструктурные характеристики таких цилиндров совпадают с имеющимися у интактных фикобилисом. Полипептид 27 кД образует с С-фикоцианином только отдельные диски, далее не объединяющиеся в цилиндры. Более того, диски, образующиеся в присутствии полипептидов с массами 30 и 33 кД при давлении полипептида с массой 27 кД становятся в среднем короче, чем в его отсутствие. Соединяясь с С-фикоцианином, этот полипептид, очевидно, прекращает рост цилиндров. Из предыдущих данных следовало, что в фикобилисоне полипептид массой 27 кД не обнаруживается в наружных дисках цилиндров, поэтому ограничение роста, им вызываемое, должно происходить со стороны диска-гексамера, примыкающего к фикобилисомному ядру. Вероятно, что этот полипептид необходим для связывания боковых цилиндров с ядром фикобилисомы.

По совокупности данных можно утверждать, что боковые цилиндры фикобилисом *Synechococcus* 6301 организованы следующим образом. Диск-гексамер, примыкающий к ядру, связан с бесцветным полипептидом массой 27 кД. Второй диск соединяется с первым благодаря белку массой 33 кД, а третий и, возможно, все последующие (вплоть до 7-го), если они есть в цилиндрах, соединяются между собой и со вторым диском с помощью полипептидов массой 30 кД. Такой порядок сцепления дисков подтверждается спектральными данными [184]. Спектры флуоресценции гексамеров С-фикоцианина, связанных с разными полипептидами, сдвинуты в длинноволновую сторону относительно друг друга и относительно

спектра гексамеров чистого С-фикоцианина на 1-3 нм. Максимум спектра флуоресценции комплекса  $(\alpha\beta)_6 \cdot L_{CR}^{27}$ , где  $(\alpha\beta)_6$  - гексамер С-фикоцианина, находится при 643 нм,  $(\alpha\beta)_6 \cdot L_R^{33}$  флуоресцирует при 647 нм, а  $(\alpha\beta)_6 \cdot L_R^{30}$  - при 653 нм. Квантовый выход флуоресценции гексамеров, связанных с бесцветными полипептидами, выше, чем у растворов чистого С-фикоцианина. Хотя количественного расчета не проводилось, совершенно очевидно, что в соответствии с Ферстеровским механизмом миграции энергии наличие спектральных сдвигов создает направленный сток энергии по дискам боковых цилиндров к ядру фикобилисомы:  $(\alpha\beta)_6 \cdot L_R^{30} \rightarrow (\alpha\beta)_6 \cdot L_R^{33} \rightarrow (\alpha\beta)_6 \cdot L_{CR}^{27}$ .

### 1. 7.2. Строение ядра фикобилисомы

Размеры ядра меньше, чем боковых цилиндров, но его строение заметно сложнее. Получение мутанта AN 112 с укороченными до размеров одного диска С-фикоцианина боковыми цилиндрами упростило изучение структуры ядра.

Длина каждого из двух цилиндров ядра соответствует четырем состыкованным тримерам аллофикоцианина  $(\alpha\beta)_3$ . Кроме аллофикоцианина, ядро фикобилисомы содержит три связующих полипептида с массами 75, 27, 18,3 кД и  $\alpha$ -субъединицу аллофикоцианина В [180, 185]. Белок массой 27 кД, общий для ядра и боковых цилиндров, соединяет, как отмечалось, ядро и первые диски-гексамеры боковых цилиндров. Распределение остальных полипептидов в ядре установлено благодаря анализу фрагментов, получаемых при частичной диссоциации фикобилисом AN 112 на три фракции, обозначенные по их коэффициентам седиментации как 18 S, , 11 S и 6 S. В 18 S-фракции наряду с С-фикоцианином и аллофикоцианином содержатся полипептиды с массами 75, 27 и 18,3 кД, тогда как  $\alpha$ -субъединица аллофикоцианина В отсутствует. По молекулярной массе (550 кД) и присутствию шести  $(\alpha\beta)$ -мономеров аллофикоцианина можно судить, что ядро должно содержать две 18 S-субчастицы. С-фикоцианин и аллофикоцианин устойчивы к трипсину, но связующие полипептиды легко им расщепляются. При ограниченном протеоллизе 18 S-частицы полностью теряют С-фикоцианин в раствор и разделяются на два субкомплекса - тример аллофикоцианина  $(\alpha\beta)_3$  и его димер  $(\alpha\beta)_2$ , который связан с тремя полипептидами (18,3, 40 и 11 кД). Установлено, что два последних-продукты протеолиза белка с массой 75 кД.

Этот полипептид относится к белкам, соединяющим ядро фикобилисомы с мембраной тилакоидов, и несет одну хромофорную группу фикоцианобилина. Полипептид с массой 18,3 кД по своим размерам и изоэлектрической точке сходен с  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицами фикобилипротеинов и также содержит одну хромофорную группу фикоцианобилина [182]. По первичной структуре N-концевого фрагмента этот полипептид сходен с  $\beta$ -субъединицей аллофикоцианина. Зачем необходим в ядре фикобилисомы отдельный полипептид, по всем параметрам очень близкий к субъединицам фикобилипротеинов, остается неясным. Предполагается [111, 112], что его присутствие требуется для контактного взаимодействия "большого" полипептида (75 кД) с ядром фикобилисомы. Таким образом, комплекс аллофикоцианиновой фракции 18S имеет такую структуру:  $(\alpha\beta)_2 \cdot 18,3 \text{ K} \cdot 75 \text{ K}$ . В растворе этот субкомплекс флуоресцирует при 680 нм.

6S-фракция содержит аллофикоцианин, полипептид с массой 10,5 кД и  $\alpha$ -субъединицу аллофикоцианина В. Методом хроматографии 6S-фракция была разделена на два субкомплекса:  $(\alpha\beta)_3 \text{ AP} \cdot 10,5 \text{ K}$  и  $(\alpha_2 \text{ AP} \cdot \beta_3 \text{ AP} \cdot \alpha_1 \text{ APB}) \cdot 10,5 \text{ K}$  [182]. Один и тот же полипептид (10,5 кД) находится в обоих субкомплексах.

Субкомплекс  $(\alpha\beta)_3 \text{ AP} \cdot 10,5 \text{ K}$  отличается от простого тримера  $(\alpha\beta)_3 \text{ AP}$  длинноволновым сдвигом максимумов поглощения (от 650 до 652,5 нм) и флуоресценции (от 660 до 662 нм).

Как оказалось,  $\beta$ -субъединица аллофикоцианина В идентична  $\beta$ -полипептиду аллофикоцианина. Аллофикоцианин В, получаемый в растворе в виде тримеров  $(\alpha\beta)_3$  [108], в реальных фикобилисомах не существует. В отсутствие полипептида с массой 10,5 кД смешивание в растворе тримеров  $(\alpha\beta)_3 \text{ AP}$  и  $(\alpha \text{ APB } \beta \text{ AP})_3$  приводит к статистическому распределению разных сочетаний тримеров- $(\alpha\beta)_3 \text{ AP}$ ,  $(\alpha_2 \text{ APB} \cdot \alpha \text{ AP} \cdot \beta_3 \text{ AP})$  и т.д. [180], поэтому одна из функций этого полипептида состоит в том, чтобы препятствовать появлению таких тримеров, сохраняя архитектуру ядра фикобилисомы.

Фракция 11S, как показал ее анализ, состоит из  $(\alpha\beta)_6 \cdot \text{L}_{\text{CR}}^{27}$  - гексамеров С - фикоцианина с небольшой добавкой субкомплексов  $(\alpha\beta)_3 \text{ AP} \cdot 10,5 \text{ K}$  и  $(\alpha_2 \text{ AP} \cdot \beta_3 \text{ AP} \cdot \alpha_1 \text{ APB}) \cdot 10,5 \text{ K}$ .

Итак, в ядре фикобилисомы находятся четыре субкомплекса:  $(\alpha\beta)_3 \text{ AP}$ ;  $(\alpha_2 \text{ AP} \cdot \beta_2 \text{ AP}) \cdot 18,3 \text{ K} \cdot 75 \text{ K}$ ;  $(\alpha\beta)_3 \text{ AP} \cdot 10,5 \text{ K}$  и  $(\alpha_2 \text{ AP} \cdot \beta_3 \text{ AP} \cdot \alpha_1 \text{ APB}) \cdot 10,5 \text{ K}$ . Сумма молекулярных масс

субкомплексов равна массе одного цилиндра ядра. Полипептидный состав субкомплексов при их соотношении 1:1:1:1 совпадает с таковым ядерной фракции фикобилисомы, суммируются и совпадают также их спектры поглощения, поэтому сделан вывод, что в составе каждого из двух цилиндров ядра комплексы находятся в соотношении 1:1:1:1 [112].

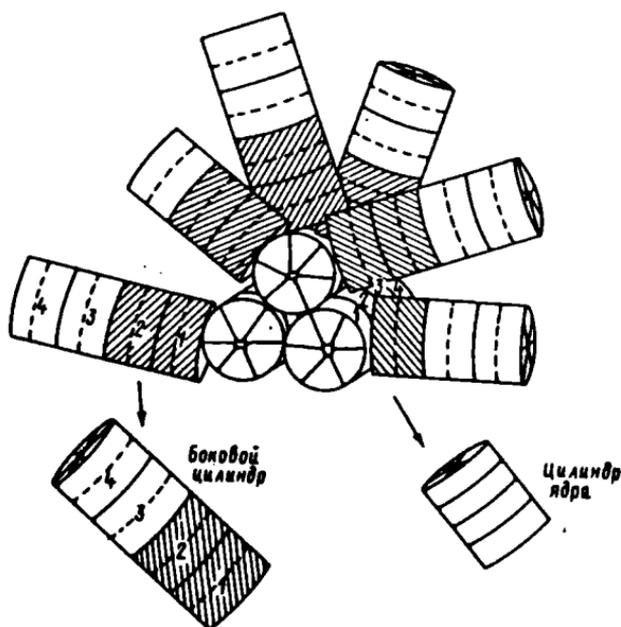
### 1.8. Строение фикобилисом цианобактерии *Synechocystis 6701*

Фикобилисомы *Synechocystis 6701* принадлежат к типу полудисковидных. Их структура установлена теми же методами, которые использованы для анализа фикобилисом *Synechococcus 6301*. Были исследованы фрагменты, получаемые частичной диссоциацией органелл [103], и мутантные фикобилисомы с измененным пигментным составом [36, 102, 269]; рассмотрены также результаты самосборки фикобилисом из фикобилипротеинов [103]. Кроме того, использован методический прием, который невозможен по отношению к *Synechococcus 6301*: исследованы изменения фикобилисом, происходящие при хроматографической адаптации (см. главу 3) [36, 103, 269]. (Фикобилисомы *Synechococcus 6301* способностью к адаптации не обладают).

Шесть боковых цилиндров фикобилисомы содержат С-фикоэритрин и С-фикоцианин. Каждый цилиндр составлен из трех-четырёх дисков-гексамеров этих фикобилипротеинов. В растворе получены два типа гексамеров С-фикоэритрина, соединенных с линкерными полипептидами 30,5 и 31,5 кД, и два гексамера С-фикоцианина:  $(\alpha\beta)_6^{PC} \cdot 33,5 K$  и  $(\alpha\beta)_6^{PC} \cdot 27 K$ . У клеток на красном свете подавляется синтез С-фикоэритрина, при этом в фикобилисомах исчезают линкеры 30,5 и 31,5 кД и длина боковых цилиндров сокращается до размеров двух или трех дисков [36, 269]. В мутантном штамме *Synechocystis 6701* CM 25, не синтезирующем С-фикоэритрина, боковые цилиндры укорочены и не содержат тех же двух полипептидов. Из двух комплексов С-фикоэритрина,  $(\alpha\beta)_6^{PE} \cdot 30,5 K$  и  $(\alpha\beta)_6^{PE} \cdot 31,5 K$ , добавленных порознь к фикобилисомам мутанта CM25, помещенным в 0,65 М фосфатный буферный раствор, только последний присоединяется к боковым цилиндрам. Добавленные вместе, они присоединяются к фикобилисомам, восстанавливая нормальную длину цилиндров. Ряд других мутантов с пониженным содержанием С-фикоэритрина также не

имеет полипептида с массой 30,5 кД. Другой возможный вариант – отсутствие только второго полипептида – в мутантах не наблюдается. Это говорит об отсутствии взаимозаменяемости связующих полипептидов; каждый из них локализован в строго определенном месте боковых цилиндров и, очевидно, пинкер 30,5 кД должен занимать наиболее наружное положение.

Строение двух дисков С-фикоцианина –  $(\alpha\beta)_6^{PC} \cdot L_{27}^{27} K$  и  $(\alpha\beta)_6^{PC} \cdot L_{33}^{33} K$  – совпадает с установленным для фикобилисом *Synechococcus* 6301. Полипептид массой 27 кД, как и в уже описанном случае, играет роль связующего для боковых цилиндров и ядра; при диссоциации фикобилисом *Synechocystis* 6701 он является единственным пинкерным полипептидом, присутствующим как в ядерной фракции, так и фракции боковых ци-



1)  $(\alpha\beta)_6^{PC} \cdot L_{27}^{27}$

2)  $(\alpha\beta)_6^{PC} \cdot L_{33}^{33}$

3)  $(\alpha\beta)_6^{PE} \cdot L_R^{31,5}$

4)  $(\alpha\beta)_6 \cdot L_R^{30,5}$

1)  $(\alpha\beta)_3^{AP}$

2)  $(\alpha\beta)_3^{AP} \cdot L_C^{10}$

3)  $(\alpha\beta)_2^{AP} \cdot \beta^{16,5} \cdot L_{CH}^{99}$

4)  $\alpha_2^{AP} \cdot \beta_3^{AP} \cdot \alpha^{APB} \cdot L_C^{10}$

Рис. 17. Строение фикобилисом *Synechocystis* 6701 [105]

линдров. Спектры поглощения дисков С-фиоксианина в растворе различны: спектр  $(\alpha\beta)_6^{PC}$  27 К несколько сдвинут в длинноволновую сторону.

В рядах фикобилисомы *Synechocystis* 6701 находятся три цилиндрических элемента. Строение и полипептидный состав двух цилиндров, примыкающих в фикобилисоне к тилакоидной мембране, соответствуют изученным у фикобилисом *Synechococcus* 6301. Третий, верхний цилиндр, как установлено опытами по диссоциации ядра, несет по два тримера  $(\alpha\beta)_3^{AP}$  и  $(\alpha\beta)_3^{AP}$ . 10 К [107].

Боковые и ядерные цилиндры связаны неравномерно: третий, верхний цилиндр ядра контактирует сразу с четырьмя боковыми, а первые два цилиндра ядра взаимодействуют каждый лишь с одним боковым (Рис. 17).

### 1.9. Фикобилисомы цианобактерии *Mastigocladus laminosus*

Фикобилисомы этой термофильной цианобактерии исследованы наиболее подробно. Процедура их выделения требует повышенной (0,9 М) концентрации соли [211]. Фикобилисома содержит три фикобилипротеина: фикоэритроцианин, С-фиоксианин и аллофиоксианин [209]. Для  $\alpha$ - и  $\beta$ -полипептидов всех трех пигментов полностью установлена первичная структура (см. [15, 186]). Кроме того, частично или полностью известны аминокислотные последовательности ряда линкерных, минорных полипептидов этих фикобилисом [76-80].

Для кристаллов С-фиоксианина и фикоэритроцианина *M. laminosus* получены рентгеноструктурные данные высокого разрешения, позволяющие судить о трехмерной структуре белков вплоть до взаиморасположения и ориентации хромофоров [54, 142, 237].

Фикобилисомы имеют типичное полудисковидное строение. Ядро состоит из трех цилиндров, каждый длиной в четыре диска-тримера аллофиоксианина [206, 212]. Боковые цилиндры несут по четыре гексамерных диска. Наружный из них образован фикоэритроцианином, три остальные - С-фиоксианином. Каждый диск соединен с собственным линкерным белком (Рис. 18). Строение ядра идентично установленному для фикобилисом *Synechocystis* 6701: тримеры аллофиоксианина связа-

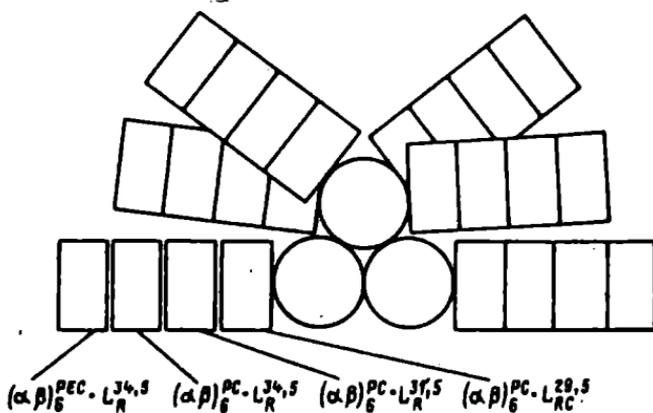


Рис. 18. Строение боковых цилиндров фикобилисом *Mastigocladus-laminosus* [ 206 ]

ны с соответствующими пинкерами.  $L_C^{8,9}$  из *M. laminosus* может быть уподоблен  $L_C^{10}$  из *Synechocystis* 6701;  $L_{CM}^{105}$  соответствует  $L_{CM}^{95}$ , а полипептид 16,2 кД – полипептиду 18,5 кД. Оба вида фикобилисом содержат и  $\alpha$ АРВ – полипептиды. У фикобилисом *M. laminosus* выявлена микрогетерогенность аллофикоцианина. Путем частичной диссоциации фикобилисом была получена низкомолекулярная ядерная фракция (100– 150 кД), а затем из нее тремя независимыми методами (электрофорез, изофокусирование, ионообменная хроматография) выделены три пигментных комплекса: АР 660, АР 664, и АР 680 (Табл. 4). Электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата  $Na$  показал, что в исследуемых комплексах присутствуют по две незначительно различающиеся молекулярной массой  $\alpha$  ( $\alpha$  и  $\alpha^*$ ) и  $\beta$  ( $\beta$  и  $\beta^*$ ) субъединицы аллофикоцианина [225]. Вероятно, гетерогенность аллофикоцианина имеет значение для самосборки ядра фикобилисомы, хотя пока не ясно – какое именно.

Еще одно исследование фикобилисом *M. laminosus* дало возможность установить наиболее вероятное расположение различных тримеров аллофикоцианина в ядре [226]. “Мягкой” диссоциацией ядра в сочетании с гель-фильтрацией и градиентным центрифугированием получены два белковых комплекса с молекулярной массой около 1 млн Д. Первый из них, обозначаемый как АР<sub>СМ</sub>, имел структуру:

Таблица 4

Характеристики субкомплексов аллофикоцианина, полученных из ядра фикобиписом *M. laminosus* [225]

Обозначение комплекса	Положение максимума флуоресценции	Полипептидный состав	Молекулярная масса полипептидов	
			Полипептид	кД
AP 660	660 нм	$(\alpha AP \beta AP)_3$	$\alpha AP$	18,0
AP 664	664 нм	$\alpha^* AP \cdot \alpha_2 AP \cdot \beta_2 AP \cdot \beta^* AP \cdot LC^{10}$	$\alpha^* AP$	18,5
AP 680	680 нм	$\alpha^* AP \cdot \alpha APB \cdot \alpha AP \cdot \beta_2 AP \cdot \beta^* AP \cdot LC^{10}$	$\alpha APB$	18,2
			$\beta AP$	17,0
			$\beta^* AP$	16,5



Второй представлял собой сумму первого комплекса и AP 680. Молекулярная масса и полипептидный состав комплекса  $AP_{CM}$  указывают, что в проведенных опытах удалось достичь "вертикальной" диссоциации ядра, при которой сохраняется связь между дисками аллофикоцианина, находящимися в разных ядерных цилиндрах (Рис. 19). Комплекс AP 680, содержащий  $\alpha$ -субъединицу аллофикоцианина В, легче и раньше отделяется от ядра фикобиписом, чем  $AP_{CM}$  - комплекс, несущий якорный полипептид  $(LC_{CM})$ . Это позволяет поместить  $AP_{CM}$  в середину фикобиписомного ядра. Комплекс AP 680 должен занимать в ядре крайнее положение (Рис. 19). Расположение AP 680 на периферии, а не в центре ядра предполагалось ранее у фикобиписом *Synechocystis* 6701 [21] и подтверждено затем при исследовании фикобиписом красной водоросли *R. violacea* [224]. Локализация полипептида с массой 16,2 кД в фикобиписомах *M. laminosus* остается неясной.

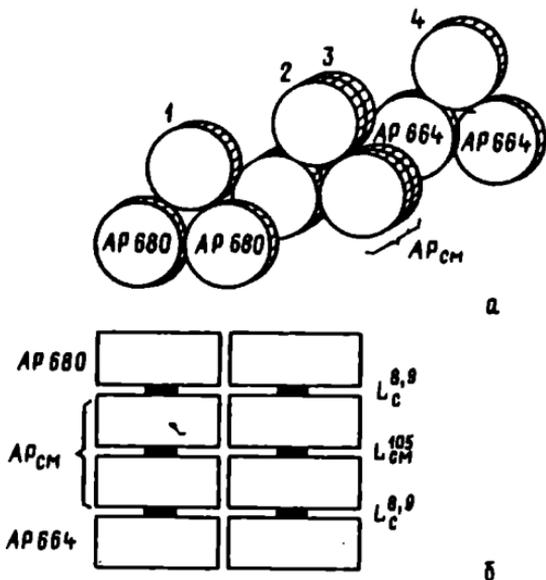


Рис. 19. а) ядро фикобилисомы *Mastigocladus laminosus*, диссоциированное на фрагменты; б) вид ядра фикобилисомы со стороны тилакоидной мембраны [226]

### 1.10 Аппофикоцианины I, II и III из цианобактерии *Nostoc* sp.

В серии работ [232, 258, 279-282] из фикобилисом *Nostoc* sp. наряду с фракцией, обогащенной аппофикоцианином В, получены еще три - аппофикоцианины I, II и III. Они отличались от обычного аппофикоцианина более длинноволновыми максимумами флуоресценции, расположенными соответственно при 678, 660, и 662 нм. Выяснено, что аппофикоцианин I содержит в своем составе L<sub>CM</sub>-полипептид. Подробного анализа полипептидного состава аппофикоцианинов II и III не проводилось; судя по совпадению максимумов флуоресценции, можно полагать [225], что эти фракции соответствуют комплексам AP 660 и AP 664 из фикобилисом *M. laminosus*.

### 1.11. Полипептидный состав фикобилисом *Synechococcus* PCC 7002

Боковые цилиндры в полудисковидных фикобилисомах цианобактерии *Synechococcus* PCC 7002 содержат по два гексамерных диска С-фикоцианина. В этом отношении они совершенно

одинаковы с фикобилисомами *M. aeruginosa* [222], *Synechococcus* PCC 6312 [37, 113] и *Synechocystis* PCC 6308 [55]. При выполнении подробного исследования молекулярного строения фикобилисом *Synechococcus* PCC 7002 использованы методы, рассмотренные ранее при изучении других фикобилисом, итоговые данные представлены в виде таблицы [38] (Таблица 5).

Таблица 5 .

Молекулярное строение фикобилисомы *Synechococcus*  
PCC 7002

Полипептиды	Гены	Число копий в фикобилисоме	Число хромофоров
Шесть боковых цилиндров			
$\alpha$ PC	срс А	72	72
$\beta$ PC	срс В	72	144
$L_R^{33}$	срс С	6	-
$L_R^9$	срс D	6	-
$L_{RC}^{29}$	срс G	6	-
Три цилиндра ядра			
$\alpha$ AP	арс А	32	32
$\beta$ AP	арс В	34	34
$\alpha$ APB	арс D	2	2
$\beta^{18}$	арс F	2	2
$L_C^8$	арс С	6	-
$L_{CM}^{99}$	арс E	2	2

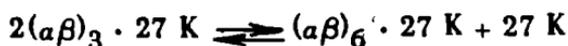
Примечание: представлено по [38] с изменениями

## 1.12. Строение фикобилисом цианобактерии

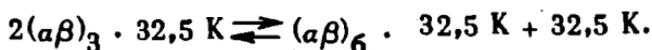
### Anabaena variabilis

В фикобилисомах *An. variabilis* содержатся фикоэритроцианин, С-фикоцианин и аллофикоцианин, причем доля фикоэритроцианина заметно ниже 10%. Полипептиды с массами 120, 32,5, 30,5, 29, 27 и 9-13 кД являются связующими [278].

Для фикобилисом *An. variabilis* особенно четко удалось проследить роль и распределение полипептидов с массами 27 и 32,5 кД: оба белка взаимодействуют с агрегатами С-фикоцианина. После диссоциации фикобилисом в буферных растворах низкой ионной силы хроматографией на гидроксипатите получены три фракции: 1) аллофикоцианин + полипептид с массой 120 кД; 2) чистый С-фикоцианин; 3) С-фикоцианин + полипептиды с массами 27 и 32,5 кД. Последнюю фракцию удалось разделить еще на две, содержащие, помимо С-фикоцианина, либо один полипептид, либо другой. На каждый  $(\alpha\beta)_3$  тример С-фикоцианина приходилось по одному из этих связующих полипептидов. Это единственный случай, когда в растворе получены не гексамеры, а тримеры С-фикоцианина, соединенные с минорными белками. В растворе высокой ионной силы тримеры агрегируют в гексамеры  $(\alpha\beta)_6 \cdot 27$  К и  $(\alpha\beta)_6 \cdot 32,5$  К, что указывает на существование равновесия:



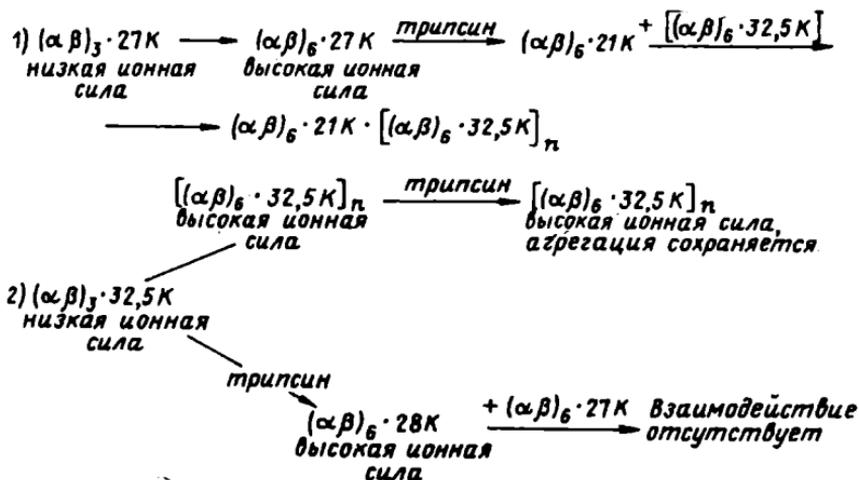
и



Возможно получение одиночных гексамеров  $(\alpha\beta)_6 \cdot 27$  К и длинных цилиндров  $[(\alpha\beta)_6 \cdot 32,5 \text{ К}]_n$ , образуемых несколькими гексамерами. При смешивании в растворе гексамеров обоих типов, как показала электронная микроскопия, цилиндры  $[(\alpha\beta)_6 \cdot 32,5 \text{ К}]_n$  становятся короче. Длина их в среднем тем меньше, чем больше доля гексамеров  $(\alpha\beta)_6 \cdot 27$  К. Очевидно, наращивание длины цилиндров возможно только благодаря полипептиду 32,5 К, а полипептид 27 К служит для ограничения роста и, вероятно, для связывания С-фикоцианина с аллофикоцианином ядра фикобилисома. Наружное положение в фикобилисоме агрегатов  $(\alpha\beta)_6 \cdot 32,5$  К соответствует спектральным данным: раствор чистого С-фикоцианина из *An. variabilis* имеет максимумы поглощения и флуоресценции соответственно

при 618 и 643 нм, агрегатов  $(\alpha\beta)_6 \cdot 32,5 \text{ К}$  - при 629 и 646 нм, агрегатов  $(\alpha\beta)_3 \cdot 32,5 \text{ К}$  - при 638 и 651 нм. Длинноволновые сдвиги указывают на предпочтительность миграции энергии в направлении  $(\alpha\beta)_3 \cdot 32,5 \text{ К} \rightarrow (\alpha\beta)_3 \cdot 27 \text{ К}$ .

Вывод о взаимном расположении двух типов агрегатов в фикобилисоме убедительно подтверждается опытами по их частичному протеолизу с помощью трипсина. Агрегированный С-фикоцианин устойчив к протеолизу, но от полипептида массой 27 кД протеолитически отщепляется домен 6 кД, а от полипептида 32,5 кД - домен 4,5 кД. Эти домены не экранированы от протеолитического действия связанными с ними агрегатами С-фикоцианина и, вероятно, непосредственно отвечают за объединение дисков, так как после протеолиза крупные агрегаты распадаются. Суммарно действие растворов разной ионной силы и трипсина представлено в схеме [277]:



Из схемы следует, что только полипептид массой 32,5 кД служит для соединения гексамеров С-фикоцианина друг с другом.

Фикобилисомы *An. variabilis* не имеют типичной для большинства видов цианобактерий полудисковидной формы. На микрофотографиях они выглядят как цилиндры со средней длиной 52,5 нм [144]. Концевые отделы таких фикобилисом-цилиндров несколько уже (12 нм), чем центральная часть, имеющая в сечении около 16 нм. В мягких условиях диссоциации фикобилисомы распадаются на три части: два субкомплекса С-фикоцианина и один аллофикоцианиновый субкомплекс [159, 145]. Величина последнего (23 × 16 нм) соответствует размерам центральной части фикобилисом. Этот субкомплекс, который,

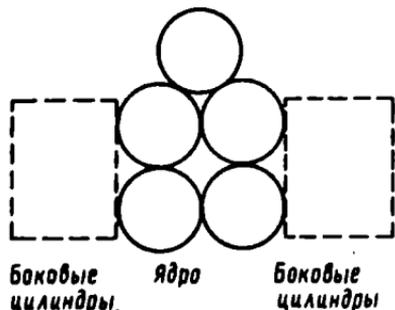


Рис. 20. Вероятная модель строения фикобилисом *Anabaena variabilis* (см. текст)

очевидно, является ядром фикобилисомы, состоит из пяти цилиндров аллофикоцианина [146] (Рис. 20). Содержание аллофикоцианина очень высоко и составляет 38% от общего количества фикобилипротеинов.

Относительно строения боковых цилиндров известно меньше. Молярная доля фикоэритроцианина настолько невелика, что он может присутствовать лишь в части фикобилисом, входя в их состав в виде отдельных гексамерных дисков. Можно думать, что, как и в полудисковидных фикобилисомах, боковые цилиндры, образуемые С-фикоцианином, и диски аллофикоцианина в центре ориентированы взаимоперпендикулярно. На фотографиях тилакоидов и тилакоидных везикул, соединенных с фикобилисомами, видно, что они как бы лежат на мембране [144, 151]. Для того чтобы фикобилисома примыкала при этом к мембране прежде всего своим ядром, она должна иметь в профиль форму развернутой "галочки" с широко раскрытыми крыльями из двух цилиндров С-фикоцианина. В плане такая фикобилисома сохраняет общую цилиндрическую форму. Строение "крыльев" С-фикоцианина требует дальнейшего электронномикроскопического изучения.

### 1.1.3. Фикобилисомы цианобактерии

#### *Phormidium persicinum*

Морфология фикобилисом *P. persicinum* выявлена по микрофотографиям тонких срезов клеток и препаратов, подвергнутых негативному контрастированию уранил-ацетатом, с увеличением 200 000 [266]. Их ядро, состоящее из трех цилиндров аллофикоцианина, не отличается от ядра полудисковидных фикобилисом. Различия заключаются в строении периферической части: фикобилисомы *P. persicinum* содержат десять боковых цилиндров. В отличие от полудисковидных фикобилисом они располагаются не по отдельности, а собраны в две группы, в каждой по

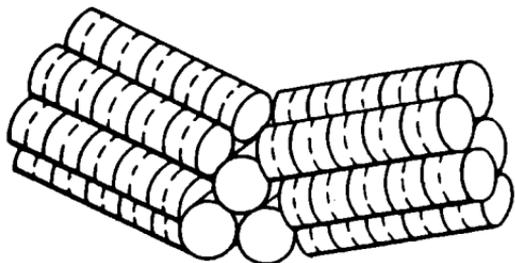


Рис. 21. Модель строения фикобилизом цианобактерии *Phormidium persicinum* [266]

5 штук. В группе цилиндры примыкают друг к другу, располагаясь параллельно, как и в ядре фикобилизомы, т.е. контактируют боковыми сторонами. Каждый цилиндр слагается из пяти дисков-гексамеров.

По своей молекулярной массе ( $14,6 \cdot 10^6$  Д) фикобилизомы *P. persicinum* располагаются между полудисковидными и полуэллипсоидальными фикобилизомами. Цианобактерия содержит три пигмента (С-фикоэритрин, С-фикоцианин и аллофикоцианин) в молярном соотношении 7,3:1:1. Так как аллофикоцианин сосредоточен в ядре, очевидно, что боковые цилиндры в среднем имеют менее чем по одному гексамерному диску С-фикоцианина, т.е. не каждый боковой цилиндр содержит этот пигмент. В связи с этим миграция энергии в фикобилизоме может, вероятно, проходить двумя путями: непосредственно от С-фикоэритрина к аллофикоцианину и от С-фикоэритрина к С-фикоцианину, находящемуся в соседнем боковом цилиндре. Последнее возможно, если цилиндры, будучи параллельны друг другу, находятся в тесном контакте.

Два пучка из 5 параллельных боковых цилиндров образуют между собой угол  $150^\circ$  (Рис. 21) Фактически каждый из пучков почти параллелен мембране тилакоида, поэтому нижние боковые цилиндры должны иметь в той части, где они стыкуются с ядром, небольшой контакт с тилакоидной мембраной. В связи с этим возникает предположение о миграции энергии от боковых цилиндров непосредственно к хлорофиллу *a*, минуя аллофикоцианиновое ядро.

#### 1.14. Фикобилизомы цианобактерии *Gloeobacter violaceus*

Пучковидные фикобилизомы найдены у одноклеточной цианобактерии *G. violaceus*. Эта удивительная водоросль не имеет тилакоидов [228]. Хлорофилл и связанный с ним фотосинтетический аппарат локализируются в плазматической мембране. Фико-

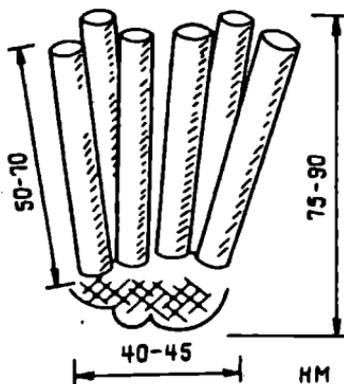


Рис. 22. Модель фикобилисом цианобактерии *Gloeobacter violaceus* [263]

билисомы примыкают к ее внутренней стороне и расположены столь тесно, что сначала возникло предположение об их отсутствии и расположении фикобилипротеинов на мембране в виде равномерного дисперсного слоя. Затем из *G. violaceus* все же были получены интактные фикобилисомы [36,127]. *In vitro* они выглядят как пучок цилиндрических элементов, каждый толщиной 10–12 и длиной 50–70 нм. Шесть таких цилиндров примыкают к общему основанию шириной 40–45 нм. В цилиндрах просматриваются повторяющиеся элементы толщиной 6 нм, соответствующие гексамерным дискам фикобилипротеинов. Структура основания остается неясной (Рис. 22).

Фикобилисомы интересны и тем, что содержат СУ-фикоэритрин, достаточно редкий тип пигмента, встречающийся у немногих видов цианобактерий [247].

### 1.15. Связь фикобилисом с тилакоидной мембраной

#### 1.15.1. Расположение фикобилисом на тилакоидной мембране

На микрофотографиях хорошо видно, что фикобилисомы расположены на поверхности тилакоидов параллельными рядами [86, 126, 166, 172, 210], расстояние между которыми составляет 40–77 нм [82,83]. Вид рассматриваемых рядов зависит от того, в какой плоскости относительно тилакоидной мембраны проходит микросрез (Рис. 23). На единицу поверхности тилакоида приходится вполне определенное число фикобилисом (Таблица 6). Оно не является строго постоянным и зависит от условий культивирования водорослей, в частности от освещенности и от размеров фикобилисом (см. разд. 3):

расстояние между соседними полуэллипсоидными фикобилисомами в каждом ряду обычно составляет 10 нм, в то время как, например, полуэллипсоидальные фикобилисомы *P. cruentum* отстоят друг от друга на 30 нм (Рис. 23). В связи с этим число фикобилисом, приходящееся на единицу площади мембраны, может различаться у водорослей практически на порядок (см. табл. 6).

Зная плотность расположения фикобилисом, размеры и число тилакоидов, можно определить, сколько подобных частиц находится в цепой клетке. Для *A. nidulans* общее количество фикобилисом оценено в  $2,1-2,3 \cdot 10^4$  [154], а для *P. cruentum*  $6,6 \cdot 10^5$  [55].

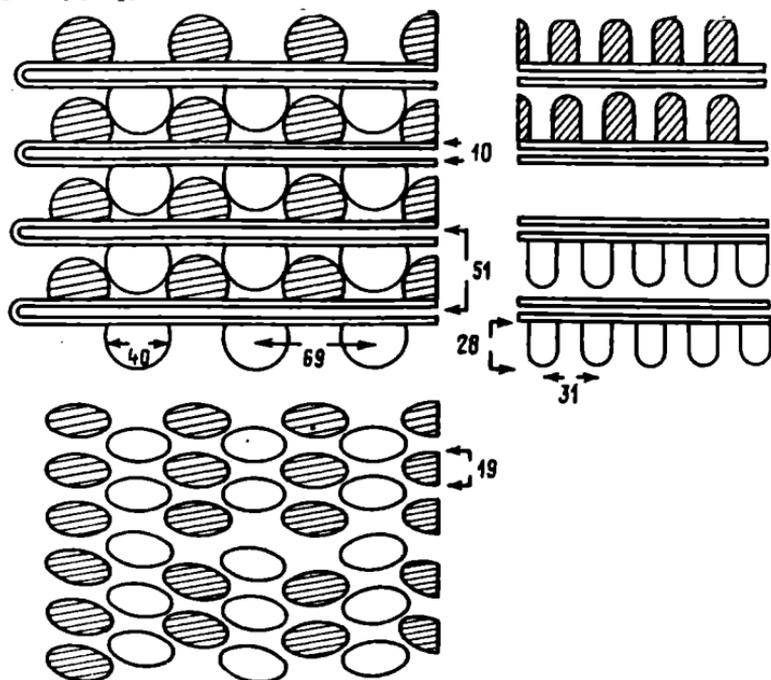


Рис. 23. Схема расположения полуэллипсоидальных фикобилисом красной водоросли *Porphyridium cruentum* на тилакоидных мембранах (три проекции) [261]

### 1.15.2. Взаимодействие фикобилисом с пигмент-белковым комплексом фотосистемы II

Пигмент-белковые комплексы первой и второй фотосистем являются компонентами тилакоидной мембраны. Априорно существуют три возможности их взаимодействия с фикобилисомами; 1) фикобилисомы связаны исключительно с фотосисте-

Число фикобилисом на единицу площади тилакоидной мембраны

Вид водоросли	Число фикобилисом на $1 \mu\text{M}^2$	Литература
<i>Anacystis nidulans</i>	980-1700	[154]
<i>Oscillatoria brevis</i>	1200	[172]
<i>Oscillatoria limosa</i>	1200	[172]
<i>Oscillatoria splendida</i>	1400	[172]
<i>Antithamnion glanduliferum</i>	230	[172]
<i>Griffithsia pacifica</i> , 50fc	270	[260]
<i>Griffithsia pacifica</i> , 300fc	165	[260]
<i>Porphyridium cruentum</i>	400	[210]
<i>Porphyridium cruentum</i>	450	[261]
<i>Porphyridium cruentum</i>	370-560	[53]

мой II; 2) с обеими фотосистемами, 3) только с фотосистемой I. Последнее исключается, так как рассмотренные ранее спектры действия фотосинтеза ясно свидетельствуют, что световая энергия, поглощаемая фикобилисомами, расходуется на выделение кислорода. В связи с этим требуется исследование двух первых случаев.

Рассмотрение спектральной шкалы с обозначением в ней области поглощения фикобилипротеинов и пигмент-белковых комплексов фотосистем I и II показывает (Рис. 24), что энергия от фикобилисом может передаваться обеим фотосистемам, однако низкотемпературные спектры флуоресценции багрянок и цианобактерий с возбуждением ее в области поглощения фикобилипротеинов или хлорофилла а различаются очень сильно (Рис. 25). В первом случае преобладает излучение в области 680-695 нм, характерное для фото-

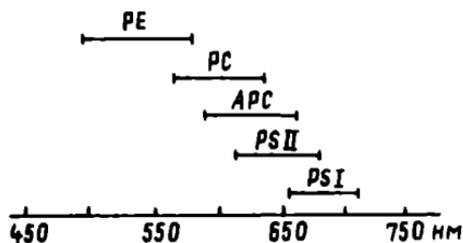


Рис. 24. Спектральная шкала с обозначением в ней областей поглощения фикоэритринов (PE), фикоцианинов (PC), аллофикоцианина (APC) и антенного хлорофилла а фотосистем I и II

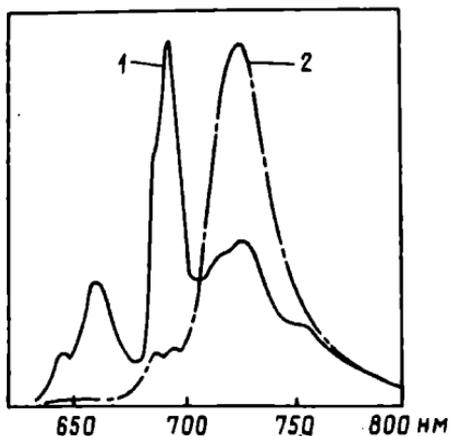


Рис. 25. Спектр флуоресценции красной водоросли *Cyanidium caldarium* при монохроматическом возбуждении излучения светом 562 нм (1) и 442 нм (2), 4°K [227]

системы II, во втором – интенсивной становится длинноволновая поппса 715–730 нм, принадлежащая фотосистеме I. Из этого следует, что энергия от фикобилисом мигрирует преимущественно или даже исключительно к пигмент-белковому комплексу второй фотосистемы. Оценки, сделанные на основе анализа спектров флуоресценции и спектров возбуждения флуоресценции, показывают, что некоторая часть энергии (10–15%) может передаваться от фикобилисом непосредственно фотосистеме I, (см. [152, 195, 202]). Эта спектральная оценка не может служить строгим доказательством миграции энергии к фотосистеме I, так как ни при каких длинах волн в клетке невозможно возбуждение только фикобилипротеннов. Даже в области поглощения фикоэритрина, при 500–550 нм, где пог-

поглощение хлорофилла а минимально, часть света неминуемо поглощается первой фотосистемой. Таким образом, чисто спектральных измерений недостаточно для обоснованного вывода — требуются данные о строении тилакоидов.

Как уже говорилось, высокомолекулярный LCM-полипептид фикобилисом с массой 75 — 120 кД, участвует в соединении фикобилисом с тилакоидной мембраной. Среди мембранных белков также найдены полипептиды большой молекулярной массы, участвующие в присоединении фикобилисом со стороны тилакоидов.

Интересны опыты по взаимодействию в растворе фикобилипротеинов с мембранными структурами. У цианобактерии *F. diplosiphon* смесь фикобилипротеинов, полученных диссоциацией фикобилисом в растворе низкой ионной силы, реассоциирует с тилакоидной мембраной, образуя функционально активные мембраносвязанные фикобилисомы [155]. Более того, могут быть получены гибридные комплексы фикобилисом одного вида цианобактерий и тилакоидов другого, как показано для *F. diplosiphon* и *An. variabilis* [155]. Анализ кинетики реассоциации обнаружил два типа связывания: специфическое, с передачей поглощаемой энергии мембранному хлорофиллу а, и неспецифическое, которое происходит только после насыщения мест связывания, когда соотношение фикобилипротеины/хлорофилл в образуемых ассоциатах достигает наблюдаемого *in vivo*. Неспецифическое связывание осуществимо даже с тилакоидами зеленых водорослей: хлоропласты *Chlamydomonas reinhardtii* и *Euglena gracilis* можно соединить с фикобилипротеинами с образованием интактных, но не передающих энергию хлорофиллу, фикобилисом [155]. Если провести ограниченный протеолиз фикобилисом (он вызывает разрушение LCM-полипептида), то они теряют способность как к специфической, так и неспецифической реассоциации с тилакоидами.

Более информативны опыты по ассоциированию фикобилисом с частицами мембран, обогащенных фотосистемой I или II, а также пигмент-белковыми комплексами двух фотосистем, полученными в растворе [156]. Связывание этих препаратов с фикобилисомами наблюдается во всех случаях, но функционально активными оказываются только ассоциаты с фотосистемой

II. В этом случае регистрируется перенос возбуждения от фикобилисом к хлорофиллу. Для комплексов с фотосистемой I, миграция энергии отсутствует, что служит убедительным свидетельством связывания фикобилисом *in vivo* только со второй фотосистемой. Средство фикобилисом к пигмент-белковому

комплексу фотосистемы II достаточно велико, так что взаимодействие может осуществляться в отсутствие упомянутых тилакоидных полипептидов массой 92-94 кД. Если комплекс фотосистемы II зеленой водоросли *S. reinhardtii* перевести из мембран в раствор, отделив от полипептидов, содержащих хлорофилл *a*, то его ассоциат с фикобилисомами будет функционально активным. Вся совокупность данных позволяет сделать вывод о наличии у пигмент-белкового комплекса фотосистемы II рецепторных участков связывания с фикобилисомами [156].

Воздействия, оказывающие влияние на контакт липидов и белков тилакоидной мембраны с фикобилисомами, сказываются на передаче энергии от фикобилипротеинов к хлорофиллу. Так, повышение гидростатического давления [240] и понижение температуры до 5°C [241, 242] ведут к обратимому уменьшению миграции энергии от фикобилисом к фотосинтетической мембране. При повышении температуры выше комнатной наблюдается подавление активности фотосистемы II и разобщение фикобилисом и мембран тилакоидов у нетермофильных цианобактерий [11, 143, 209]. В суспензии тилакоидных мембран цианобактерий при повышении ионной силы наблюдается обратное: более эффективное взаимодействие фикобилисом и тилакоидов [1].

Получены фрагменты тилакоидных мембран цианобактерий, содержащие фотосистему II и сохраняющие способность к выделению кислорода [66, 248]. Условия, используемые для получения подобных препаратов, приводили к удалению фикобилисом с поверхности мембраны. Позже были предприняты дополнительные попытки мягкой солиubilизации фотосинтетических мембран, при которой сохранялись контакты фикобилисом с фотоактивным пигмент-белковым комплексом фотосистемы II [48, 151]. Наконец, из клеток багрянки, *P. cruentum* удалось получить фрагментированные частицы, состоящие, как свидетельствовали микроснимки, из фикобилисом, соединенных с крайне малыми мембранными везикулами [46]. На зеленом свете, поглощаемом фикоэритрином, они в течение нескольких часов сохраняли способность к фотосинтетическому выделению кислорода [44, 45, 47]. Полученные препараты не содержат фотосистемы I, что следует из отсутствия длинноволновой флуоресценции хлорофилла *a* и реакционного центра P 700 [46, 47]. Аналогичные препараты, в которых фотоактивные мембранные везикулы соединены с аллофикоцианиновым ядром фикобилисом, получены из цианобактерий *.nidulans* и *Synechococcus* sp. [160, 215, 236].

Оказалось, что комплексы фотосистемы II в мембране тилакоидов располагаются в виде "островков". Для доказательства этого было проведено определение эффективности миграции энергии от закрытых реакционных центров второй фотосистемы (их доля контролировалась добавкой ингибитора — дихлорфенилдиметилмочевины) к открытым [195]. Ее эффективность оказалась крайне низкой, не превышавшей 7%. Сделан вывод, что комплексы фотосистемы II, как и фикобилисомы, расположены в мембранах дискретно. Подтверждением этого служит изучение так называемых EF-частиц, обнаруживаемых на скопах тилакоидных мембран. Две поверхности мембраны, полученные методом замораживания-скалывания, принято обозначать как EF — поверхность (экзоплазматическая) и PF-скоп (протоплазматическая поверхность, более близкая к цитоплазме) (Рис. 26). На микроснимках EF-поверхностей хорошо различимы глобулярные частицы размером 9–12 нм (см. [13]), выявляемые у всех исследуемых видов [126, 166, 172, 211]. EF-частицы располагаются на внутреннем скопе параллельными рядами, отстоящими друг от друга на 40–60 нм, точно так же, как и фикобилисомы на поверхности фотосинтетической мембраны. Это совпадение позволило предположить, что EF-частицы должны быть комплексами фотосистемы II [166, 172]. Гетероцисты цианобактерий утрачивают активность фотосистемы II, и у них на скопах фотосинтетических мембран, в отличие от вегетативных клеток, EF-частицы размером 10 нм не обнаруживаются [99]. Наоборот, у мутанта *S. caldarium* с почти удвоенным содержанием комплекса фотосистемы II отмечено параллельное, двойное увеличение числа EF-глобул в тилакоидной мембране [270]. У цианобактерий *M. laminosus* фикобилисомы на поверхности фотосинтетических мембран и EF-глобулы на скопах образуют абсолютно одинаковые ряды с периодом в 45 нм и расстоянием между частицами в рядах, равном 12 нм [205]. На микрофотографиях в некоторых случаях на одном тилакоиде удавалось различить и EF-частицы, и фикобилисомы. Глобулы одного типа (фикобилисомы) располагались как раз над внутримембранными глобулами. Очевидно, что они находились в непосредственном контакте. У *Synechococcus* sp. были выделены фотоактивные комплексы фотосистемы II, затем включенные в липосомы [207]. Строение полученных моделей было изучено с помощью электронной микроскопии. Оказалось, что встроенные в липосомы комплексы имеют вид и размеры, характерные для EF-глобул в фотосинтетических мембранах.

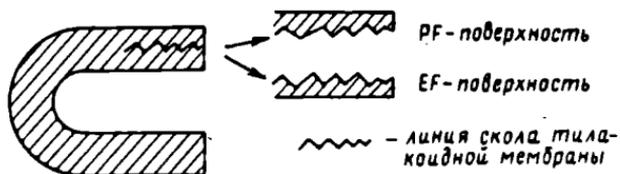


Рис. 26. Схема получения препаратов биомембран методом замораживания-скалывания

Все изложенное свидетельствует, что фикобилисомы в тилакоидах непосредственно контактируют с фотосистемой II, мембранные комплексы которой имеют вид дискретных глобул размером 10 нм. Вывод подтверждается исследованием ЕФ-частиц, найденных также на сколах мембран хлоропластов у высших растений и зеленых водорослей. Многочисленными работами, рассмотрение которых выходит за рамки данного описания, ЕФ-частицы этих объектов идентифицированы как надмолекулярные комплексы, содержащие реакционные центры фотосистемы II. Из полученных данных следует, что каждая частица размером 10 нм содержит один реакционный центр второй фотосистемы, связанный со светособирающим пигмент-белковым комплексом хлорофилла а и переносчиками электрона (см. [34]).

На РФ-поверхности при скалывании мембран располагаются комплексы фотосистемы I, компоненты электрон-транспортной цепи и гидрофобная часть фактора сопряжения (см. [15,34]).

Как у красных и сине-зеленых водорослей соотносится число ЕФ-частиц с числом фикобилисом? Оказывается, что это соотношение меняется от 1:1 до 1:4 в пользу ЕФ-частиц [172] причем на более крупные полуэллипсоидальные фикобилисомы приходится большее число ЕФ-частиц, чем на полудисковидные. Приведенные данные полностью коррелируют с определяемым независимо соотношением фикобилисом и реакционных центров второй фотосистемы. Этот параметр для различных водорослей определялся неоднократно и в итоге установлены те же соотношения, что и для ЕФ-глобул; с одной фикобилисомой связаны от одного до четырех реакционных центров [154, 161, 168, 187, 188, 194, 207, 213, 259, 270].

Общие закономерности могут быть сформулированы следующим образом. Во-первых, каждая полудисковидная фикобилисома связана с одним [154, 213] или двумя реакционными центрами. Расхождение в оценках, вероятно, обусловлено разными способами определения концентрации реакционных центров

фотосистемы II [191], а также отражает возможность реального существования и того, и другого соотношения. Во-вторых, попуэллипсоидальные фикобилисомы, преобладающие у красных водорослей, контактируют с 3-4 реакционными центрами каждая [161, 168, 213]. И в-третьих, если у цианобактерий число реакционных центров, приходящихся на одну фикобилисому, также достигает четырех, то их фикобилисомы либо не являются полудисковидными, как в случае *P. persicinum*, либо могут быть полудисковидной формы, но с очень большими боковыми цилиндрами, и по размерам приближаться к попуэллипсоидальным [213].

### 1.16. Фикобилисомы и миграция энергии

#### 1.16.1. Миграция энергии, измеряемая в клетках водорослей

В начале пятидесятых годов установлено, что в клетке фикобилипротеины передают поглощенную энергию хлорофиллу [25, 56, 74]. При измерении флуоресценции хлорофилла, сенсibiliзируемой фикоэритрином, оказалось, что некоторая доля излучения у водорослей принадлежит фикоцианину [56, 74]. Следовательно, этот пигмент является промежуточным звеном в регистрируемой цепи гетерогенной миграции энергии. Последующие измерения в пикосекундных временных интервалах позволили детализировать эту картину [199, 220, 276]. После возбуждения В-фикоэритрина лазерными вспышками 540 нм у водоросли *P. cruentum* с помощью временной развертки спектров было наглядно продемонстрировано, как поглощенная энергия последовательно передается R-фикоцианину, затем аллофикоцианину и, наконец, хлорофиллу а [276] (Рис. 27).

Ранние опыты Томиты и Рабиновича [257] дали верхнюю границу скорости миграции: *in vivo* хлорофилл воспринимает энергию от фикобилипротеинов за время, не превышающее 500-800 пс. Затем с помощью пикосекундной лазерной техники было показано, что у *P. cruentum* это время не превышает 150, а у *A. nidulans* - 120 пс [276].

#### 1.16. 2. Миграция энергии в изолированных фикобилисомах

Миграция энергии исследовалась в фикобилисомах *A. nidulans* [100, 101, 104, 105, 110, 227, 250, 251], *A. variabilis* [200], *Gloeopeltis furcata* [3], *Nostoc muscorum* [4, 14], *Nostoc* sp. [198, 217], *M. laminosus* [131, 132, 135, 239], *P. cruentum* [8, 118, 135, 265, 267] *R. violacea*

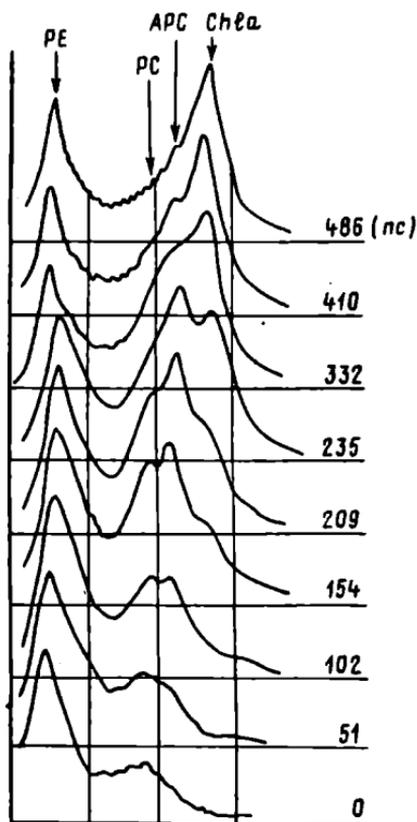


Рис. 27. Регистрация разрешенных во времени спектров флуоресценции красной водоросли *Porphyridium cruentum* при монохроматическом возбуждении светом 540 нм (представлено по [276] с изменениями)

[136], *Synechocystis* 6701 [110, 114], *T. tenuis* и *F. diploiphon* [201].

Спектры возбуждения флуоресценции фикобилисом очень сходны со спектрами поглощения, что указывает на участие всех пигментов фикобилисом в гетерогенной миграции энергии [3, 267]. Возбуждение В-фикоэритрина у фикобилисом *P. cruentum* светом 545 нм приводит к излучению с максимумом при 675–680 нм [91]. Эта флуоресценция не принадлежит фикоэритрину, фикоцианину или даже аллофикоцианину, а обусловлена длинноволновыми пигментными комплексами фикобилисом и в данном опыте объясняется как результат сенсibilизации В-фикоэритрином. Собственно, критерием интактности препаратов фикобилисом и служит, как отмечалось, флуоресценция с максимумом при 675–680 нм, не зависящим от длины волны возбуждения. Все это говорит, что фикобилисом является единым комплексом, состоящим из пигментов, охваченных стоком энергии на наиболее длинноволновые акцепторы. Квантовый выход флуоресценции конечных

акцепторов энергии в фикобилисомах составляет 0,5 для *R. violacea* [136] и 0,60–0,68 для *P. cruentum*, *Nostoc* sp. и *F. diplosiphon* [118], т.е. не меньше, чем у аллофиикоцианина в растворе (0,68) [119].

Уровень миграции энергии между пигментами фикобилисом чрезвычайно высок. Для передачи возбуждения от фикоэритрина к фикоцианину в фикобилисомах *G. furcata*, *P. cruentum*, *Nostoc* sp. и *F. diplosiphon* он составляет 93–98% [3, 119, 257]. Подобная оценка может быть выполнена весьма точно. Так, время жизни возбужденного состояния В-фикоэритрина в интактных клетках и фикобилисомах *P. cruentum* оценивалось в 90 [276], 70 [220, 243], 60 [267] и даже 10–20 пс [8]. Так как *in vitro* этот параметр составляет 2380 пс [276], то его сокращение означает, что эффективность передачи энергии от этого пигмента к более длинноволновым равна 97–98%.

Миграция энергии в фикобилисомах исследована рядом способов. Изучалась кинетика разгорания и затухания флуоресценции, а также светоиндуцированные изменения поглощения при фиксированных длинах волн [8, 31, 32, 109, 136, 217, 220, 243, 251, 267]. Применялась весьма эффективная для этих целей запись спектров флуоресценции во временных интервалах, равных десяткам и сотням пикосекунд [199–201, 276]. Наряду с целыми фикобилисомами, исследовались их фрагменты, мутантные формы или фикобилисомы, претерпевшие изменения размеров в результате хроматической адаптации [101, 114, 135, 233]. Каждая фикобилисома состоит не менее чем из нескольких сот хромофоров, охваченных актами миграции. В этом пигментном ансамбле регуляция передачи энергии может быть весьма тонкой. Например, известно, что остаток аспарагина в 72-й позиции  $\beta$ -цепей фикобилипротеинов, находящийся в пространственной близости к хромофору, ковалентно связанному с 84-м цистеиновым остатком, является метилированным [137]. Штамм цианобактерии *Synechococcus* PCC 7942 обладает способностью к повышенной частоте мутирования [245]. На примере мутанта этого штамма, дефектного по метилированию, показано, что он отличается от исходного штамма меньшим квантовым выходом флуоресценции фикобилисом, т.е. нарушениями в миграции [252]. Воздействия на фикобилисомы даже незначительными концентрациями протеаз или детергентов также немедленно сказываются на осуществлении передачи энергии [197, 229].

Для эффективности миграции весьма существенна ориентация

дипольных моментов хромофоров. У тримеров и гексамеров фикобилипротеинов она может быть определена по имеющимся рентгеноструктурным данным. В додекамерах и агрегатах больших порядков, которыми в сущности являются цилиндрические элементы фикобилисом, взаимная ориентация дисков-гексамеров остается неизвестной. Падение поляризации флуоресценции фикобилисом, происходящее в пикосекундных временных интервалах и изменяющееся в зависимости от длины волны регистрации, должно быть истолковано как результат миграции энергии между по-разному ориентированными хромофорами [100, 101, 104, 198, 239, 267]. Ориентация фикобилисом в полимерных матрицах показывает, что существует преимущественное направление миграции за счет пространственного положения хромофоров [7, 68-73, 81, 141].

#### 1.16.2.1. Миграция энергии в боковых цилиндрах

У фикобилисом энергия в гетерогенных боковых цилиндрах, состоящих из фикоэритрина и фикоцианина, передается быстрее, чем в гомогенных, состоящих только из фикоцианина. Еще в опытах с клетками *P. cruentum* и *A. nidulans* [220] было обнаружено, что после импульсного возбуждения В-фикоэритрина в первом случае и С-фикоцианина у *A. nidulans* - во втором на разгорание флуоресценции хлорофилла а у *P. cruentum* уходит заметно меньше времени. *A. nidulans* не содержит фикоэритрина, а в фикобилисомах *P. cruentum* доля этого пигмента равна 80%. Кроме того, фикобилисомы *P. cruentum* относятся к полуэллипсоидальным, а у *A. nidulans* они полудисковидной формы. Так как фикобилисомы последнего типа меньше по размерам, то более быструю миграцию в случае *P. cruentum* следует связывать с присутствием фикоэритрина. Для уточнения вопроса проведены опыты с полудисковидными фикобилисомами *T. tenuis* и *F. diplosiphon*. Их пигментный состав (утрата или наращивание дисков С-фикоэритрина) зависит от хроматического состава света, при котором выращиваются водоросли [201]. Оказалось, что при передаче энергии от фикобилисом, обедненных красным пигментом, флуоресценция хлорофилла а становится заметной через 200 пс и преобладающей - через 500. В случае фикобилисом, богатых фикоэритрином, свечение хлорофилла а разгорается заметно быстрее - за 350 пс. Следовательно, в гетерогенных боковых цилиндрах, состоящих преимущественно из фикоэритрина, передача энергии происходит быстрее. Это подтверждено прямой регистрацией светоиндуцированных изменений поглощения у фикобилисом *P. cruentum*:

в спектре В-фикоэритрина они происходят за 20 пс, а в спектре R-фикоцианина — за 60 [8]. Вероятно, более быстрый перенос возбуждения между дисками-агрегатами фикоэритрина возможен за счет большего содержания хромофоров, т.е. большего числа каналов миграции.

Еще один интересный вопрос, связанный с фикоэритрином, — возможность прямой передачи энергии от этого пигмента к аллофикоцианину, минуя фикоцианин. Интеграл перекрывания спектра поглощения аллофикоцианина со спектром флуоресценции фикоэритрина не многим меньше, чем со спектром фикоцианина [118, 186], а это условие — одно из важнейших для передачи энергии между пигментами. Перенос возбуждения в направлении фикоэритрин → аллофикоцианин продемонстрирован в растворах [72, 117]. В фикобилисомах подобный перенос может реализоваться только при том условии, что диски фикоэритрина непосредственно примыкают к агрегатам аллофикоцианина. В двух случаях такое строение чрезвычайно вероятно. Во-первых, рассмотренные ранее фикобилисомы *R. persicinum* содержат десять боковых цилиндров, а молярная доля С-фикоцианина по отношению к фикоэритрину настолько низка, что этот пигмент не может находиться во всех боковых цилиндрах даже в минимальном количестве, равном одному диску-гексамеру. Во-вторых, у водоросли *G. tikvahiae* получены мутантные штаммы, фикобилисомы которых, сохраняя фикоэритрин, утратили фикоцианин [162]. Миграция энергии от фикоэритрина в обоих типах фикобилисом сохраняется.

Время, затрачиваемое на передачу энергии от боковых цилиндров к ядру фикобилисомы, можно оценить, например, по разгоранию флуоресценции аллофикоцианина при монохроматическом возбуждении фикоэритрина или фикоцианина. С увеличением длины боковых цилиндров оно заметно возрастает (Таблица 7). Расчет, выполненный на основе подобных данных, показывает, что время миграции энергии от одного диска-гексамера С-фикоцианина к соседнему составляет  $26 \pm 8$  пс [101]. С этой же целью были сопоставлены дикий штамм *Synechocystis* 6701 и его мутант, отличавшийся от первого отсутствием в фикобилисомах фикоэритрина, поэтому боковые цилиндры у него были в среднем на 1,6 диска-гексамера короче. В этой работе получено близкое к предыдущему время передачи возбуждения между дисками (24 пс) [114].

Лимитирующим звеном в цепи миграции энергии оказывается передача ее к ядру от последнего, примыкающего к нему диска боковых цилиндров, как было выяснено в опытах с 18S-частицами, получаемыми из фикобилисом *A. nidulans*.

Время миграции энергии от боковых цилиндров к ядру в фикобилисомах *A. nidulans* в зависимости от их размеров

Среднее число дисков-гексамеров в боковых цилиндрах фикобилисом	1	3	4
Время миграции энергии к ядру фикобилисом	45 пс	83 пс	120-130 пс
Литература	[101]	[101]	[250]

Эти частицы состоят из ядра и минимальных боковых цилиндров длиной в один полудиск-тример С-фикоцианина, поэтому междисковая передача энергии в боковых цилиндрах попросту отсутствует. На кривой затухания флуоресценции С-фикоцианина у 18S-частиц найдены два кинетических компонента, равные 17 и 55 пс. Первый из них в соответствии с данными, полученными для фикобилипротеинов в растворе, приписан межхромоборной миграции внутри тримера С-фикоцианина, а второй, вероятно, является звеном передачи энергии к ядру фикобилисома [233].

Направленность миграции энергии к ядру поддерживается линкерными белками: спектры поглощения и флуоресценции каждого последующего гексамерного диска, находящегося в боковом цилиндре ближе к ядру, чем предыдущий, смещены в красную область [184, 278]. При монохроматическом лазерном возбуждении хромофоров аллофикоцианина (667 нм) у фикобилисом *P. cruentum* фотоиндуцированных изменений поглощения В-фикоэритрина не происходит, что подтверждает подавление обратного переноса электронных возбужденных состояний [8]. Тот же вывод сделан благодаря расчету вероятности миграции энергии между различными парами пигментных форм фикобилипротеинов в фикобилисомах [14].

#### 1.16.2.2. Перенос энергии

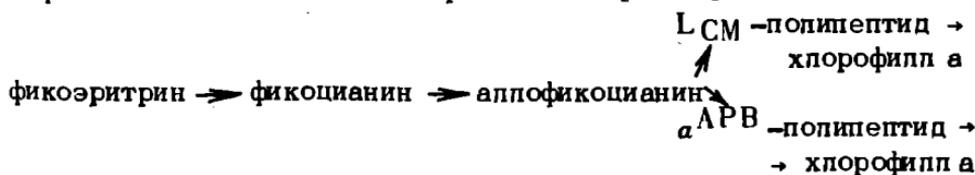
в ядре фикобилисома; два конечных акцептора энергии

Ядро полудисковидных фикобилисом состоит из трех цилиндров аллофикоцианина, соприкасающихся боковыми сторонами. Энергия от верхнего из них передается двум нижним, находя-

щимся в контакте с тилакоидной мембраной. Анализ кинетических кривых миграции энергии в препаратах ядер фикобилисом *Synechocystis* 6701 [109] или 18S — частиц *A. nidulans* показывает, что они содержат короткоживущие компоненты, с  $\tau$ , не превышающим 15 пс. Это время жизни интерпретируется, как время миграции между дисками аллофикоцианина. Сравнение фикобилисом *A. nidulans* с другими показывает, что наличие третьего, верхнего цилиндра в ядре не требует введения дополнительных компонентов для описания кинетических кривых. Сделан вывод, что возбуждение от верхнего цилиндра к нижним передается крайне быстро, за время, не превышающее время междисковой миграции. Для ядер фикобилисом *Synechocystis* 6701 оно оценивается в 11 пс [109]. Степень поляризации излучения вышеупомянутого компонента (15 пс) очень низка. Судя по этому признаку, междисковая миграция охватывает хромофоры аллофикоцианина, имеющие разную пространственную ориентацию.

Два нижних цилиндра ядра отличаются от верхнего тем, что, кроме аллофикоцианина, содержат полипептиды  $\alpha^{APB}$  и  $L_{CM}$ , несущие наиболее длинноволновые хромофоры. Накоплено большое число данных о том, что собственно аллофикоцианин не является конечным акцептором возбуждения [101, 131, 250] и что каждая фикобилисома содержит два подобных акцептора. Во-первых, два долгоживущих кинетических компонента найдено во флуоресценции практически всех исследованных фикобилисом [101, 136, 250, 267]. Их времена жизни составляют соответственно 1000–1300 и 1800–1950 пс. Естественно связать эти факты с наличием в фикобилисомах  $\alpha^{APB}$  и  $L_{CM}$ -полипептидов. Во-вторых, не менее двух длинноволновых компонентов найдено в производных спектрах поглощения и флуоресценции фикобилисом [2, 198]. Следует оговорить, что в производных спектрах целых клеток водорослей полосы поглощения (670–680 нм) и флуоресценции (675–686 нм) этих компонентов совпадают с полосами хлорофилла *a* [12, 15], и по этой причине для дифференциации полос требуются препараты высокоочищенных фикобилисом. Соответствующие производным спектрам полосы можно выявить моделированием спектров флуоресценции гауссовскими компонентами [14]. При возбуждении излучения фикобилисом монохроматическим светом с длиной волны 600 нм, поглощаемым аллофикоцианином, разгорание флуоресценции при 680 нм происходит в течение 50 пс [101]. Время, равное 50 [101] или 65 пс [233], расценивается как необходимое для передачи энергии от аллофикоцианина к конечным акцепторам.

Два конечных канала миграции энергии в фикобилисомах *N. muscorum* выявлены также по различию в спектрах флуоресценции хлорофилла а, воспринимающего в клетке энергию от фикобилипротеинов [4]. При монохроматическом возбуждении при 558 или 571 нм (область поглощения фикоэритрина) в сенсibilизированной флуоресценции хлорофилла а в области 680–720 нм найдены небольшие, но ясно регистрируемые различия. Кроме того, длинноволновые компоненты излучения фикобилисом (678–681 и 686 нм) имеют разную степень поляризации, причем у более длинноволновой полосы степень поляризации выше. Из этого факта сделан вывод о том, что между двумя акцепторами миграция энергии очень мала или отсутствует [198]. Можно заключить, что два концевых пигмента функционируют независимо и возбуждение передается к ним от аллофикоцианина раздельно. Полоса 678–681 нм должна быть приписана  $\alpha$ АРВ-полипептиду, так как из фикобилисом *M. laminosus* получен структурный компонент с максимумом излучения 681 нм, содержащий этот полипептид и не имеющий LСМ-полипептида [135]. Наиболее убедительное доказательство двух каналов миграции энергии – опыты по регистрации производных, разрешенных во времени спектров флуоресценции ядра фикобилисом *A. variabilis* [200]. Благодаря высокой разрешающей способности метода выявлено пять одновременно разгорающихся полос излучения: 660, 666, 673, 680 и 686 нм. Для каждого из них определена последовательность разгорания. Судя по полученным кинетическим кривым, имеются два пути миграции: 660 → 673 → 686 нм и 666 → 680 нм [200]. Первый путь из-за упомянутой выше разницы в степени поляризации излучения является более предпочтительным, поэтому общую схему передачи возбуждения в фикобилисомах можно изобразить так [198]:



Для описания миграции энергии в пигмент-белковых комплексах фотосинтеза используются прежде всего индуктивно-резонансный и экситонный механизмы (см. [5,6]). Выбор механизма зависит от расстояния между хромофорами, участвующими в актах миграции, и ряда других факторов. Для фикобилисом используются обе модели передачи энергии [134, 135, 235,

249]. Расстояния между хромофорными группами фикобилипротеинов, судя по рентгеноструктурным данным, составляют 20-30 Å, что позволяет предполагать сосуществование двух механизмов. Создание полной кинетической модели еще впереди, так как фикобилисома - чрезвычайно сложная система, состоящая из нескольких сот хромофоров. Задача все же облегчается тем, что боковые цилиндры полудисковидных фикобилисом пространственно разобщены и не взаимосвязаны актами миграции, поэтому для достижения возбуждения от любой хромофорной группы фикобилисом к конечным акцепторам требуется не более пяти ступеней миграции [105, 107].

## СПИСОК

### ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Барский Е.Л., Самуилов В.Д., Тан Ц. // Биохимия. - 1987. - 52. - С. 1353-1356.
2. Бекасова О.Д., Муслимов И.А., Красновский А.А. // Мол. биология. - 1984. - 18. - С. 262-271.
3. Бекасова О.Д., Романюк В.А., Звалинский В.И. // Биофизика. - 1981. - 26. - С. 74-79.
4. Бекасова О.Д., Синешекор В.А., Синешекор А.В. // Биофизика. - 1988. - 33. С. 71-76.
5. Борисов А.Ю. // "Биофизика". - 1987. 32.-С. 1046-1061.
6. Векшин Н.Л. // Итоги науки и техники. - ВИНТИ Сер. Радиационная химия. Фотохимия. - 1989. - 7. - С. 176.
7. Гуляев Б.А., Тетенкин В.Л., Бекасова О.Д. // Изв. АН СССР, сер. Биол. - 1981. - № 12. - С. 188-201.
8. Данелиус Р.В., Ерохина Л.Г., Ротомскис Р.И., Шувалов В.А., Борисов А.Ю., Пискараскас А.С. // Биофизика. - 1985. 30. - С. 50-54.
9. Ерохина Л.Г., Шубин Л.М., Красновский А.А. // Физиол. растений. - 1980. - 27 - С. 756-765.
10. Красновский А.А., Евстигнеев В.Б., Брин Г.П., Гаврилова В.А. / Докл. АН СССР. - 1952. - 82, С. 947-950.
11. Лебедев Н.Н., Чан-Ван Ни, Хатынов Р.А., Красновский А.А. // Биофизика. - 1990. - 35.-С. 62-68.
12. Литвин Ф.Ф., Стадничук И.Н., Шубин В.В. // Научн. докл. высшей школы. Биологические науки. - 1976. - № 9. - С. 36-46.

13. Пиневиц А.В. // Труды биол. научн.-иссл. инст. ЛГУ. - 1986. - № 38.-С. 9-59.
14. Синещеков В.А., Муспимов И.А., Бекасова О.Д. // Мол. биология. - 1984. - 18. - С. 447-456.
15. Стадничук И.Н. // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Биол. химия. - 1990. - 40. - С. 193.
16. Шестаков С.В., Жевнер В.Д., Митронова А.М. // В сб. Молекулярные механизмы генетических процессов. "Наука". М. - 1972. - С. 358-363.
17. Шубин Л.М., Бекасова О.Д., Евстигнеев В.Б. // Биофизика. - 1979. - 24. - С. 472-475.
18. Abad-Zapatero C., Fox J.L., Hacket M.L.// Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1977. - 78. - P. 266-272.
19. Algarra P., Thomas J.C., Mousseau A.//Plant Physiol. - 1990.- 92. - P. 570-576.
20. Allen M.M., Smith A.J.// Arch. Microbiol. - 1969. - 69. - P. 114-120.
21. Anderson L.K., Eiserling F.A.// J. Mol. Biol. - 1986. - 191. - P. 441-451.
22. Anderson L.K., Grossman A.R.// J. Bacteriol. - 1990. - 172. - P. 1289-1296.
23. Anderson L.K., Grossman A.R.// J. Bacteriol. - 1990. - 172. - P. 1297-1305.
24. Anderson L.K., Rayner M.C., Eiserling M.C.// Arch. Microbiol.- 1984. - 138. - P. 237-243.
25. Arnold W., Oppenheimer R.R.// J. Gen. Physiol. - 1950. - 33. - P. 423.
26. Belford H.S., Offner G.D., Troxler R.F. // J. Biol. Chem. - 1983. - 238. - P. 4503-4510.
27. Belknap W.R., Haselkorn R.// EMBO J. - 1987. - 6. - P.871-884.
28. Bergeron J.A.// In: Photosynthetic mechanism in green plants. Nat. Acad. Sci. Nat. Res. Counc. Publ. - 1963. - P. 527-536.
29. Bisalputra T.//Bot. Monographs. - 1974. - 10. - P. 124-160.
30. Bourdu R., Lefort M.// C.R. Acad. Sci. (Paris). - 1967. - 265. - P. 37-40.
31. Brody S.S., Porter G., Tredwell C.J., Barber J.// Photobiochem. Photobiophys. - 1981. - 2. - P. 11-14.
32. Brody S.S., Treadwell C., Barber J.// Biophys. J. - 1981. - 34. - P. 439-449.
33. Brody M., Vatter A.E.// J. Biophys. Biochem. Cytol. - 1959.- 5. - P. 289-295.

34. Bryant D. In: Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences Eds T. Platt, W.K.W. Li, Ottawa. - 1986. - P. 423-500.
35. Bryant D.A., Cohen-Bazire G.// Eur. J. Biochem. - 1981. - 119. - P. 415-424.
36. Bryant D.A., Cohen-Bazire G.// Arch. Microbiol. - 1981. - 129. - P. 181-189.
37. Bryant D.A., Guglielmi G., Tandeau de Marsac N., Castets A.M., Cohen-Bazire G.// Arch. Microbiol. - 1979. - 123. - P. 113-127.
38. Bryant D.A., de Lorimier R., Guglielmi G., Stevens S.E.// Arch. Microbiol. - 1990. - 153. - P. 550-560.
39. Bryant D.A., de Lorimier R., Guglielmi G., Stirewalt V.L., Cantrell A., Stevens S.E.// Jr. In: Progr. in Photosynthesis Research. Ed. J. Biggins. - 1987. - 4. - P. 749-755.
40. Bryant D.A., de Lorimier R., Lambert D.H., Dubbs J.M., Stirewalt V.L., Stevens S.E., Porter R.D., Tam J., Jay E.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1985. - 82. - P. 3242-3246.
41. Canaani O., Gantt E.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1982. - 79. - P. 5277-5281.
42. Canaani O., Lipschultz C.A., Gantt E.// FEBS Lett. - 1980. - 115. - P. 225-229.
43. Chao L., Bowen C.C.// J. Bacteriol. - 1971. - 105. - P. 331-338.
44. Chereskin B.M., Clement-Metral D., Gantt E.// Plant Physiol. - 1985. - 77. - P. 626-629.
45. Chereskin B.M., Gantt E.// Plant Cell Physiol. - 1986. - 27. - P. 751-754.
46. Clement-Metral J.D., Gantt E.// FEBS Lett. - 1983. - 156. - P. 185-188.
47. Clement-Metral J.D., Gantt E., Readlinger T.// Arch. Biochem. Biophys. - 1985. - 238. - P. 10-17.
48. Cohen-Bazire G., Lefort-Tran M.// Arch. Mikrobiol. - 1970. - 71. - P. 245-257.
49. Cohen-Bazire G., Bryant D.A.// Botanical Monographs, Second Ed. - 1982. - 19. - P. 143-189.
50. Conley P.B., Lemaux P.G., Grossman A.R.// Science. - 1985. - 230. - P. 550-553.
51. Conley P.B., Lemaux P.G., Grossman A.R.// J. Mol. Biol. - 1988. - 199. - P. 447-465.
52. Conley P.B., Lemaux P.G., Lomax T.L., Grossman A.R.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1986. - 83. - P. 3924-3928.
53. Dilworth M.F., Gantt E.// Plant Physiol. - 1981. - 67. - P. 608-612.

54. Duerring M., Huber R., Bode W., Ruembelli R., Zuber H.// J. Mol. Biol. - 1990. - 211. - P. 633-644.
55. Duke C.S., Cezeaux A., Allen M.M.// J. Bacteriol. - 1989. - 171. - P. 1960-1966.
56. Duysens L.N.M.// Nature. - 1951. - 168. - P. 548-550.
57. Eberlein M., Kufer W.// Gene. - 1990. - 94. - P. 133-136.
58. Edwards M.R., Berns D.S., Ghiorse W.C., Holt S.C.// J. Physiol. - 1968. - 4. - P. 283-298.
59. Edwards M.R., Gantt E.// J. Cell Biol. - 1971. - 50. - P. 896-900.
60. Egelhoff T., Grossman A.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1983. - 80. - P. 3339-3343.
61. Eley J.H.// Plant Cell Physiol. - 1971. - 12. - P. 311-316.
62. Elmorjanni K., Thomas J.-C., Sebban P.// Arch. Microbiol. - 1986. - 146. - P. 186-191.
63. Emerson R., Lewis C.M.// J. Gen. Physiol. - 1942. - 25. - P. 579-595.
64. Engelman T.W.// Bot. Zeitung. - 1881. - 39. - S. 441-448.
65. Engelman T.W.// Bot. Zeitung. - 1884. - 42. - S. 81-93.
66. England R.R., Evans E.H.// FEBS Lett. - 1981. - 134. - P. 175-177.
67. Evans E.L., Allen M.M.// J. Bacteriol. - 1970. - 113. - P. 403-408.
68. Federspiel N.A., Grossman A.R.// J. Bacteriol. - 1990. - 172. - P. 4072-4081.
69. Frackowiak D., Erokhina L.G., Balter A., Lorrain L., Szurkowski J., Szych B.// Biochim. Biophys. Acta. - 1986. - 851. - P. 173-180.
70. Frackowiak D., Erokhina L.G., Picard G., Leblanc R.M.// Photochem. Photobiol. - 1987. - 46. - P. 277-285.
71. Frackowiak D., Gantt E., Hotchandani S., Lipschultz C.A., Leblanc R.M.// Photochem. Photobiol. - 1986. - 43. - P. 335-337.
72. Frackowiak D., Grabowski J.// Photosynthetica. - 1970. - 4. - P. 236-242.
73. Frackowiak D., Niedbalski M., Ceglinski R., Romanovski M., Erokhina L.G.// Photosynthetica. - 1990. - 24. - P. 201-208.
74. French C.S., Young V.K.// J. Gen. Physiol. - 1952. - 35. - P. 373-390.
75. Fuglistaller P., Mimuro M., Suter F., Zuber H.// Hoppe-Seyler's Z. Biol. Chem. - 1987. - 368. - P. 353-367.

76. Fuglistaller P., Rübelli R., Suter F., Zuber H.// Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. - 1984. - 365. - P. 1085-1096.
77. Fuglistaller P., Rübelli R., Suter F., Zuber H.//Experientia. - 1985. - 41. - P. 800.
78. Fuglistaller P., Suter F., Zuber H.// Hoppe-Seyler's Z. Biol. Chem. - 1985. - 366. - P. 993-1001.
79. Fuglistaller P., Suter F., Zabee H.// Hoppe-Seyler's Z. Biol. Chem. - 1986. - 367. - P. 601-614.
80. Fuglistaller P., Suter F., Zuber H.//Hoppe-Seyler's Z. Biol. Chem. - 1986. - 367. - P. 615-626.
81. Gagliano A.G., Hoarau J., Breton J., Geacintov N.E.//Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - 808. - P. 455-463.
82. Gantt E.// Int. Rev. Cytol. - 1980. - 66. - P. 45-80.
83. Gantt E.// Annual Rev. Plant. Physiol. - 1981. - 32, - P. 327-347.
84. Gantt E., Conti S.F.// J. Cell Biol. - 1965. - 26. - P. 365-381.
85. Gantt E., Conti S.F.// Brookhaven Symp. Biol. - 1966. - No.19.- P. 393-405.
86. Gantt E., Conti S.F.// J. Cell Biol. - 1966. - 29. - P.423-444.
87. Gantt E., Conti S.F.// J. Bacteriol. - 1969. - 97. - P. 1486-1493.
88. Gantt E., Cunningham F.X., Jr., Lipschultz C.A., Mimuro M.// Plant Physiol. - 1988. - 86. - P. 996-998.
89. Gantt E., Edwards M.R., Conti S.F.// J. Phycol. - 1968. - 4. - P. 65-71.
90. Gantt E., Lipschultz C.A.// J. Cell Biol. - 1972. - 54. - P.313-324.
91. Gantt E., Lipschultz C.A.// Biochim. Biophys. Acta. - 1973. - 292. - P. 858-861.
92. Gantt E., Lipschultz C.A.//Biochemistry. - 1974. - 13. - P. 2960-2966.
93. Gantt E., Lipschultz C.A.// J. Phycol. - 1977. - 13. - P.185-192.
94. Gantt E., Lipschultz C.A.// J. Phycol. - 1980. - 16. - P. 394-398.
95. Gantt E., Lipschultz C.A., Cunningham F.X., Jr.// In: Photo-synthetic light-harvesting systems. Structure and function. Eds. H. Scheer, S. Schneider, Walter de Gruyter and Co., Berlin. - 1988.
96. Gantt E., Lipschultz C.A., Grabowski J., Zimmerman B.K.// Plant Physiol. - 1979. - 63. - P. 615-620.

97. Gantt E., Lipschultz C.A., Zilinskas B. // Biochim. Biophys. Acta. - 1976. - 430. - P. 375-388.
98. Gantt E., Scott J., Lipschultz C.A. // J. Phycol. - 1986. - 22, 480-484.
99. Giddings T.H., Jr., Staehelin L.A. // Biochim. Biophys. Acta. - 1979. - 546. - P. 373-382.
100. Gillbro T., Sandström A., Sundström V., Holzwarth R. // FEBS Lett. - 1983. - 162. - P. 64-68.
101. Gillbro T., Sandström A., Sundström V., Wendler J., Holzwarth A.R. // Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - 808. - P. 52-65.
102. Gingrich J.C., Blaha L.K., Glazer A.N. // J. Cell. Biol. - 1982. - 92. - P. 261-268.
103. Gingrich J.C., Williams R.C., Glazer A.N. // J. Cell. Biol. - 1982. - 95. - P. 170-178.
104. Glazer A.N. // Annual Rev. Microbiol. - 1982. - 16. - P. 173-198.
105. Glazer A.N. // Biochim. Biophys. Acta. - 1984. - 768. - P. 29-51.
106. Glazer A.N. // Meth. Enzymol. - 1988. - 167. - P. 291-312.
107. Glazer A.N. // J. Biol. Chem. - 1989. - 264. - P. 1-4.
108. Glazer A.N., Bryant D.A. // Arch. Microbiol. - 1975. - 104. - P. 15-22.
109. Glazer A.N., Chan C., Williams R.C., Yeh S.W., Clark J.H. // Science. - 1985. - 230. - P. 1051-1053.
110. Glazer A.N., Clark J.H. // Biophys. J. - 1986. - 49. - P. 115-116.
111. Glazer A.N., Gingrich J.C., Lundell D.J. // J. Cell Biochem. Suppl. - 1983. - 7B. - P. 305.
112. Glazer A.N., Lundell D.J., Yamanaka G., Williams R.C. // Ann. Microbiol. Inst. Pasteur. - 1983. - 134B. - P. 159-180.
113. Glazer A.N., Williams R.C., Yamanaka G., Schachman H.K. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1979. - 76. - P. 6162-6166.
114. Yeh S.W., Webb S.P., Clark J.H. // Science. - 1985. - 227. - P. 419-423.
115. Glick R.E., Zilinskas B.A. // Plant Physiol. - 1982. - 69. - P. 991-997.
116. Goedheer R. // Photosynthetica. - 1976. - 10. - P. 411-422.
117. Grabowski J., Frackowiak D. // Photosynthetica. - 1972. - 6. - P. 142-149.
118. Grabowski J., Gantt E. // Photochem. Photobiol. - 1978. - 28. - P. 39-46.
119. Grabowski J., Gantt E. // Photochem. Photobiol. - 1978. - 28. - P. 47-54.

120. Gray B.H., Gantt E.// Photochem. Photobiol. - 1975. - 21. - P. 121-128.
121. Gray B.H., Lipschultz C.A., Gantt E.// J. Bacteriol. - 1973. - 116. - P. 471-478.
122. Grigorieva G.R., Shestakov S.V.// FEMS Microbiol. Lett. - 1982. - 13. - P. 367-370.
123. Grossman A.R.// Plant Cell Envir. - 1990. - 13. - P. 651-666.
124. Grossman A.R., Lemaux P.G., Conley P.B.// Photochem. Photobiol. - 1986. - 44. - P. 427-437.
125. Grossman A.R., Lemaux P.G., Conley P.B.// Photosynth. Research. - 1988. - 17. - P. 32-56.
126. Guerin-Dumartrait E., Sarda C., Lacourly A.// C.R. Acad. Sci. (Paris). - 1970. - 270. - P. 1977-1979.
127. Guglielmi G., Cohen-Bazire G., Bryant D.A.// Arch. Microbiol. - 1981. - 129. - P. 181-189.
128. Guglielmi G., Cohen-Bazire G.// Protistologica. - 1985. - 20. - 393-413.
129. Haxo F.T., Blinks L.R.// J. Gen. Physiol. - 1950. - 33. - P. 389-422.
130. Haxo F.T., Norris P.S.// Biol. Bull. - 1953. - 105. - P. 374.
131. Hefferle P., Nies M., Wehrmeyer W., Schneider S.// Photobioc hem. Photobiophys. - 1983. - 5. - P. 41-51.
132. Hefferle P., Nies M., Wehrmeyer W., Schneider S.// Photobioc hem. Photobiophys. - 1983. - 5. - P. 325-334.
133. Hiller R.G., Post A., Stewart A.C.// FEBS Lett. - 1983. - 156. - P. 180-184.
134. Holzwarth A.R.// Photochem. Photobiol. - 1986. - 43. - P. 707-725.
135. Holzwarth A.R., Bittersma E., Reuter W., Wehrmeyer W.// Bio-phys. J. - 1990. - 57. - P. 133-145.
136. Holzwarth A.R., Wendler J., Wehrmeyer W.// Photochem. Photobiol. - 1982. - 36. - P. 479-487.
137. Houmard J., Capuano V., Cousin T., Tandeau de Marsac N.// J. Bacteriol. - 1988. - 170. - P. 5512-5521.
138. Houmard J., Capuano V., Cousin T., Tandeau de Marsac N.// Mol. Microbiol. - 1988. - 2. - P. 101-107.
139. Houmard J., Capuano V., Colombani M.V., Coursin T., Tandeau de Marsac N.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1990. - 87. - P. 2152-2156.
140. Houmard J., Mazel D., Moguet C., Bryant D.A., Tandeau de Marsac N.// Mol. Gen. Genetics. - 1986. - 205. - P. 404-410.
141. Hsu B.D.// Plant Science. - 1988. - 55. - P. 199-203.

142. Huber R.// *Angew. Chemie.* - 1989. - H. 7. - P. 849-871.
143. Inoue H., Kaneko M., Kitamura T.// *Photosynthetica.* - 1987.-  
21. - P. 591-594.
144. Isono T., Katoh T.// *Plant Cell Physiol.* - 1982. - 23. -  
P. 1347-1355.
145. Isono T., Katoh T.// *Plant Cell Physiol.* - 1983. - 24. -  
P. 357-368.
146. Isono T., Katoh T.// *Arch. Biochem.* - 1987. - 256. - P. 317-  
324.
147. Johnson T.R., Haynes J.J., Wealand J.I., Yarbough L. R.,  
Hirschberg R.// *J. Bacteriol.* - 1988. - 170. - P. 1858-1865.
148. Kalla S.R., Lind L.K., Lidholm J., Gustafsson P.// *J. Bacteri-  
ol.* - 1988. - 170. - P. 2961- 2970.
149. Kalla R., Lind L.K., Gustaffson P.// *Mol. Microbiol.* - 1989. --  
3. - P. 339-347.
150. Katoh T.// *Meth. Enzymol.* - 1988. - 167. - P. 313 -318.
151. Katoh T., Gantt E.// *Biochim. Biophys. Acta.* - 1979. - 546. -  
P. 383-393.
152. Ke B., Fang Z.-X., Lu R.-Z.// *Photobiochem. Photobio-  
phys.* - 1983. - 6. - P. 25-31.
153. Kessel M., MacCol R., Berns D.S., Edwards M.R.// *Can. J. Mic-  
robiol.* - 1973. - 19. - P. 831-836.
154. Khanna R., Graham J.-B., Myers J., Gantt E.// *Arch. Biochem.  
Biophys.* - 1983. - 224. - P. 534-543.
155. Kirilovsky D., Kessel M., Ohad J.// *Biochim. Biophys. Acta.* -  
1983. - 724. - P. 416-4 26.
156. Kirilovsky D., Ohad J.// *J. Biol. Chem.* - 1986. - 261. -  
P. 2317-2323.
157. Koller K.-P., Wehrmeyer W., Mörchel E.// *Eur. J. Biochem.*  
- 1978. - 91. - P. 57-63.
158. Koller K.-P., Wehrmeyer W.// *Arch. Microbiol.* - 1974. - 100. -  
P. 253-270.
159. Kume N., Katoh T.// *Plant Cell Physiol.* - 1982. - 23. -  
P. 803-812.
160. Kurahotta M., Satoh K., Katoh S.// *Arch. Biochem.* - 1986. -  
249. - P. 1-7.
161. Kursar T.A., Alberte R.S.// *Plant Physiol.* - 1983. - 72. -  
P. 409-4 14.
162. Kursar T.A., Van der Meer J., Alberte R.S.// *Plant Physiol.* -  
1983. - 73. - P. 361-369.
163. Lau R.H., Blakeley S.D., Alvarado-Urbina G., Bailly J. E.,  
Condie J.A., Lau P.C.K.// *Gene.* - 1989. - 80. - P. 375-380.

164. Lay R.H., Mackenzie M.M., Doolittle W.F.//J. Bacteriol. - 1977.-  
132. - P. 771-778.
165. Lee J.J., Berns D.S.//Biochem. J. - 1968. - 110. - P. 457-464.
166. Lefort-Tran M., Cohen-Bazire G., Pouphe M.J.// Ultrastruct.  
Res. - 1973. - 44. - P. 199-209.
167. Lemaux P.G., Grossman A.R.//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1984.-  
81. - P. 4100-4104.
168. Ley A.C.// Plant Physiol. - 1984. - 74. - P. 451-454.
169. Lichtle C.// C.R. Acad. Sci. (Paris). - 1973. - 277. -  
P. 1865-1868.
170. Lichtle C.//Ph.D. Thesis. Universite Pierre et Marie Curie.  
Paris. - 1974.
171. Lichtle C., Giraud G. // J. Phycol. - 1970. - 6. - P. 281-289.
172. Lichtle C., Thomas J.C. // Phycologia. - 1976. - 15. -  
P. 393-401.
173. Lind L.K., Kalla S.R., Lönneborg A., Öquist G., Gustafs-  
son P.// Fed. Europ. Biochem. Soc. Lett. - 1985. - 188. -  
P. 27-32.
174. Lipschultz C.A., Gantt E.// Biochemistry. - 1981. - 20. -  
P. 3371-3376.
175. Lomax T.L., Conley P.B., Schilling J., Grossman A.R. // J.  
Bacteriol. - 1987. - 169. - P. 2675-2684.
176. deLorimier R., Bryant D.A., Porter R.D., Liu W.Y., Stevens S.E.  
//Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 1984. - 81. - P. 7946-7950.
177. deLorimier R., Guglielmi G., Bryant D.A., Stevens S.E.// Arch.  
Microbiol. - 1990. - 153. - P. 541-549.
178. deLorimier R., Bryant D.A., Stevens S.E.// Biochim. Biophys.  
Acta. - 1990. - 1019. - P. 29-41.
179. Lu R.-Z., Yu Y.L.// Photosynthetica. - 1986. - 20. - P.397-  
400.
180. Lundell D.J., Glazer A.N.//J. Biol. Chem. - 1981. - 256. -  
P. 12600-12606.
181. Lundell D.J., Glazer A.N.// J. Biol. Chem. - 1983. - 258. -  
P. 894-901.
182. Lundell D.J., Glazer A.N.// J. Biol. Chem. - 1983. - 258. -  
P. 902-908.
183. Lundell D.J., Glazer A.N.// J. Biol. Chem. - 1983. - 258. -  
P. 8708-8713.
184. Lundell D.J., Williams R.C., Glazer A.N.// J. Biol. Chem. -  
1981. - P. 256, 3586-3592.
185. Lundell D.J., Yamanaka G., Glazer A.N. //J. Cell Biol. -  
1981. - 91. - P. 315-319.

186. MacColl R., Guard-Friar D.// Phycobiliproteins. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. - 1987. - P. 218.
187. Manodori A., Alhadeft M., Glazer A.N., Melis A.//Arch. Microbiol.- 1984. - 139. - P. 117-123.
188. Manodori A., Melis A.//FEBS Lett. - 1985. - P. 79-82.
189. Mazel D., Houmard J., Tandeau de Marsac N.// Mol. Gen. Genet. - 1988. - 211. - P. 296-304.
190. Mazel D., Marlière P.// Nature. - 1989. - 341. - P. 245-248.
191. Melis A.// Phil. Trans. R. Soc. London. - 1989. - 323. - P. 397-409.
192. Menon V.K.N., Kumar A., Menon A.L., Varma A.K.// Analyt. Biochem. - 1988. - 172. - P. 377-381.
193. Mimuro M., Fujita J.// In: Photosynthetic Organelles. Spec. Issue Plant Cell Physiol. - 1977. - No. 3. - P. 23-31.
194. Mimuro M., Fujita Y.// Biochim. Biophys. Acta. - 1977. - 459. - P. 376-389.
195. Mimuro M., Fujita Y.//Biochim. Biophys. Acta. - 1978. - 504. - P. 406-412.
196. Mimuro M., Gantt E. Photosynth. Research. - 1987. - 10. - P. 201-208.
197. Mimuro M., Gantt E.// Plant Cell Physiol. - 1988. - 29. - P. 897-900.
198. Mimuro M., Lipschultz C.A., Gantt E.// Biochim. Biophys. Acta.- 1986. - 852. - P. 126-136.
199. Mimuro M., Yamazaki J., Muraio K., Yoshihara K., Fujita Y.// Adv. Photosynth. Research. - 1984. - 1. - P. 21-28.
200. Mimuro M., Yamazaki J., Tamai N., Katoh T.//Biochim. Biophys. Acta. - 1989. - 973. - P. 153-162.
201. Mimuro M., Yamazaki J., Yamazaki T., Fujita Y.//Photochem. Photobiol. - 1985. - 41. - P. 597-5603.
202. Mohanty P., Hoshina S., Fork D.C.// Photochem. Photobiol. - 1985. - 41. - P. 589-596.
203. Mörschel E.// Planta. - 1982. - 154. - P. 251-258.
204. Mörschel E., Koller K.-P., Wehrmeyer W., Schneider H.//Cytobiologie. - 1977. - 16. - P. 118-129.
205. Mörschel E., Muhlethaler K.// Planta. - 1983. - 158. - P.451-457.
206. Mörschel E., Rhiel E.// In: Electron microscopy of proteins. Vol. 6, Membranous structures. Eds. G.R. Harris, R.W. Horne.- 1987. - P. 210-254.
207. Mörschel E., Schatz G.H.// Planta. - 1987. - 172. - P.145-154.

208. Mörschel E., Wehrmeyer W., Koller K. - P. // Eur. J. Cell Biology, - 1980. - 21. - P. 319-327.
209. Nash D., Miyao M., Murata N. // Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - 807. - P. 127-133.
210. Neuschul M. // Am. J. Botany. - 1970. - 57. - P. 1231-1239.
211. Nies M., Wehrmeyer W. // Planta. - 1980. - 150. - P. 330-337.
212. Nies M., Wehrmeyer W. // Arch. Microbiol. - 1981. - 129. - P. 374-379.
213. Ohki K., Okabe Y., Murakami A., Fujita Y. // Plant Cell Physiol., - 1987. - 28. - P. 1219-1226.
214. Oquist G. // Physiol. Plantarum. - 1974. - 30. - P. 45-48.
215. Pakrasi H.B., Sherman L.A. // Plant Physiol. - 1984. - 74. - P. 742-745.
216. Pastore A., Lesk A.M. // Proteins. - 1990. - 8. - P. 133-155.
217. Pellegrino F., Wong D., Alfano R.R., Zilinskas B.A. Photochem. Photobiol. // 1981. - 34. - P. 691-696.
218. Peyrière M. // C.R. Acad. Sci. (Paris). - 1968. - 266. - P. 2253-2255.
219. Pilot T.J., Fox J.L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1984. - 81. - P. 6983-6987.
220. Porter G., Tredwell C.J., Searle G.F.W., Barber J. // Biochim. Biophys. Acta. - 1978. - 501. - P. 232-245.
221. Raps S. // Plant Physiol. - 1990. - 92. - P. 358-362.
222. Raps S., Kycia J.H., Ledbetter M.C., Siegelman H.W. // Plant Physiol. - 1985. - 79. - P. 983-987.
223. Redlinger T., Gantt E. // Plant Physiol. - 1981. - 68. - P. 1375-1379.
224. Reuter W., Nickel C., Wehrmeyer W. // FEBS Lett. - 1990. - 273. - P. 155-158.
225. Reuter W., Wehrmeyer W. // Arch. Microbiol. - 1988. - 150. - P. 534-540.
226. Reuter W., Wehrmeyer W. // Arch. Microbiol. - 1990. - 153. - P. 111-117.
227. Rijgersberg C. P., Amesz J. // Biochim. Biophys. Acta. - 1980. - 593. - P. 261-271.
228. Rippka R., Waterbury Y., Cohen-Bazire L. // Arch. Microbiol. - 1974. - 100. - P. 419-436.
229. Rongzhao L., Yahli Y. // Photosynthetica. - 1986. - 19. - P. 573-577.
230. Rosinski J., Hainfeld J.F., Rigbi M., Siegelman H.W. // Ann. Bot., - 1981. - 47. - P. 1-12.

231. Rumbeli R., Wirth M., Suter F., Zuber H.// Hoppe-Seyler's Z. Biol. Chem. - 1987. - 368. - P. 1-9.
232. Rusckowski M., Zilinskas B.// Plant Physiol. - 1982. - 70. - P. 1055-1059.
233. Sandström A., Gillbro T., Sundström V., Wendler J., Holzwarth A.R.// Biochim. Biophys. Acta. - 1988. - 933. - P. 54-64.
234. Sauer K., Scheer H.// In: Photosynthetic Light Harvesting systems, Eds H. Scheer, R. Schneider, de Gruyter, Berlin. - 1988. - P. 507-511.
235. Sauer K., Scheer H., Sauer P.// Photochem. Photobiol. - 1987. - 46. - P. 427-440.
236. Schatz G.H., Witt H.T.// Photobiochem. Photobiophys. - 1984. - 7. - P. 1-14.
237. Schirmer T., Huber R., Schneider M., Bode W., Miller M., Hackett L.// J. Mol. Biol. - 1986. - 133. - P. 651-676.
238. Schneider S., Geiselhart P., Mindl T.// In: Optical properties of tetrapyrroles. Eds. G. Blauer, H. Sund, Berlin, New York, de Gruyter. - 1985. - P. 383-395.
239. Schneider S., Geiselhart P., Mindl T., Dörr F., John W., Fischer R., Scheer H.// In: Antennas and reaction Centers of photosynthetic bacteria, Ed. M.EE. Michel-Beyerle, Springer, Berlin. - 1985. - P. 26-35.
240. Schreiber U., Vidaver W.// Photochem. Photobiol. - 1973. - 18. - P. 205-208.
241. Schreiber U., Rijgersberg C.P., Amesz J.// FEBS Lett. - 1979. - 104. - P. 327-331.
242. Schreiber U.// FEBS Lett. - 1979. 107. - P. 4-9.
243. Searle G.F.W., Barber J., Porter G., Tredwell C.J.// Biochim. Biophys. Acta, - 1978. - 501. - P. 246-256.
244. Sheath R.G., Hellebust J.A., Sawa T.T.// Phycologia. - 1977. - 16. - P. 265-276.
245. Shestakov S.V., Khyen N.T.// Mol. Gen. Genetic. - 1970. - 107. - P. 372-375.
246. Siegelman H.W., Kycia J.H.// Plant Physiol. - 1982. - 70. - P. 887-897.
247. Stadnichuk I.N., Romanova N.I., Selyakh I.O.// Arch. Microbiol. - 1985. - 143. - P. 20-25.
248. Stewart A.C., Bendall D.A.// FEBS Lett. - 1979. - 107. - P. 308-312.
249. Suter G.W., Holzwarth A.R.// Biophys. J. - 1987. - 52. - P. 673-683.
250. Suter G.W., Mazzola P., Wendler J., Holzwarth A.R.// Biochim. Biophys. Acta. - 1984. - 766. - P. 269-276.

251. Suter F., Füglistaller P., Lundell D.J., Glazer A.N., Zuber H.  
// *FEBS Lett.* - 1987. - 217. - P. 279-282.
252. Swanson R.V., Glazer A.N.// *J. Mol. Biol.* - 1990. - 214. -  
P. 787-796.
253. Swingle S.M., Tiselius A.// *Biochem. J.* - 1951. - 48. -  
P. 171-174.
254. Tandeau de Marsac N., Cohen-Bazire G.// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1977. - 74. - C. 1635-1639.
255. Tandeau de Marsac N., Mazel D., Damerval T., Guglielmi G., Capuano V., Houmard J.// *Photosynth. Research.* - 1988. -  
No. 1-2. - P. 99-132.
256. Thomas J.C.// *C.R. Acad. Sci. (Paris).* - 1972. - 274. -  
P. 2485-2488.
257. Tomita G., Rabinovich E.// *Biophys. J.* - 1962. - 2. -  
P. 483-499.
258. Troxler R.F., Greenwald L.S., Zilinskas B.A.// *J. Biol. Chem.*,  
- 1980. - 255. - P. 9380-9387.
259. Vierling E., Alberte R.S.// *Physiol. Plant.* - 1980. - 50. -  
P. 93-98.
260. Waaland J.R., Waaland S.D., Bates G.// *J. Phycol.* - 1974. -  
10. - P. 193-199.
261. Wanner G., Köst H.-P.// *Protoplasma.* - 1980. - 102. -  
P. 97-109.
262. Watson B.A., Waaland S.D., Waaland J.R.// *Biochemistry.* -  
1986. - 25. - P. 4583-4587.
263. Wehrmeyer W.// In: *Photosynthetic Prokaryotes: Cell Differentiation and Function*, Eds G.C. Papageorgiou, L. Packer, Elsevier, New York. - 1983. - P. 1-22.
264. Wehrmeyer W., Schneider S.// *Biochem. Physiol. Pflanzen.* -  
1975. - 168. - P. 519-532.
265. Wehrmeyer W., Wendler J., Holzwarth A.R.// *J. Cell Biol.*,  
- 1985. - 36. - P. 17-23.
266. Wehrmeyer W., Zimmerman C., Ohki K., Fujita Y.// *J. Cell Biol.* - 1988. - 46. - P. 539-546.
267. Wendler J., Holzwarth A.R., Wehrmeyer W.// *Biochim. Biophys. Acta*, - 1984. - 765. - P. 58-67.
268. Wildman R.B., Bowen C.C.// *J. Bacteriol.* - 1974. - 117. -  
P. 866-881.
269. Williams R.B., Gingrich J.C., Glazer A.N.// *J. Cell Biol.* -  
1980. - 85. - P. 558-566.
270. Wollman F.-A.// *Plant Physiol.* - 1979. - 63. - P. 375-381.
271. Yamanaka G., Glazer A.N.// *Arch. Microbiol.* - 1980. - 124. -  
P. 39-47.

272. Yamanaka G., Glazer A.N.// Arch. Microbiol. - 1981. - 130. - P. 23-30.
273. Yamanaka G., Glazer A.N., Williams R.C.// J. Biol. Chem. - 1978. - 253. - P. 8303-8310.
274. Yamanaka G., Glazer A.N., Williams R.C.// J. Biol. Chem. - 1980. - 255. - P. 1104-11010.
275. Yamanaka G., Lundell D.J., Glazer A.N.// J. Biol. Chem. - 1982. - P. 4077-4086.
276. Yamazaki J., Mimuro M., Murao T., Yamazaki T., Yoshihara K., Fujita Y.// Photochem. Photobiol. - 1984. - 39. - P. 233-240.
277. Yu M.-H., Glazer A.N.// J. Biol. Chem. - 1982. - 257. - P. 3429-3433.
278. Yu M.-H., Glazer A.N., Williams R.C.// J. Biol. Chem. - 1981.- 256. - P. 13130-13136.
279. Zilinskas B.A.// Plant Physiology. - 1982. - 70. - P. 1060-1065.
280. Zilinskas B.A., Greenwald L.S., Bailey C.L., Kahn P.C.// Biochim. Biophys. Acta. - 1980. - 592. - P. 267-276.
281. Zilinskas B.A., Howell D.A.// Plant Physiol. - 1983. - 71. - P. 379-387.
282. Zilinskas B.A., Zimmerman B.K., Gantt E.// Photochem. Photobiol., -1978.-27.- P. 587-595.

## 2. МИНЕРАЛЬНЫЕ РЕСУРСЫ КЛЕТОК И ФИКОБИЛИСОМЫ; ФИКОБИЛИПРОТЕИНЫ В СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ

### 2.1. Минеральное питание

Сине-зеленые и красные водоросли – фотоавтотрофы, поэтому, для поддержания жизнедеятельности клеток им необходим строительный материал в виде  $\text{CO}_2$ , минерального азота, фосфора и ряда других, используемых в меньших количествах соединений. Ограничение тех или иных жизненных ресурсов непосредственно отражается на физиологическом состоянии и интенсивности обменных процессов.

Фикобилисомы как светопоглощающая часть фотосинтетического аппарата находятся под регуляторным воздействием света. С другой стороны, включая в себя до 60% водорастворимого белка клеток, фикобилисомы более других компонентов должны зависеть от источников усвояемого азота и других метаболических ресурсов.

Из-за трудностей лабораторного культивирования красных водорослей, являющихся почти исключительно морскими организмами, влияние перечисленных факторов на фикобилисомы исследовалось преимущественно на цианобактериях. У этих микроорганизмов содержание фикобилипротеинов, как и целого ряда других соединений, характеризуется широкой нормой реакции на физиологические условия (см. [66]). Достичь оптимума биосинтеза сразу многих метаболитов не удастся. Например, насытив среду выращивания азотом и углеродом, можно увеличить выход биомассы *Nostoc* sp. от 13,5 до 20,1 г/л [110], однако при этом содержание фикобилипротеинов, одного из основных потребителей двух этих элементов, падает в пересчете на сухую массу в полтора раза. Во всех известных случаях нехватка минеральных ресурсов (азота, железа, фосфора, углекислого газа, серы и др.) приводит к уменьшению количества фикобилипротеинов в клетке, деградации и даже полному исчезновению фикобилисом [26, 132]. Недостаток минерального питания ведет к хлорозу растительных клеток. Это явление, сопровождающееся утратой хлорофилла, давно известно у высших растений.

Любые воздействия на хлорофилл и мембраны хлоропластов будут, очевидно, сказываться и на фикобилисомах, так как они в клетках прикреплены к тилакоидным мембранам. В условиях минерального голодания фикобилипротеины ранее других пиг-

ментов начинают исчезать из клеток, в то время как тилакоиды, содержащие каротиноиды и хлорофилл, еще не претерпевают изменений. Наступает деградация и в конечном итоге полное исчезновение фикобилисом. Жизнеспособность клеток сохраняется, поэтому число фикобилисом восстанавливается при усилении минерального питания.

### 2.1.1. Влияние азотного голодания

Нитраты и отчасти нитриты – тот ресурс минерального азота, который в наибольшей степени усваивается растительными организмами. Кроме того, известно, что часть видов почвенных цианобактерий способна к усвоению молекулярного азота.

Нехватка азотного питания затрагивает все процессы обмена и быстро сказывается на физиологическом состоянии растительной клетки, поэтому очень важно и интересно выявить влияние этого дефицита на метаболизм фикобилипротеинов.

Еще в 1969 г. было показано [11], что полная утрата клетками цианобактерий источников усвояемого азота вызывает быструю и практически полную потерю спектрально регистрируемого C-фикоцианина, в то время как содержание хлорофилла и каротиноидов остается неизменным. Если культуры находятся на логарифмической стадии роста, то при снижении количества фикобилипротеинов на единицу объема клеточной суспензии накопление каротиноидов и хлорофилла даже продолжается. В этих условиях введение в среду выращивания радиоактивного  $^{14}\text{C}$ -лейцина привело к активному включению аминокислоты в белки клетки, однако в составе C-фикоцианина радиоактивная метка не обнаруживалась. Очевидно, при азотном голодании идет не только специфический протеолиз белков фикобилисом, но и избирательное подавление их синтеза.

Убыль фикобилисом у *Aphanocapsa* 6308 начинается практически одновременно с переносом клеток на среду, лишенную минерального азота, и после 40 ч азотного голодания потери фикобилисом превышают 60% [9] (Рис. 28). Ресинтез же фикобилисом после восстановления уровня азота в среде нуждается в определенном лаг-периоде, составляющем в физиологических условиях 10–15 ч [11]. Последовательность процесса разрушения фикобилисом рассмотрена у цианобактерии *Synechococcus* 6301 [142]. Прежде всего из клеток исчезает небольшая (5% белка фикобилисом) фракция свободных фикобилипротеинов. На начальной стадии (не более суток после помещения клеток

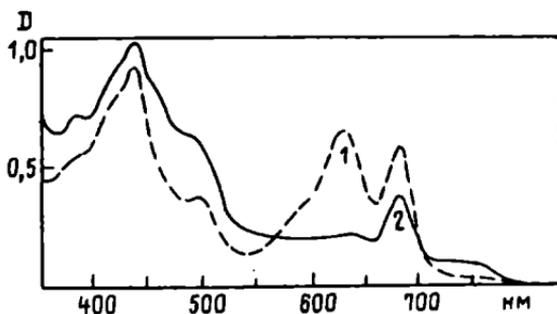


Рис. 28. Влияние азотного голодания на спектр поглощения клеток цианобактерии *Anacystis nidulans*; (1) контроль; (2) голодающие клетки, 39°С [50]

на среду, лишенную азота) происходит снижение коэффициента седиментации фикобилизом в градиенте плотности сахарозы, причем профиль седиментации становится более диффузным, что свидетельствует об уменьшении размеров этих частиц и увеличении степени их гетерогенности. Уменьшение размеров происходит за счет протеолиза С-фикоцианина, о чем свидетельствуют длинноволновый сдвиг максимума флуоресценции от 673 до 676 нм и увеличение доли аллофикоцианина в спектре поглощения фикобилизом. Параллельно С-фикоцианину исчезают соответствующие пинкерные полипептиды. В опытах по получению антител к каждой из двух белковых субъединиц С-фикоцианина выяснено, что азотное голодание клеток ведет к одновременной и координированной потере обеих субъединиц этого фикобилипротеина [71]. К концу третьих суток голодания содержание пигмента падает в 30 раз. Остающийся к этому сроку в клетке С-фикоцианин эффективно участвует в передаче энергии хлорофиллу, поэтому пигмент не распределен диффузно в цитоплазме, но по-прежнему находится в фикобилизоме, а точнее, в их "остатках".

В завершение процесса полностью исчезают фикобилизомы и L<sub>СМ</sub>-полипептиды, необходимые для связывания фикобилизом с мембранами тилакоидов. Преимущественное исчезновение С-фикоцианина хорошо согласуется с особенностями строения фикобилизом. Пигмент располагается в их периферической части, более доступной протеолитическим ферментам, поэтому сначала частичная, а потом все более полная потеря С-фикоцианина не сказывается на эффективности миграции энергии от оставшейся части фикобилипротеинов к хлорофиллу. Аллофикоцианиновое ядро фикобилизом, прикрепленное к мембране тилакоидов,

разрушается в последнюю очередь. Специфический протеолиз белков при азотном голодании – существенное отличие этого процесса от хроматической адаптации (см. разд. 3), при которой исчезновение С-фикоэритрина или С-фикоцианина из состава фикобилисом объясняется лишь блокированием синтеза и "разбавлением" пигментов при делении клеток.

Механизм запуска реакций, приводящих к быстрому и эффективному разрушению фикобилисом, остается пока не ясен. Очевидно, что азотное голодание индуцирует синтез протеазы или протеаз, специфичных к белкам фикобилисом. Описан протеолитический фермент, расщепляющий С-фикоцианин и активируемый или синтезируемый во время азотного голодания [42, 136]. Интересно, что внесение глюкозы в культуру *Synechocystis* PCC 6803, находящуюся в состоянии азотного голодания, блокирует деградацию С-фикоцианина [36]. Авторы заключают, что глюкоза необратимо ингибирует фикоцианиназу. Возможно и другое объяснение [102]. Известно, что линкерные белки фикобилисом гликозилированы [100, 101], причем в наибольшей степени – LCM-полипептид. Возможно, что добавляемая глюкоза сдвигает легкообратимую реакцию гликозилирования в сторону сохранения линкерных полипептидов, поэтому в создаваемых условиях другой фермент, гликозидаза, утрачивает воздействие на линкерные белки, а те, в свою очередь, способствуют сохранению боковых цилиндров фикобилисома и тем самым С-фикоцианина. Существуют и другие закономерности, связанные с гликозилированием линкерных полипептидов. Распад фикобилисом протекает слишком стремительно, чтобы все продукты были с той же скоростью использованы в активном метаболизме. Между числом фикобилисом и уровнем углеводов в клетке устанавливается динамическое равновесие [33]. В условиях азотного голодания содержание клеточных полисахаридов резко возрастает. Параллельно разрушению фикобилисом идет интенсивное формирование гранул гликогена, замещающих фикобилисома на поверхности тилакоидных мембран [108, 119, 120]. Этот гликоген, по крайней мере частично, должен происходить из гликозилированных фикобилисомных белков [100]. Очевидно, при азотном дефиците клетка "предпочитает" хранить и использовать метаболические ресурсы не в виде белка, а в виде запасных углеводов. Этому соответствуют наблюдения о том, что цианобактерии могут образовывать часть АТФ анаэробно, из эндогенных ресурсов [16, 32]. Деградация фикобилисом создает пул аминокислот, используемых для образования и сохранения ферментов и других продуктов, способствующих

ших поддержанию физиологической активности клетки (см. [53]). Здесь удачно сочетается большое количество белка, запасаемого в фикобилисомах, и то, что фикобилипротеины выполняют роль лишь дополнительных пигментов фотосинтеза. Поэтому исчезновение фикобилисом при сохранении хлорофилла сохраняет и способность клеток к получению энергии за счет фотосинтеза, что особенно важно для переживания неблагоприятных условий, созданных азотным дефицитом. Добавление хлорамфеникола к клеткам, находящимся на "азотном пайке", приостанавливает разрушение фикобилисом. Очевидно, при ингибировании белкового синтеза нужна в источнике свободных аминокислот исчезает, а поэтому и дальнейшего разрушения фикобилисом не происходит. Существуют данные о том, что у ряда цианобактерий фикобилипротеины служат существенным источником эндогенного азота [18, 104, 140, 141, 144]. У водорослей, способных к активной азотфиксации, содержание фикобилипротеинов повышено [4]. Обычно за счет почти 100-процентной миграции энергии к другим фикобилипротеинам время жизни возбужденного состояния фикоэритрина в клетке по сравнению с *in vitro* резко снижено. Однако у представителя морского растительного пикопланктона *Synechococcus* DC 2 время жизни C<sub>1</sub>-фикоэритрина заметно увеличено [140, 141]. Авторы заключают, что, судя по этому признаку, до 40% пигмента не входит в состав фикобилисом и выполняет роль внутреннего ресурса аминокислот. Аналогичная оценка, выполненная для *Synechocystis* 6701 [144], показывает, что у этой цианобактерии доля подобного C-фикоэритрина составляет 10%.

Наряду с фикобилипротеинами, для пополнения уровня азотных метаболитов служат цианофициновые гранулы [111, 113], состоящие из полиаргинил-полиаспарагиновой кислоты, точнее полиаспарагина, к каждому остатку которого по карбонильной группе присоединен остаток аргинина. По-видимому, гранулы есть у большинства цианобактерий. Они составляют до 8% сухой массы клеток в стационарной фазе роста и быстро исчезают, если клетки стимулируются к делению разбавлением культуры. Количество гранул, как и фикобилисом, резко убывает при лишении клеток минерального азота и также быстро восстанавливается при возвращении азота в среду культивирования. Отличия от фикобилисом как эндогенного азотного ресурса заключаются в том, что ферментная система цианофициновых гранул не чувствительна к хлорамфениколу [112], а их образование может происходить анаэробно [10].

### 2.1.2. Влияние углекислого газа

Во многих лабораториях, где ведутся исследования сине-зеленых водорослей, давно подмечено, что культуры, выращиваемые в условиях избытка  $\text{CO}_2$ , внешне выглядят более "физиологичными", "здоровыми" за счет более насыщенной, темной окраски клеток. Эти изменения цвета обусловлены более активным клеточным синтезом фикобилисом (см. [35]). Так, клетки *A. nidulans* при выращивании в атмосфере 1%  $\text{CO}_2$  образуют вдвое больше С-фикоцианина, чем при культивировании на воздухе (0,03%  $\text{CO}_2$ ), в то время как количество хлорофилла и каротиноидов сохраняется неизменным.

Полное отсутствие  $\text{CO}_2$  при культивировании вызывает более серьезные изменения фотосинтетического аппарата [83]. Деградации подвергаются не только фикобилисомы, но и тилакоиды. Между пищением клеток источника углекислого газа и морфологическими изменениями фотосинтетического аппарата обычно проходит несколько дней. Для *A. nidulans* "инкубационный период" заканчивается на четвертые сутки резким падением содержания фикобилипротеинов и хлорофилла. По истечении пятых суток фотосинтетические пигменты не регистрируются, фикобилисомы и тилакоиды не выявляются в электронном микроскопе. Добавка к таким клеткам  $\text{CO}_2$  ведет к быстрому и полному восстановлению этих структур и преимущественному синтезу фикобилипротеинов и хлорофилла. Рост и деление клеток возобновляются только после достижения нормального содержания фикобилисом, каротиноидов и хлорофилла.

### 2.1.3. Роль минерального железа

Влияние железа на синтез фикобилинов и формирование фикобилисом совершенно очевидно, так как этот элемент входит в состав протогема — непосредственного предшественника фикобилинов в цепи их биосинтеза (см. [24]). Проявления "железного" голодания у сине-зеленых водорослей исследованы в серии работ [19, 52, 86, 87, 88, 90, 108] и проанализированы в обзоре Ритмана и Шермана [102]. Изменения, наблюдаемые в клетках, сводятся к следующему. В начальный период параллельно с убылью фикобилисом межмембранное пространство тилакоидов заполняется, как и при азотном голодании, гранулами гликогена. В дальнейшем убыль фикобилисом продолжается. Одновременно с этим клетки утрачивают хлоро-

филл, теряют карбоксисомы, а число тилакоидов в них уменьшается в два-три раза. У сохранивших жизнеспособность клеток возвращение к нормальному фенотипу происходит после одного или двух клеточных циклов. Этот вид минерального голодания по сравнению с дефицитом азота в большей степени затрагивает содержание хлорофилла.

#### 2.1.4. Влияние нехватки серы

О падении уровня фикобилипротеинов в клетках, испытывающих недостаток серы, хорошо известно [94], но интересный молекулярный механизм компенсации вскрыт совсем недавно [82]. Фикобилиновые хромофоры фикобилипротеинов соединены с апопротеином тиоэфирной связью за счет цистеина, поэтому в отсутствие серы биосинтез фикобилипротеинов невозможен. Если водоросль *F. diplosiphon* выращивать на среде с уменьшенным содержанием серы, то происходит активация дополнительной пары генов  $\alpha$ - и  $\beta$ - субъединиц C-фикоцианина. Кодирруемые ими полипептиды утрачивают все серусодержащие аминокислоты, кроме цистеиновых остатков, необходимых для ковалентной связи с хромофорами. Это позволяет максимально долго сохранять фикобилипротеины и фикобилисомы и осуществлять активный фотосинтез.

#### 2.1.5. Солевой стресс

Солевой, водный стресс и ряд других физиологических воздействий на клетки не исследованы еще столь подробно, чтобы можно было полностью характеризовать их влияние на фикобилисомы (см. [12, 15, 28, 57, 81, 89, 103, 115, 131]). В частности, указывается, что у *Synechococcus* 6301 при росте на среде с повышенной концентрацией соли увеличивается содержание фикобилипротеинов [15]. У *Nostoc commune* в условиях водного стресса количество фикобилипротеинов быстро снижается параллельно накоплению полисахаридов [93]. Клетки *Synechocystis* 6714 на среде, лишенной ионов натрия, подвергаются фотоингибированию второй фотосистемы [145, 146]. Полное подавление фотоактивности развивается в течение одного часа. При этом фикобилисомы не изменяются, а миграция энергии от фикобилипротеинов к РЦ фотосистемы II сохраняется. При добавке  $\text{Na}^+$  на желтом свете,

поглощаемом фикобилепротеинами, происходит быстрое восстановление утраченной фотоактивности. У других цианобактерий, например *A. nidulans*, роль  $\text{Na}^+$  при воздействии на фотосистему II выполняют ионы кальция [21].

## 2.2. Специализированные клетки

### 2.2.1. Гетероцисты

Гетероцисты – специализированные, утратившие способность к делению клетки, образуемые большинством гормогониевых сине-зеленых водорослей при нехватке минерального азота (см. [1, 3, 48, 51]). Они формируются поодиночке среди вегетативных клеток, располагаясь равномерно по всей длине водорослевой нити или ближе к ее концам. Доля гетероцист в гормогониях у аэробно выращиваемых свободноживущих цианобактерий обычно не превышает 7%, но у *Anabaena azollae* – симбионта папоротника *Azolla* – может достигать 30% [23, 114]. Гетероцисты служат для усвоения молекулярного азота (см. [121, 123]). Основным ферментом азотфиксации – нитрогеназы, и развитие нитрогеназной активности у водорослей полностью коррелирует с появлением гетероцист [19, 123]. Для нитрогеназы кислород высоко токсичен [40], поэтому формирование гетероцист сопровождается морфологическими и метаболическими изменениями, ведущими к созданию анаэробных условий [6, 7, 53, 125]. В ходе дифференцировки в гетероцисту вегетативные клетки увеличиваются в размерах и одеваются толстой трехслойной оболочкой, в которой образуются одна-три поры для сохранения связи с соседними клетками [44, 138]. Процесс занимает около двух суток, и восстановления в вегетативную клетку не происходит [135]. Сначала, в ходе формирования так называемых прогетероцист тилакоиды заметно не изменяются [69, 70]. Затем, ко времени образования трехслойной оболочки (зрелая гетероциста) происходит перегруппировка тилакоидов с начальным увеличением их массы [48, 70], тилакоиды сближаются, перемещаются ближе к клеточным порам и их число уменьшается.

В гетероцистах исчезает активность второй фотосистемы, клетки не выделяют кислород и не поглощают  $\text{CO}_2$  (см. [53]). Это является наиболее важным изменением метаболизма. Вместе с тем фотосистема I полностью сохраняется, что следует

из присутствия всех компонентов или атрибутов I-й системы: р 700 [31, 124] цитохромов, пластоцианина, негемовых белков и пластохинона [124]. В гетероцистах найдены такие классические признаки функционирования фотосистемы I как восстановление НАДФ [137] и фотофосфорилирование, хотя соотношение хлорофилла а и реакционных центров первой системы несколько ниже, чем в вегетативных клетках [31]. Фотосинтетическое получение АТФ необходимо для обеспечения азотфиксации, являющейся энергетически емким процессом, это подтверждается зависимостью нитрогеназной активности от интенсивности и состава света, соответствующего поглощению хлорофилла фотосистемы I. Световая зависимость установлена как для целых филаментов, так и для изолированных гетероцист [29, 68, 91, 106].

Таким образом, гетероцисты предстают как своеобразный тип клеток, в которых из двух фотосистем фотосинтез функционирует только одна. В тилакоидах отсутствует пигмент-белковый комплекс фотосистемы II [95], но найден ряд компонентов электронтранспортной цепи второй фотосистемы [124]. В частности, присутствует белок 32 кДа, являющийся вторичным акцептором электрона [23].

Считается, что гетероцисты содержат около 50% хлорофилла вегетативных клеток [7, 38], тогда как содержание каротиноидов меняется незначительно [7, 126]. В ранних работах сообщалось, что в гетероцистах нет фикобилипротеинов или что их очень мало [39, 137]. Эти данные коррелируют с отсутствием в гетероцистах функции фотосистемы II и тем, что в процессе формирования гетероцист многие белки вегетативных клеток подвергаются расщеплению протеазами [53, 125], а активность протеазы, специфичной к С-фикоцианину, повышена [139]. Вместе с тем поступали сообщения, что в гетероцистах фикобилипротеины легко обнаружимы [122, 126]. Их содержание можно оценить двумя способами: отделив гетероцисты от фракции вегетативных клеток либо используя микроцитометрию. Для получения гетероцист используется обработка культур водорослей лизосимом в концентрации, при которой разрушаются только вегетативные клетки, с последующим дифференциальным центрифугированием (см. [60, 106]). При этом остается возможность неспецифической сорбции фикобилипротеинов и мембран тилакоидов лизированных вегетативных клеток на поверхности гетероцист, а также частичной потери фикобилипротеинов самими гетероцистами. Проведена микроспектрофлуориметрия цельных клеток гетероцист, что практически исключило возможность артефактов, и в спектрах флуоресценции

найденны максимумы 648 нм (С-фикоцианин) и 658 нм (аллофикоцианин). Доля фикобилипротеинов в гетероцистах тем не менее снижена: они содержат 30–60% С-фикоцианина вегетативных клеток и резко уменьшенное количество аллофикоцианина [14, 67, 92, 121]. Именно поэтому, а также из-за меньшего содержания хлорофилла гетероцисты выглядят бледноокрашенными. У эндофитных представителей рода *Anabaena* (*An. azollae* и *An. caroliniana*) доля аллофикоцианина в гетероцистах заметно выше, чем у свободноживущих видов [62]. Из гетероцист цианобактерии *An. variabilis* по стандартной методике с использованием центрифугирования в градиенте плотности сахарозы была получена фикобилисомная фракция [63], однако в большинстве случаев фикобилисомы из гетероцист выделить не удается. На микрофотографиях гетероцист пространство рядом с тилакоидными мембранами, где в вегетативных клетках располагаются фикобилисомы, заполнено электронноплотным материалом [7]. На примере *Anabaena* PCC7119 показано, что гетероцисты содержат не фикобилисомы, а высокомолекулярные агрегаты фикобилипротеинов. Так как количество аллофикоцианина снижается гораздо сильнее, чем С-фикоцианина, то сделан вывод, что для двух пигментов существуют разные протеазы [143]. Аллофикоцианин образует ядро фикобилисомы, поэтому не приходится считать, что регистрируемые фикобилипротеины являются уменьшенными фикобилисомами. При азотном голодании клеток дело обстоит наоборот: протеолизу подвергается С-фикоцианин, а аллофикоцианиновое ядро фикобилисом сохраняется. Вероятно, в гетероцистах фотосинтетическая функция фикобилисом сдвигается на второй план, а на первое место может выступать роль эндогенных источников азота. Это хорошо согласуется с тем, что именно в гетероцистах происходит азотфиксация. Сохраняющиеся в гетероцистах агрегаты С-фикоцианина способны передавать поглощаемую энергию хлорофиллу а [92]. Так как этот хлорофилл полностью или почти полностью [92] принадлежит фотосистеме I, то и фикобилипротеины гетероцист, очевидно, связаны с первой, а не второй фотосистемой. Вывод подтверждается наличием максимума С-фикоцианина в спектре действия фотоокисления P700 [143] и в спектре действия нитрогеназной активности [68, 129]. Происходящая при этом молекулярная реорганизация тилакоидных мембран нуждается в изучении.

### 2.2.2. Цианеллы в клетках-хозяевах

Для цианобактерий характерны симбиотические взаимоотношения с самыми разными организмами (см. [41, 96]). Сюда относятся, не считая лишайников, ассоциации с другими группами бактерий, эндосимбиозы с эукариотами и экзосимбиозы с губками, асцидиями, мхами, папоротниками, голосеменными и представителями классов однодольных и двудольных. Далеко не все известные цианобактериальные симбионты подвергаются активному изучению. Из подобных видов можно еще раз упомянуть *An. azollae*, экзосимбионта, обитающего в специализированных полостях листа у папоротников рода *Azolla* (см. например, [2]). Наиболее интересны случаи эндосимбиоза, т.е. внедрения цианобактерий в более крупную клетку организма-хозяина [96, 127]. При этом цианобактерии существуют внутри других клеток в виде так называемых "цианелл". Их хозяевами являются простейшие не всегда ясного систематического происхождения и организмы, которые можно рассматривать как обесцветившиеся жгутиковые водоросли. Роль цианелл в эукариотной клетке заключается в осуществлении реакций фотосинтеза. Описано несколько десятков таких одноклеточных организмов. Цианеллы имеют многие черты сходства с цианобактериями, в том числе обладают чувствительной к лизозиму клеточной стенкой и тилакоидами с фикобилисомами [118, 133].

Геном цианелл по сравнению с цианобактериями существенно редуцирован и содержит лишь 5-10% ДНК свободноживущих видов [56]. Это служит наиболее вероятной причиной утраты способности к независимому существованию. Цианеллы уже не являются цианобактериями, но еще не стали хлоропластами, поэтому они представляют большой интерес для выяснения вопроса о путях эндосимбионтного происхождения хлоропластов у эукариотов (см. [5, 64, 65, 105]). Немногочисленные, но принципиальные исследования фикобилисом выполнены на цианеллах двух микроорганизмов, *Cyanophora paradoxa* и *Glaukocystis nostochinearum*. В 1965 г. у *C. paradoxa*, практически одновременно с открытием Гант и Конти фикобилисом у красной водоросли *R. cruentum*, были найдены сходные с ними гранулы, прикрепленные к тилакоидам и затем также идентифицированные как фикобилисомы [72]. Позже аналогичные наблюдения сделаны для *G. nostochinearum* [17]. В обоих случаях фикобилисомы оказались, как и у подавляющего большинства цианобактерий, полудисковидного типа и содержали С-фикоцианин

и аллофиоксианин. Кроме того, для фикобилисом *S. paradoxa* были получены одни из первых наиболее убедительных доказательств их топографической связи с EF-частицами в мембранах тилакоидов [49].

Из цианелл *S. paradoxa* выделены C-фиоксианин и аллофиоксианин [106, 128], а у цианелл из *Glaucosphaera vasculata* найден особый тип R-фиоксианина [47]. Гены этих фикобилипротеинов находятся в составе кольцевой ДНК самих цианелл, а не генома ядра эукариотной клетки-хозяина [84].

На электронных микрофотографиях фотосинтетических мембран у цианелл из *S. paradoxa*, полученных методом замораживания-скальвания, выявлено, что EF-частицы расположены параллельными рядами, отстоящими друг от друга на 45 нм, а расстояние между частицами в рядах составляет 9,4 нм. На микрофотографиях другой стороны мембран наблюдались аналогичные ряды фикобилисом с расстояниями 45 и 10 нм соответственно. Эти данные коррелируют с результатами исследований EF-частиц у цианобактерий и багрянок. Важным шагом вперед у *S. paradoxa* стало получение мембранных везикул, где на одном препарате удалось наблюдать и фикобилисомы, и расположенные под ними ряды EF-глобул. Наконец, благодаря малости генома у цианелл *S. paradoxa* удалось впервые клонировать гены фикобилипротеинов (срс B-ген) [73]. Чуть позже к этому добавилось клонирование генов срс A, срс A и срс B [47, 74].

### 2.2.3. Криптофитовые водоросли

Криптофитовые водоросли-третья после цианобактерий и багрянок группа растительных организмов, у которых найдены фикобилипротеины [8, 55, 85]. На электронных микрофотографиях хлоропластов криптофит не удается выявить фикобилисом. Иная цитологическая организация фикобилипротеинов в хлоропластах этого отдела водорослей была предложена при изучении клеток *Chroomonas mesostigmatica* [30, 134]. Вопрос выяснен затем в работе с тремя другими видами криптофит: *Chroomonas* sp., *Cryptomonas ovata* и *Rhodospirillum rubrum* [46].

На микрофотографиях хлоропластов криптофит, фиксированных глутаровым альдегидом, выявлен электронноплотный слой, примыкающий к внутренней мембране тилакоидов. Этот слой находится на стороне мембраны, обращенной к матриксу хлоропластов, в то время как фикобилисомы располагаются с наруж-

ной стороны внутренней тилакоидной мембраны. Толщина электронноплотного слоя растет с увеличением клеточного содержания фикобилипротеинов [37]. Слой сохраняется при экстракции хлорофилла и каротиноидов из клеток ацетоном. Лишь при обработке клеток протеазами, в результате которой фикобилипротеины переходят в раствор, параллельно происходит исчезновение электронноплотного материала. Очевидно, что фикобилипротеины находятся в электронноплотном слое, но различить в нем отдельные фикобилисомы не удается, поэтому сделан вывод о примыкании фикобилипротеинов к мембране в мелкодисперсном состоянии [46]. Итак, есть два принципиальных различия с цианобактериями и багрянками. Первое – то, что фикобилипротеины не образуют крупных белковых агрегатов, чем, в сущности, являются фикобилисомы. Второе – то, что фикобилипротеины криптофит контактируют с противоположной стороной мембраны тилакоида (Рис. 29).

Отсутствие фикобилисом у криптофит коррелирует с низкой агрегационной способностью фикобилипротеинов и тем, что каждая водоросль содержит только какой-либо один из этих пигментов. Фикобилипротеины у криптофит образуют только димеры и не способны к формированию агрегатов более высоких порядков. На основе известной третичной структуры С-фикоцианина и установленной первичной структуры фикобилипротеинов криптофитовых водорослей предложена пространственная модель последних, поясняющая, изменения каких пептидных фрагментов приводят к утрате агрегационных взаимодействий [109].

Причины локализации фикобилипротеинов по иную сторону внутренней хлоропластной мембраны, чем у сине-зеленых и красных водорослей, остаются неизвестными. Предполагалось, что внутренняя мембрана тилакоидов в хлоропластах криптофитовых водорослей инвертирована, по сравнению с другими фотосинтетиками [45], но это предположение не подтвердилось. Две поверхности скола фотосинтетических мембран, получаемые при электронномикроскопических исследованиях методом замораживания-окальвания (ЕF- и РF-поверхности), по своему строению легко различаются; в хлоропластах криптофитовых водорослей они ориентированы точно так же, как у высших растений и цианобактерий [22, 34, 69, 116]. На основании этого признака сделан вывод, что во всех случаях мембраны хлоропластов расположены одинаково [116]. Данные о локализации фикобилипротеинов в хлоропластах подтверждены методом электронной микроскопии с использованием иммуносвязанного с

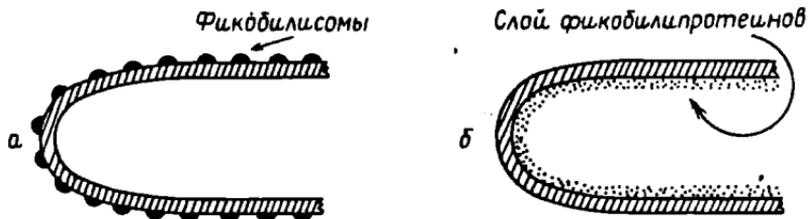


Рис. 29. Схема, поясняющая локализацию фикобилипротеинов в тилакоидах хлоропластов красных (а) и криптофитовых (б) водорослей

этими белками коллоидного золота [80, 97, 117]. Получены также частицы мембран хлоропластов, сохраняющие связь с фикобилипротеинами, и в них найдены полипептиды с массами 87 и 97 кД, аналогичные тем мембранным белкам, которые обеспечивают контакт поверхностей тилакоидов с фикобилисомами [76].

Спектры действия фотосинтеза, регистрируемые по выделению  $O_2$  [54, 55, 61], и спектры возбуждения флуоресценции хлорофилла а [78] свидетельствуют об эффективной миграции энергии у криптофит от фикобилипротеинов к хлорофиллу. В хлоропластах криптофит нет пигментов, подобных аллофикоцианину В или  $L_{CM}$  - полипептиду, являющихся у сине-зеленых и красных водорослей посредниками в передаче энергии от других фикобилипротеинов к хлорофиллу а. С другой стороны, у криптофит обнаружен хлорофилл с [43, 55]. Впоследствии было уточнено [59], что пигмент является хлорофиллом  $c_2$ , и из хлоропластов выделен соответствующий пигмент-белковый комплекс содержащий хлорофилл а/ $c_2$  [58, 77, 99], для которого максимум поглощения *in vivo* находится при 630-640 нм. Этот пигмент-белковый комплекс можно было бы рассматривать в качестве посредника между фикобилипротеинами и хлорофиллом а второй фотосистемы. Исследование *in vivo* разгорания и затухания флуоресценции фикобилипротеинов, хлорофиллов  $c_2$  и а в пикосекундном диапазоне времени [25] показывает, что, вероятнее всего, энергия к реакционному центру фотосистемы II передается от пигмент-белкового комплекса с хлорофиллом а/ $c_2$  независимо, т.е. параллельно с передачей энергии от фикобилипротеинов. Эти данные не исключают полностью и второй возможности - последовательной передачи энергии.

Содержание фикобилипротеинов в хлоропластах зависит от условий выращивания водорослей - на зеленом свете оно выше,

чем на красном [61] , а на сине-зеленом-примерно на 20-25% выше, чем на белом, при равной интенсивности [130]. В тех же условиях концентрация хлорофиллов а и с<sub>2</sub> остается практически неизменной. Содержание фикоцианина-645 в клетках *Cryptomonas* sp. снижается при повышении интенсивности света [37]. Такое же наблюдение сделано для фикоэритрина-565 в клетках *Cryptomonas rufescens*[ 78]. Количество фиколипидов в клетке падает и при гетеротрофном культивировании криптофит [13]. При азотном голодании клеток содержание фиколипидов уменьшается, и этот эффект может быть усилен увеличением интенсивности света [ 75, 78]. Так, клетки *Cryptomonas maculata*, лишенные азота, за 10-14 дней теряли до 90% фикоэритрина-545, в то время как содержание хлорофилла падало только вдвое [98].

## СПИСОК

### ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Авидов И.А. Труды биол. научн.-исслед. института ЛГУ. - 1986. - С. 84-107.
2. Бекасова О.Д., Мутускин А.А., Зорэ С.В. // Биофизика. - 1988. - 33. - С. 270-274.
3. Промов Б.В. // Ультраструктура сине-зеленых водорослей. - Л., Наука. - 1976.-С. 94
4. Ерохина Л.Г. // Физиол. растений,-1988. - 35, С. 994-1000.
5. Стадничук И.Н. // Биол. науки. Научн. докл. высшей школы. -1989. - № 6. - С. 13-23.
6. Adams D.G., Carr N.// *Crit. Rev. Microbiol.* - 1981. - 9. - P. 45-100.
7. Alberte R.S., Tel-Or E., Packer L., Thornber J.P.// *Nature.* - 1980. - 284. - P. 481-483.
8. Allen M.B., Dougherty E.C., McLaughlin J.J.A.// *Nature.* - 1959. - 184. - P. 1047-1049.
9. Allen M.M., Hutchison F.//*Arch. Microbiol.* - 1980. - 128. - P. 1-7.
10. Allen M.M., Hutchison F., Weathers P.J.// *J. Bacteriol.* - 1980.- 141. - P. 637-693.
11. Allen M.M., Smith A.J.// *Arch. Microbiol.* - 1969. - 69. - P. 114-120.
12. Anand N., Hopper R.S.S.K.//*Current Science.* - 1987. - 56. - P. 340-342.

13. Antia N.J., Kalley J.P., McDonald J., Bisalputra T.//J. Protozool. - 1973. - 20. - P. 377-384.
14. Becking J.H., Donze M.//Plant Soil. - 1981. - 61. - P.203-206.
15. Blumwald E., Tel-Or E.//Plant Physiol. - 1984. - 74. - P. 183-185.
16. Bottomley P.J., Stewart W.D.P.// Arch. Microbiol. - 1976. - 108. - P. 249-258.
17. Bour du R., Lefort M.// C.R. Acad. Sci. - 1967. - 265. - P. 37-40.
18. Boussiba S., Richmond A.// Arch. Microbiol. - 1980. - 125. - P. 143-147.
19. Boyer G.L., Gillam A.H., Trick C.// In: The Cyanobacteria, Eds P. Fay, C. Van Baalen, Amsterdam, Elsevier. Publishers. - 1987. - P. 415-436.
20. Bradley S., Carr N.G.// J. Gen. Microbiol. - 1976. - 29. - P. 109-129.
21. Brand J.J., Becker D.W.// Methods Enzymol. - 1988. - 167. - P. 280-285.
22. Branton D., Bullivant S., Gilula N.B., Karnovsky M.J., Moor H., Muhlethaler K., Northcote D.H., Packer L., Satir B., Satir P., Speth V., Staehelin L.A., Steere R.L., Weinstein R.S.//Science. - 1975. - 190. - P. 54-56.
23. Braunhowland E.B., Nierzwicki-Bauer S.A.// Planta. - 1990. - 180. - P. 361-371.
24. Brown S.B., Houghton J.D., Vernon D.J.//J. Photochem. Photobiol. - 1990. - 5B. - P. 3-23.
25. Bruce D., Biggins J., Steiner T., Thewalt M.// Photochem. Photobiol. - 1986. - 44. - P. 519-525.
26. Bryant D.A.//Canad. Bull. Fish. Aquat. Sci. - 1986. - 214. - P. 423-500.
27. Bryant D.A., de Lorimier R., Lambert D.H., Dubbs J.M., Stirewalt V.L., Stevens S.E., Jr., Porter R.D., Tam J., Jaye E.// Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 1985. - 82. - P. 3242-3246.
28. Budd K., Casey J.R., Mac Arthur J.D.// Can. J. Bot. - 1986. - 6. - P. 2433-2440.
29. Cox R.M.// Arch. Mikrobiol. - 1966. - 53. - P. 263-276.
30. Dodge J.D.//Arch. Microbiol. - 1969. - 69. - P. 266-280.
31. Donze M., Haveman J., Sciereck P.// Biochim. Biophys. Acta - 1972. - 256. - P. 157-161.
32. Doolittle W.F., Singer R.A.// J. Bacteriol. - 1974. - 119. - P. 677-683.
33. Duke C.S., Cezeaux A., Allen M.M.// J. Bacteriol. - 1989. - 171. - P. 1960-1966.

34. Dwarte D., Vesik M.// *Protoplasma*. - 1983. - 117. - P. 130-141.
35. Eley J.H.// *Plant Cell Physiol.* - 1971. - 12. - P. 311-316.
36. Elmorjani K., Herdman M.// *J. Gen. Microbiol.* - 1987. - 133. - P. 1685-1694.
37. Faust M.A., Gantt E.// *J. Phycol.* - 1973. - 9. - P. 489-495.
38. Fay P.// *Arch. Microbiol.* - 1969. - 67. - P. 62-70.
39. Fay P.// *Biochim. Biophys. Acta.* - 1970. - 216. - P. 353-356.
40. Fay P., Stewart W.D.P., Walsby A.E., Fogg G.E.// *Nature*. - 1968. - 220. - P. 810-812.
41. Fog G.E., Stewart W.D.P., Fay P., Walsby A.E.// *The Blue-Green Algae*, London, New York, Acad. Press. - 1973. - 459P.
42. Foulds I.J., Carr N.G.// *FEMS Microbiol. Lett.* - 1977. - 2. - P. 117-119.
43. French C.S., Elliot K.T.// *Carnegie Inst. Wash. Year Book*. - 1958. - 57. - P. 282.
44. Fritsch F.E.// *Proc. Linn. Soc. London*. - 1951. - 162. - P. 194-211.
45. Gantt E. In: *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Eds M. Levandovsky, S.H. Hunter, Acad. Press, New York. - 1979. - P. 121-137.
46. Gantt E., Edwards M.R., Provasoli L.// *J. Cell Biol.* - 1971. - 48. - P. 280-290.
47. Gantt E., Lipschultz C.A., Grabowski J., Zimmerman B.K.// *Plant Physiology*. - 1979. - 63. - P. 615-620.
48. Giddings T.H., jr., Staehelin L.A.// *Biochim. Biophys. Acta*. - 1979. - 546. - P. 373-382.
49. Giddings T.H., Jr., Wasmann G., Staehelin L.A.// *Plant Physiol.* - 1983. - 71. - P. 409-419.
50. Gombos Z., Szalontai B., Surany G., Csatoorday K.// *Photochem. Photobiol.* - 1987. - 45. - P. 399-402.
51. Guerrero M.G., Lara C. In: *The Cyanobacteria*. Eds P. Fay, C. Van Ballen, Elsevier, Amsterdam etc. - 1987. - P. 163-198.
52. Guikema J.A., Sherman L.A.// *Plant Physiol.* - 1983. - 73. - P. 250-256.
53. Haselkorn R.// *Annu. Rev. Plant Physiol.* - 1978. - 29. - P. 319-344.
54. Haxo F.T. In: *Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems*. Ed. M.B. Allen, Acad. Press, New York. - 1960. - P. 333-360.
55. Haxo F.T., Fork D.C.// *Nature*. - 1959. - 184. - P. 1051-1052.
56. Herdman M., Stanier R.Y.// *FEMS Lett.* - 1977. - 1. - P. 7-12.

57. Ihlenfeldt M.J.A., Gibson J.//Arch. Microbiol. - 1975. - 113. - P. 231-241.
58. Ingram K., Hiller R.L.//Biochim. Biophys. Acta. - 1983. - 722. - P. 310-319.
59. Jeffrey S.W.// J. Phycol. - 1976. - 12. - P. 349-354.
60. Jensen B.B., Cox R.P., Barris R.H.//Arch. Microbiol. - 1985. - 143. - P. 185-191.
61. Kamiya A., Miyachi S.// Plant Cell Physiol. - 1984. - 25. - P. 831-839.
62. Kaplan D., Calvert H.E., Peters G.A.// Plant Physiol. - 1986. - 80. - P. 884-890.
63. Ke B., Fang Z.-X., Lu R.-Z., Calvert H.E., Dolan E.// Photo-biochem. Photobiophys. - 1983. - 6. - P. 25-31.
64. Kies L.// Biol. Rundsch. - 1984. - 22. - P. 145-157.
65. Ko K., Jaunes J.M., Straus N.A.//Plant Science. - 1985. - 42. - P. 115-123.
66. Kratz W.A., Myers J.//Am. J. Botany. - 1955. - 42. - P.282-287.
67. Kumar A., Tabita F.R., Van Baalen C.// Arch. Microbiol. - 1982. - 133. - P. 103-109.
68. Kumar D.// J. Gen. Appl. Microbiol. - 1989. - 35. - P. 369-375.
69. Lang N.J.// J. Phycol. - 1965. - 1. - P. 127-134.
70. Lang N.J., Fay P.// Proc. Roy Soc. London. - 1971. - B178. - P. 193-203.
71. Lau R.H., Mackenzie M.M., Doolittle W.F.// J. Bacteriol. - 1977. - 132. - P. 771-778.
72. Lefort M.// C.R. Acad. Sci. - 1965. - 261. - P. 233-236.
73. Lemaux P.G., Grossman A.// Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 1984. - 81. - P. 4100-4104.
74. Lemaux P.G., Grossman A.R.// EMBO J. - 1985. - 4. - P. 1911-1919.
75. Lichtle C.// Protoplasma. - 1979. - 101. - P. 283-299.
76. Lichtle C., Duval J.C. In: Advances in Photosynthesis Research. Ed. C. Sybesma, Martinus Nijhoff/ Dr. W. Junk K. Publishers, Dordrecht. - 1984. - v. - 2. - P. 57-60.
77. Lichtle C., Duval J.C., Lemoine Y.// Biochim. Biophys. Acta - 1987. - 894. - P. 76-90.
78. Lichtle C., Jupin H., Duval J.C.// Biochim. Biophys. Acta. - 1980. - 591. - P. 104-112.
79. Lichtle C., Thomas J.C.// Phycologia. - 1976. - 15. - P. 393-404.
80. Ludwig M., Gibbs S.P.// J. Cell Biol. - 1989. - 108. - P. 875-884.

81. Maeso E.S., Pinas E.E., Gonzales M.G., Valiente E.F.//*Plant Physiol.* - 1987. - 85. - P. 585-587.
82. Mazel D., Marlière P.// *Nature.* - 1989. - 341. - P. 245-248.
83. Miller L.S., Holt S.C.// *Arch. Microbiol.* - 1977. - 115. - P. 185-198.
84. Neu-Müller M., Schenk H.E.A.//*Z. Naturforsch.* - 1983. - 38 c.- P. 984-989.
85. O'h Eocha C., Raftery M.//*Nature.* - 1959. - 184. - P. 1049-1051.
86. Öquist G.// *Physiol. Plant.* - 1971. - 25. - P. 188-191.
87. Öquist G.//*Physiol. Plant.* - 1974. - 30. - P. 30-37.
88. Öquist G.// *Physiol. Plant.* - 1974. - 31. - P. 55-58.
89. Öquist G., Fork D.C.//*Physiol. Plantarum.* - 1982. - 56. - P. 56-62.
90. Pakrasi H.B., Goldenberg A., Sherman L.A.//*Plant Physiol.* - 1985. - 79. - P. 290-295.
91. Peters G.A., Kaplan D., Calvert H.E. // *Proc. Roy. Society Edinburgh.* - 1985. - 86B. - P. 169-177.
92. Peterson R.B., Dolan E., Calvert H.E., Ke B.// *Biochim. Biophys. Acta.* - 1981. - 634. - P. 237-248.
93. Potts M.// *J. Bacteriol.* - 1985. - 164. - P. 1025-1031.
94. Prakash G., Kumar H.D.// *Arch. Microbiol.* - 1971. - 72. - P. 196-202.
95. Reinman S., Thornber J.P.//*Biochem. Biophys. Acta.* - 1979. - 547. - P. 188-197.
96. Reisser W.// *Encycl. Plant Physiol.* - 1984. - 17. - P. 91-112.
97. Rhiel E., Kunz J., Wehrmeyer W.// *Bot. Acta.* - 1989. - 102. - P. 46-53.
98. Rhiel E., Mörschel E., Wehrmeyer W.// *Protoplasma.* - 1985. - 122. - P. 62-73.
99. Rhiel E., Mörschel E., Wehrmeyer W.// *Eur. J. Cell Biol.* - 1987. - 43. - P. 82-92.
100. Rhiethmann H.C., Mawhiney T.P., Sherman L.A.// *FEBS Lett.* - 1987. - 215. - P. 209-214.
101. Rhiethmann H.C., Mawhiney T.P., Sherman L.A.// *J. Bacteriol.* - 1988. - 170. - P. 2433-2440.
102. Rhiethmann H.C., Sherman L.A.// *Photosyn. Res.* - 1988. - 18. - P. 133-161.
103. Riegman R., Mur L.R.//*Arch. Microbiol.* - 1985. - 142. - P. 72-76.
104. Schenk H.E.A., Bayer M.G., Maier T.// *Endocyt. Cell Res.* - 1987. - 4. - P. 167-176.

105. Schenk H.E.A., Bayer M.G., Zook D.// *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1987. - 503. - P. 151-167.
106. Schenk H.E.A., Hanf J., Neu-Müller M.// *Z. Naturforsch.* - 1982. - 38c. - P. 972-977.
107. Scherer S., Almon H., Böger R.// *Photosynth. Res.* - 1988. - 15. - P. 95-114.
108. Sherman D.A., Sherman L.A.// *J. Bacteriol.* - 1983. - 156. - P. 393-401.
109. Sidler W.A., Nutt M., Kumpf B., Zuber H.// In: *Progress in Photosynthesis Research*, Ed. J. Biggins, Martinus Nijhoff, Dordrecht. - 1987. - 2. - P. 153-156.
110. Silva H.J., Cortinas T.I., Ertola R.J.// *Appl. Microbiol. Biotechnol.* - 1989. - 31. - P. 293-297.
111. Simon R.D.// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1971. - 68. - P. 265-267.
112. Simon R.D.// *J. Bacteriol.* - 1973. - 114. - P. 1213-1216.
113. Simon R.D., Weathers P.// *Biochim. Biophys. Acta.* - 1976. - 420. - P. 165-176.
114. Singh R.P., Sing P.K.// *Biochem. Physiol. Pflanzen.* - 1989. - 185. - P. 429-433.
115. Singh S.// *New Phytol.* - 1984. - 98. - P. 277-283.
116. Spear-Bernstein L., Miller K.R.// *Protoplasma.* - 1985. - 129. - P. 1-9.
117. Spear-Bernstein L., Miller K.R.// *J. Phycol.* - 1989. - 25. - P. 412-419.
118. Stanier R.Y., Cohen-Bazire G.// *Ann. Rev. Microbiol.* - 1977. - 31. - P. 225-274.
119. Stevens S.E., Balkwill D.L., Paone D.A.M.// *Arch. Microbiol.* - 1981. - 130. - P. 204-212.
120. Stevens S.E., Paone D.A.M., Balkwill D.L.// *Plant Physiol.* - 1981. - 67. - P. 716-719.
121. Stewart W.D.P.// *Ann. Rev. Microbiol.* - 1980. - 34. - P. 497-536.
122. Stewart W.D.P., Haystead A., Pearson H.W.// *Nature.* - 1969. - 224. - P. 226-228.
123. Stewart W.D.P., Rowell P., Kerby N.W., Reed R.H., Machray G.C.// *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* - 1987. - 317B. - P. 245-248.
124. Tel-Or E., Stewart W.D.P.// *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B.* - 1977. - 198. - P. 61-86.
125. Thiel T.// *J. Phycol.* - 1990. - 26. - P. 50-54.
126. Thomas J.// *Nature.* - 1970. - 228. - P. 181-183.
127. Trench P.K.// In: *On the Origins of Chloroplasts*, Ed. J.A. Schiff, Amsterdam, Oxford, New York, Elsevier. - 1982. - P. 56-76.

128. Trench R.K., Ronzio G.S.// Proc. Roy. Soc. London B. - 1978. - 202. - P. 445-462.
129. Tyagi V.V.S., Ray T.B., Mayne B.C., Peters G.A.// Plant Physiol. - 1981. - 68. - P. 1479-1484.
130. Vesk M., Jeffrey S.W.// J. Phycol. - 1977. - 13. - P. 280-288.
131. Vonshak A., Guy R., Guy M.// Arch. Microbiol. - 1988. - 150. - P. 417-420.
132. Wanner G., Henklemann G., Schmidt A., Köst H.P.// Z. Naturforsch. - 1986, - 41C. - P. 741-750.
133. Wassmann C.C., Loeffelhardt W., Bohner H.J.// In: The Cyanobacteria. Eds P. Fay, C. Van Baalen, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford. - 1987. - P. 303-324.
134. Wehrmeyer W.// Arch. Mikrobiol. - 1970. - 71. - P. 367-383.
135. Wilcox M., Mitchison G.J., Smith K.J.// J. Cell Sci. - 1973. - 13. - P. 637-639.
136. Wolk C.P.// In: The Biology of Cyanobacteria. Eds N.G. Carr, B.A. Whitton, Blackwell, London. - 1982. - P. 359-386.
137. Wolk C.P., Simon R.D.// Planta. - 1969. - 86. - P. 92-97.
138. Wood N.B., Haselkorn R.// Fed. Proceedings. - 1977. - 36. - P. 886.
139. Wood N.B., Haselkorn R.// J. Bacteriol. - 1980. - 141. - P. 1375-1385.
140. Wyman M., Gregory R.P.F., Carr N.G.// Science. - 1985. - 230. - P. 818-820.
141. Wyman M., Fay P., Gregory R.P.F., Carr N.G.// Science. - 1986. - 234. - P. 1423-1424.
142. Yamanaka G., Glazer A.N.// Arch. Microbiol. - 1980. - 124. - P. 39-47.
143. Yamanaka G., Glazer A.N. In: Photosynthetic Prokaryotes: Cell Differentiation and Function. Eds G.C. Papageorgiou, L. Packer, Elsevier, New York. - 1983. - P. 69-90.
144. Yeh S.W., Ong L.J., Glazer A.N.// Science. - 1986. - 234. - P. 1422-1423.
145. Zhao J., Brand J.J.// Arch. Biochem. Biophys. - 1988. - 264. - P. 657-664.
146. Zhao J., Brand J.J.// Plant Physiol. - 1989. - 91. - P. 91-100.

### 3. РЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ СВЕТА

#### 3.1. Филогенетическая световая адаптация

Проблема регуляторного взаимодействия света и пигментов фотосинтеза привлекла внимание исследователей еще в конце прошлого века. Она возникла из наблюдений над стратификацией бентосных морских водорослей. Хорошо известно, что многие фотосинтезики встречаются лишь в приповерхностных водах, в то время как другие обитают на значительных глубинах. Явление смены морской флоры названо филогенетической световой адаптацией. Считается, что основной причиной вертикального распределения водорослей является изменение светового режима. Уменьшение освещенности в морской воде обусловлено двумя главными причинами: светорассеянием и светопоглощением. Оно описывается законом Ламберта-Бера, по которому свет с глубиной убывает экспоненциально:  $J_x = J_0 e^{-kx}$ . Здесь  $x$  - глубина,  $J_0$  - интенсивность света на поверхности,  $J_x$  - интенсивность на глубине  $x$ ,  $k$  - спектральнозависимый коэффициент. Параметр  $k$  относительно велик в сине-фиолетовой части спектра (менее 450 нм) за счет светорассеяния; в зеленом участке спектра значения  $k$  минимальны, а в красной области (более 600 нм) этот коэффициент благодаря поглощению света водой вновь возрастает. Поэтому с глубиной свет слабеет и постепенно приобретает зеленую окраску.

В средних широтах десятикратное ослабление интенсивности достигается для красного света на глубине 3,6 м, для синего - на 5,3 м и для зеленого - на глубине 6,0 м [146]. На глубине 20 м общая интенсивность солнечного света падает в 18-20 раз, при этом почти полностью теряются красные и синие лучи (Рис. 30). Уже на глубине 10 м пропускаемый видимый свет на 70% концентрируется в диапазоне 100 нм; на глубине 30 м лишь 0,3% освещения принадлежат свету с длиной волны более 600 нм. Пропускание света варьирует в зависимости от химического состава и прозрачности воды: в чистой прибрежной воде максимум пропускания относительно широкий и находится при 500-550 нм, в турбулентных прибрежных водах он смещается к 575 нм; глубинные океанические воды меньше всего ослабляют свет с длиной волны 475 нм. Освещенность в самой прозрачной морской воде на глубине 100-130 м не превышает 1% от освещения на поверхности. В замутненных водах то же ослабление яркости происходит на глубине 30 и иногда даже 3 м.

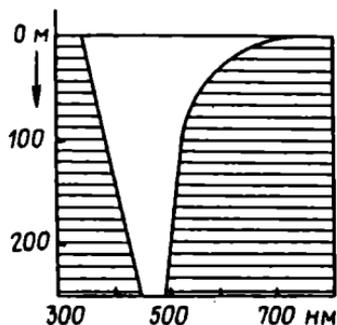


Рис. 30. Изменение спектрального состава солнечного света в морской воде с глубиной

Большинство водорослей обитает на уровне 10–50 м, только отдельные виды достигают нижней границы обитания, равной 175–200 м [112]. Абсолютный известный рекорд глубины, равный 268 м, принадлежит красным водорослям [111].

Хлорофилл планктонных водорослей, поглощая синий и красный свет, служит цветным фильтром для бентосных фотосинтетиков. Относительно недавно, в конце 70-х – начале 80-х годов, выяснена важная роль коккоидных цианобактерий в морском фитопланктоне [92, 110, 185]. Они входят в состав так называемого пикопланктона с размером клеток 0,2–2,0  $\mu\text{м}$  и их доля в первичной продуктивности океана составляет не менее 20% [58, 76, 141]. Эти организмы отличаются высоким содержанием С-фикоэритрина [189]. Поэтому С-фикоэритрин наряду с хлорофиллом принимает заметное участие в поглощении и светорассеянии. Пигмент экранирует зеленые лучи для растений, обитающих на больших глубинах [89].

Стратификация в океане может быть объяснена приспособлением водорослей к изменению интенсивности или спектрального состава света или обеими причинами. В этом отношении сопоставление световых условий обитания растений моря и суши не является полностью корректным. У наземных растений адаптация к спектральному составу света должна иметь несравненно меньшее значение [46]. Наземные растения принято делить на три группы: тенелюбивые, нейтральные и светолюбивые. Они не различаются по пигментному составу: единственным дополнительным пигментом фотосинтеза служит хлорофилл *b*.

В отличие от высших растений ведущим адаптационным фактором в филогении водорослей, рассматривался спектральный

состав света. Это представление, выдвинутое еще в 1882 г. Энгельманом [54,55], вытекало из соответствия спектров поглощения дополнительных пигментов фотосинтеза у водорослей окраске света на разных глубинах. Зеленые водоросли содержат относительно много хлорофилла *b*, эффективно поглощающего свет в синей и красной области спектра. Они распространены в поверхностном слое воды. Фукоксантин, главный сопровождающий пигмент фотосинтеза бурых водорослей, поглощает *in vivo* свет 400–550 нм. Бурые водоросли обычны в большей части эупиторали и верхней части сублиторали на глубинах 5–20 м. Дополнительный пигмент красных водорослей, *R*-фикоэритрин, эффективно поглощает зеленый свет, пропускаемый толщей морской воды. Багрянки растут преимущественно на глубине 10–50 и более метров. Водоросли содержащие фикобилипротеины, образуют три группы [151]. Первая — те, в фикобилисомах которых преобладает фикоцианин (максимум поглощения 620 нм); они занимают верхнюю эупиторальную зону. Ко второй группе принадлежат сине-зеленые и красные водоросли с преобладанием фикоэритрина над фикоцианином; они обитают не ниже верхней сублиторали. К третьей группе относятся только красные водоросли, содержащие очень мало фикоцианина, насыщенные фикоэритрином и обитающие в сублиторальной зоне.

Основные положения филогенетической теории хроматической адаптации сводятся к следующему [145,155]: 1) морская вода пропускает преимущественно зеленые лучи, поэтому с глубиной формируется так называемое "зеленое световое окно" [157]; 2) хлорофилл *a* очень слабо поглощает свет в зеленом участке спектра; 3) *R*-фикоэритрин красных водорослей характеризуется интенсивным поглощением света в "зеленом окне"; 4) в соответствии с этими факторами только багрянки находятся на максимальных морских глубинах, на границе эуфотической зоны, а остальные группы водорослей располагаются на промежуточных глубинах в соответствии со спектрами поглощения своих пигментов, дополнительных к хлорофиллу *a*. Против "хроматической точки зрения" выступили Бертольд [20] и Ольтманс [137], считавшие, что морская стратификация водорослей объясняется в первую очередь изменением интенсивности света. Хардер [82] допускал, что имеют место оба типа влияния света.

В море падение интенсивности и изменение спектрального состава света происходят параллельно. Наблюдения лишь указывают на связь филогении водорослей с распространением их на

разных глубинах и с изменяющимися световыми условиями. Определить, в ответ на какое из двух влияний (интенсивность или спектральный состав) происходит смена растительных сообществ, из подобных наблюдений не представляется возможным.

За сто лет, прошедшие со времени публикации теории Энгельмана, накоплены обширные данные по фактическому обитанию водорослей. Во многих случаях они не соответствуют теории (см. [4, 145]). Еще Ольтманс отмечал, что красные водоросли охотно образуют растительные сообщества с бурыми и зелеными водорослями [136]. В ряде случаев максимальное видовое разнообразие как красных, так и зеленых и бурых водорослей наблюдается на одних и тех же глубинах 15–50 м [52]. На побережье Японского моря соотношение числа видов красных и зеленых водорослей на мелководье равняется 3,4 и на глубине более 12 м – 3,7, то есть меняется крайне незначительно [7]. Описаны факты преобладания зеленых водорослей над красными с увеличением глубины [25]. Неоднократно отмечалось, что зеленые водоросли можно обнаружить среди наиболее глубоководных (см. [4, 43, 101, 112, 155]). Сообщалось [52], что багрянки вплоть до глубины 75 м составляют наименьший процент фитомассы, хотя на такой глубине за счет поглощения зеленого света они имеют преимущество перед бурыми и зелеными водорослями. Любименко и Тиховская сопоставили содержание пигментов и интенсивность фотосинтеза у водорослей Черного моря, живущих на глубинах 25–50 м [5]. Оказалось, что фотосинтез коррелирует с общим содержанием пигментов, а не с видовой принадлежностью водорослей.

Для корректного решения вопроса данные о систематическом поведении водорослей и глубине их обитания оказываются недостаточными. Необходимо сопоставление спектров действия фотосинтеза со спектрами поглощения водорослей и спектральными и интенсивностными характеристиками пропускаемого водой света. Спектры действия фотосинтеза при низких интенсивностях воспроизводят спектры поглощения. С увеличением интенсивности света кривая спектра действия постепенно уплощается, и при полном насыщении фотосинтеза делается спектрально-независимой от пигментного состава клеток. Таковы условия на поверхности моря, где свет ярче, чем требуется для насыщения фотосинтеза. Поэтому преобладание зеленых и бурых водорослей над красными в верхних слоях воды не может объясняться различиями в составе пигментов. Фотосинтез не зависит от состава пигментов и у водорослей с очень плотным талломом, поглощающим весь падающий свет (водоросль как бы становится "абсолютно черным телом").

Световые условия в море зависят наряду с глубиной от мутности, турбулентности, минеральной насыщенности воды и ряда других параметров. По этим характеристикам выделено 9 типов морских вод [91]. Спектральное распределение света во всех 9-ти случаях было сопоставлено с пигментными характеристиками и спектрами действия фотосинтеза бурых, зеленых и красных водорослей [53]. Красные водоросли, судя по спектральным характеристикам фикобилипротеинов, лучше других приспособлены к режимам освещения во всех типах вод, кроме очень прозрачной глубинной воды и турбулентных вод в наиболее спокойных участках моря. В частности, они оптимально адаптированы к спектральному составу света на глубинах от 0 до 10 м, где обычно доминируют зеленые водоросли. Поэтому не хроматическая адаптация, а интенсивность света является в этих условиях ведущим фактором в филогении: зеленые водоросли способны переносить очень высокие освещенности и имеют компенсационную точку фотосинтеза, расположенную выше, чем у других водорослей [151]. Только в глубинных водах, не отличающихся прозрачностью, красные водоросли являются, по наблюдениям, безусловно доминирующими видами. В этих условиях их встречаемость полностью соответствует лучшей адаптации к спектральному составу света. Зеленые и бурые водоросли, судя по спектрам действия фотосинтеза, должны проникать на наибольшую глубину в абсолютно чистой воде океана. Действительно, представители этих групп встречаются в открытом море на больших глубинах, чем в прибрежной зоне, где вода замутнена больше [43]. Наличие у глубоководных зеленых водорослей сифонксантина - ксантофилла, дополнительного по спектральным характеристикам к хлорофиллу *b*, должно повышать приспособленность к подобному местообитанию [112]. Однако и в прозрачных океанических водах красные водоросли, несмотря на худшую световую адаптацию, проникают так же глубоко, а обычно и глубже, чем зеленые и бурые [20, 101].

Итак, наличие фикобилипротеинов и прежде всего фикоэритрина, обеспечивает, по сравнению с хлорофиллом *b* (зеленые водоросли) и хлорофиллом *c* (бурые водоросли) лучшую приспособленность к условиям солнечного освещения в море, но фенотипическая хроматическая адаптация имеет несравненно меньшее значение, чем считалось ранее. Иначе красные водоросли были бы доминирующими видами не только на максимальных глубинах, но практически во всей флоре Мирового океана.

на. Можно указать три световые стратегии, позволяющие зеленым и бурым водорослям успешно конкурировать с красными [151]. Это относительное увеличение в содержании дополнительных пигментов, общее накопление пигментов и утопление таллома для максимализации поглощения. Свет остается ведущим фактором в жизни растений, но наряду с ним свою роль играют температура, минеральный состав воды, способность прикрепляться к субстрату, переносимость обсыхания и устойчивость к фотоингибированию при высоких освещенностях. Все вместе создает многообразие растительных сообществ в Мировом океане.

### 3.2. Онтогенетическая световая адаптация

Свет является наиболее важным фактором внешней среды, регулирующим жизнь растений. Световые условия обитания меняются, завися от времени суток (суточные колебания) и времен года (сезонные колебания). Поэтому растительные клетки должны нести достаточно пигментов, чтобы обеспечить активный фотосинтез при минимальной естественной освещенности. С ростом освещенности происходит постепенное насыщение фотосинтеза, затем его подавление и наконец выцветание фотосинтетических пигментов и фотодеструкция фотосинтетического аппарата [149].

Индивидуальные возможности фотосинтеза определяются нормой реакции на свет каждого организма-фотосинтетика. Автотрофы, принадлежащие к разным систематическим группам, как правило, приспособлены к разным условиям солнечного освещения. Интенсивности света, при которых уже возможен фотосинтетический рост ( $J_{\text{мин}}$ ) и при которых он достигает максимума ( $J_{\text{макс.}}$ ) сопоставлены [151] у одноклеточных морских водорослей ряда важнейших отделов (Таблица 8). Раннее насыщение фотосинтеза у цианобактерий, по сравнению с эукариотными водорослями, связано с тем, что их клетки имеют больший сухой вес, большее содержание белка и фотосинтетических пигментов [123]. У сине-зеленых водорослей, относящихся к пресноводному фитопланктону, фотосинтез достигает максимума при интенсивностях, равных  $75-200 \mu\epsilon \mu^{-2} \text{с}^{-1}$  [73]. Обнаружены также виды водорослей, живущих на свету менее  $1 \mu \text{Ем}^{-2} \text{с}^{-1}$  [151]. В то же время цианобактерии, обитающие в горячих источниках, пустынях и тропических водоемах, т.е. в условиях повышенной инсоляции, прекрасно

Значения интенсивности света, при которых начинается фотосинтетический рост биомассы у одноклеточных морских водорослей ( $J_{\text{мин}}$ ) и при которых скорость роста достигает максимума ( $J_{\text{макс}}$ ) [151]

Группы водорослей	$J_{\text{мин}}$ $\mu\text{ЕМ}^{-2} \text{с}^{-1}$	n	$J_{\text{макс}}$ $\mu\text{ЕМ}^{-2} \text{с}^{-1}$	n
Cyanophyceae	5	1	38,8 ± 6,2	14
Rhodophyceae	-	0	78,7 ± 19,7	3
Dinophyceae	6,6 ± 0,04	16	46,6 ± 6,6	17
Bacillariophyceae	6,4	17	84,0 ± 8,1	22
Cryptophyceae	1,0	1	-	0
Chlorophyceae	20,6 ± 8,1	5	211 ± 58	9

n — число опытов

растут на полном солнечном свете ( $1700 \mu \text{ЕМ}^{-2} \text{с}^{-1}$ ). Таким образом, световой диапазон, при котором возможен фотосинтетический рост, составляет три порядка.

Микрофитные, т.е. одноклеточные водоросли могут расти при гораздо меньших интенсивностях света, чем макрофиты, так как у них нет "нефотосинтезирующей фракции" биомассы [149].

Абсолютные значения интенсивности света, при которых происходит насыщение фотосинтеза, индивидуальны не только для вида, но даже штамма водорослей [167], а также стадий развития растений и комплексно связаны с несветовыми условиями, такими как температура, содержание  $\text{CO}_2$ , минеральное питание (см. [144]). Широкий световой диапазон обитания га растительных клеток возможен прежде всего благодаря регуляции биосинтеза фотосинтетических пигментов.

### 3.2.1. Влияние интенсивности света на пигментный аппарат фотосинтеза

Световая стратегия растений в ответ на изменение освещенности может быть разной. Например, эукариоты способны перемещать хлоропласты внутрь клетки или к ее плазмалемме

[130]. (У красных водорослей движение хлоропластов не известно [86])). У сине-зеленых водорослей может образовываться кальцифицированная клеточная оболочка, могут возникать газовые вакуоли, меняющие лучепреломление в клетке и ее плавучесть. Благодаря этому одноклеточные водоросли смешаются в верхние, более освещенные слои воды. Нитчатые цианобактерии на ярком свете с помощью скользящего движения перемещаются в нижние слои грунта [164]. Глубина таких передвижений невелика, но проникание света в осадочном слое не превышает 5–40 мм, причем основным фактором светопоглощения являются водоросли вышележащих слоев [187].

Свет влияет на содержание пигментов, эффективность электронного транспорта, скорость биохимических реакций в хлоропластах. Изменения могут происходить одновременно или, в зависимости от условий, преимущественно касаться одной из сплагаемых фотосинтетического аппарата [83]. Так, при высокой интенсивности света фотосинтез лимитируется темновыми реакциями [4,6].

Нередко данные получаемые разными исследователями, трудно сравнимы. Уровень фотосинтеза оценивается по разным критериям или разными методами, причем учитывается свет, которым освещаются водоросли, или тот, который поглощается ими. Последнее обстоятельство особенно важно для фитопланктона, так как с глубиной доля пропускаемого света за счет поглощения водой и собственного поглощения клетками все время уменьшается [15].

С интенсивностью света связаны изменения в абсолютном и относительном содержании фотосинтетических пигментов. У высших растений и зеленых водорослей эти изменения хорошо документированы (см. например, [13, 26]) и прослеживаются при лабораторном культивировании и в полевых опытах. У цианобактерий световую регуляцию одними из первых исследовали Надсон [127] и Сердгент [157], отметившие, что водоросли становятся зеленоватыми или желтовато-бурыми на прямом солнечном свете и возвращают себе синий цвет в тени. Данные о взаимодействии света и сине-зеленых водорослей, полученные к середине восьмидесятых годов, содержатся в обзорах Ларкума и Баррета [100] и Ваймена и Фей [188].

Непосредственная адаптация пигментного аппарата раститель-

ной клетки к перемене света заключается в следующем: 1) изменение числа хлоропластов в клетке; 2) изменение числа тилакоидов в хлоропластах; 3) изменение количества пигментов, приходящихся на единицу площади тилакоидной мембраны; 4) преимущественное изменение содержания вспомогательных пигментов фотосинтеза. Сложность ответных реакций объясняется многообразием световых условий обитания растений и наличием более чем одного рецептора, воспринимающего изменения света. Так, у высших растений фотоответ связан, кроме хорошо известного фитохрома, с рецептором, поглощающим свет в синей области спектра, и энергезависимой фоторецепцией (см. [2]). Три типа рецепции реализуются при разных интенсивностях и в разных спектральных диапазонах. Суммарный фотоответ может быть результатом всех трех типов влияний или преимущественно одного из них и осуществляться во временных интервалах, занимающих от нескольких минут и часов до нескольких суток.

Существует обратная зависимость между интенсивностью света и количеством пигментов в клетке, а также соотношением дополнительных пигментов и хлорофилла а [77,81]. Из сине-зеленых водорослей эти закономерности наиболее подробно исследованы у вида *Synechococcus* 6301 [10,103, 125,126, 137, 176, 181]. На ярком свете общая площадь тилакоидов клетки составляет 62% [10] или 50% [176] от площади, занимаемой тилакоидами при слабом свете. Одновременно содержание хлорофилла а в клетке уменьшается в три [176] или в четыре раза [126]. Трех-четырёхкратные колебания в содержании хлорофилла а можно считать физиологической "нормой" для многих фотосинтезирующих организмов, а у фитопланктона количество пигмента может меняться в 3-9 раз [57].

У другой цианобактерии, *Chlorogloea fritschii*, число тилакоидов на ярком свете ( $330 \mu \text{Em}^{-1} \text{c}^{-1}$ ) также заметно меньше, чем на низкоинтенсивном ( $15 \mu \text{Em}^{-2} \text{c}^{-1}$ ) [139]. У *Synechococcus* 6301 при плавном понижении интенсивности света от  $445 \text{ до } 31 \mu \text{Em}^{-2} \text{c}^{-1}$  содержание хлорофилла в мембранах тилакоидов начинает расти только при  $282 \mu \text{Em}^{-1} \text{c}^{-1}$  и от  $145 \text{Em}^{-2} \text{c}^{-1}$  и далее остается постоянным [176]. Количество пигментов в клетке с падением освещенности сначала меняется за счет формирования тилакоидных мембран, и когда число мембранных структур достигает определенного уровня, увеличивается содержание хлорофилла в мембранах.

Синтез С-фикоцианина у *Synechococcus* 6301 на слабом свете опережает синтез хлорофилла а [113] (Рис. 31). Про-

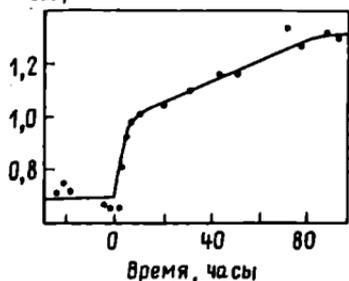
$D_{625/675}$ 

Рис. 31. Изменение соотношения С-фикоцианина и хлорофилла а, измеряемое по отношению поглощения при 625 и 675 нм ( $D_{625}/D_{675}$ ) в клетках цианобактерии *Synechococcus* 6301 при перенесении культуры с интенсивного ( $300 \mu\text{E}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ ) на слабый ( $15 \mu\text{E}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ ) свет [113]

исходит как увеличение размеров фикобилисом за счет роста боковых цилиндров, состоящих из С-фикоцианина, так и увеличение числа фикобилисом в клетке. Оно достигается за счет образования новых тилакоидных мембран, являющихся дополнительной поверхностью прикрепления для фикобилисом, и за счет увеличения числа фикобилисом на единицу поверхности мембраны. Рост биосинтеза фикобилипротеинов при перемещении в теньевые условия обитания зарегистрирован у цианобактерий *Oscillatoria redekei* [73], *S. platensis* [177], *Gloeocapsa* sp. [42], *Synechococcus* sp. [178].

Синтез фикобилипротеинов при снижении интенсивности света отмечен и у багрянок [31, 96, 150, 165]. У одноклеточной красной водоросли *P. cruentum* на свету малой интенсивности увеличивается число фикобилисом на единицу поверхности тилакоидной мембраны, но их размеры остаются неизменными [69]. Аналогично этому у макрофитной водоросли *Griffithsia pacifica* на слабом свету содержание фикобилипротеинов по отношению к хлорофиллу а увеличивается вдвое, по сравнению с ярким светом [183, 184], но соотношение фикобилипротеинов в фикобилисомах не меняется. С другой стороны, в фикобилисомах красных водорослей *Gloiopeltis furcata* [1] и *Grinellia americana* [146] при ослаблении света отмечен преимущественный по отношению к фикоцианину и аллофикоцианину синтез R-фикоэритрина.

В ряде случаев, как например, с красными водорослями *Acrosymphyton purpuriferum* [30] и *G. tikvahiae* [146] при перемещении в теньевое место обитания содержание пигментов возрастает, но преимущественного по отношению к хлорофиллу а синтеза сопровождающих пигментов (фикобилипротеинов) не происходит. Аналогичное явление наблюдается во

многих случаях у высших растений и зеленых водорослей [142]. Этот тип изменений характерен при адаптации к световым условиям в основном за счет регуляции темновых ферментативных процессов фотосинтеза.

Приведенные примеры и ряд других данных показывают, что световой ответ клетки, непосредственно затрагивающий фикобилисомы, может быть двух основных типов [79]. В первом случае изменяется пигментный состав фикобилисом, что характерно для *Synechococcus* 6301. Во втором, встречающемся, вероятно, чаще, состав фикобилисом не меняется, а падает или возрастает их число, приходящееся на клетку и единицу площади тилакоида. Эффект, кроме *P. cruentum* [69, 90], описан у багрянок *G. pacifica* [183], *Porphyridium purpureum* [107] и цианобактерии *M. aeruginosa* [148]. Число фикобилисом при увеличении или уменьшении яркости света в физиологических пределах может меняться в 2-3 раза. Подробное исследование *P. cruentum* показало, что при переходе от света интенсивностью  $6 \mu \text{Em}^{-2} \text{с}^{-1}$  к  $280 \mu \text{Em}^{-2} \text{с}^{-1}$  наряду с трехкратным уменьшением числа фикобилисом в них падает доля В-фикоэритрина [44]. Это уменьшение невелико: содержание пигмента изменяется только на 25%. Молекулярный механизм запуска этих реакций остается неясным, но известно, что интенсивность света каким-то образом влияет на метаболизм на уровне транскрипции [14, 70, 159]. Изменения в пигментном аппарате при смене интенсивности освещения заканчиваются за одни-несколько суток. Выход на новый стационарный пигментный уровень происходит с осцилляцией: колебания в относительном и абсолютном содержании фикобилипротеинов зафиксированы в первые пять часов после перемены света у красной водоросли *Corallina elongata* [8].

Давно подмечено, что представители одного и того же вида красных водорослей, обитающие на разных глубинах моря, на мелководьи имеют более светлую окраску [5]. Поэтому, вновь встает вопрос, что служит в природе причиной онтогенетического изменения пигментации у багрянок: падение интенсивности света, его хроматический состав или оба фактора действуют совместно. Освещение в течение нескольких суток красной водоросли *C. americana* зеленым или белым светом равной интенсивности показало, что их эффект одинаков, то есть клетки реагируют на интенсивность, а не на спектральный состав света. Не отмечено преимущественного синтеза R-фикоэритрина на зеленом свете, поглощаемом этим фикобилипротеином [145, 147]. Чисто внешне световая адаптация багрянок за счет изменения окрас-

ки таллома выглядит как адаптация хроматическая. Этот эффект особенно заметен по сравнению с зелеными водорослями и высшими растениями, так как фикобилипротеины значительно сильнее, чем хлорофилл *b*, отличаются по окраске от хлорофилла *a* и, кроме того, на слабом свете увеличение биосинтеза фикобилипротеинов более выражено, чем у хлорофилла *b* [81].

Еще один вариант влияния интенсивности света на фикобилисомы описан для багрянки *Callithamnion roseum*. Соотношение двух хромофоров, фикоуробилина и фикоэритробилина в R-фикоэритрине у этой водоросли зависит от освещения. Первый тип хромофоров имеет вдвое больший коэффициент поглощения, чем фикоэритробилин, и его содержание растет с падением интенсивности, компенсируя убыль света [191]. Предложено две возможных интерпретации эффекта [79]. Первая заключается в том, что свет регуляторно влияет на ферменты (или фермент), обеспечивающие синтез хромофоров. Альтернативное объяснение: два хромофора связаны с разными апопротеинами R-фикоэритрина и экспрессия апопротеинов регулируется освещенностью. По нашим данным, полученным для R-фикоэритрина сходного вида (*Callithamnion corumbosum*), этот сложный белок содержит три  $\gamma$ -субъединицы, различающиеся содержанием фикоуро- и фикоэритробилина. Надо полагать, что свет регулирует биосинтез каждого из трех  $\gamma$ -полипептидов.

Наконец, как упоминалось, красная водоросль *P. umbilicalis* содержит два типа фикобилисом, имеющих разные размеры. Их соотношение регулируется световыми условиями [9].

Изменения в пигментном аппарате при переводе водорослей на другой режим освещения завершаются в течение одних-нескольких суток. Укорочение светового периода оказывает тот же эффект, что и уменьшение интенсивности света: содержание фикобилипротеинов и хлорофилла *a* в клетке возрастает.

В тех случаях, когда с падением интенсивности света идет преимущественный синтез вспомогательных пигментов фотосинтетического аппарата, соотношение реакционных центров и антенных пигментов падает, но когда соотношение фикобилипротеинов и хлорофилла *a* меняется мало, то относительное содержание реакционных центров на слабом свете не уменьшается [140, 143].

Между количеством пигментов в клетке и уровнем фотосинтеза нет прямой зависимости. Если свет является лимитирую-

шим фактором роста, то клетка содержит максимум пигментов и уровень фотосинтеза поднимается до оптимальных на слабом свете значений. Перемещенные на яркий свет, эти клетки несмотря на большее содержание пигментов, фотосинтезируют хуже, чем клетки, предварительно адаптированные к яркому свету [16]. Переадаптация к насыщающему свету ведет к падению концентрации пигментов и к повышению уровня фотосинтетической активности на ярком свете. Но у таких водорослей падает фотосинтетическая активность на слабом свете. В пересчете на содержание клеточного белка уровень фотосинтеза остается постоянным в широком диапазоне интенсивностей.

### 3.2.2. Распределение световой энергии между двумя фотосистемами

Пигменты, принадлежащие двум фотосистемам фотосинтеза, поглощают свет в разных участках спектра. У сине-зеленых и красных водорослей, как и у всех кислородвыделяющих фотосинтетиков, фотосистема II поглощает свет преимущественно короче 680 нм, излучение с длиной волны более 680-690 нм - область поглощения фотосистемы I. Первоначальное распределение квантов между фотосистемами зависит от доли поглощения каждой из них и спектрального состава света и нередко не сбалансировано.

#### 3.2.2.1. Соотношение антенных пигментов и реакционных центров фотосистем I и II

В хлоропластах высших растений и зеленых водорослей соотношение реакционных центров первой и второй фотосистемы (РЦ I и РЦ II) близко к единице [120]. Оно оптимально для взаимодействия двух фотосистем в соответствии с Z-схемой фотосинтеза. В тилакоидах сине-зеленых и красных водорослей количество РЦ I в 2-2,3 раза [94, 98, 116, 125, 128], а в некоторых случаях и втрое [45] превосходит содержание РЦ II. Это может объясняться тем, что пластохиноны как участники фотосинтетической цепи переноса электрона образуют пуп, который не является жестко связанным с остальными переносчиками. Электроны, достигающие этого пупа от фотосистем II могут затем поступать к одному или нескольким РЦ I [50]. Поэтому Z-схема не накладывает жестких ограничений

на соотношение двух типов реакционных центров. Известно, что у синезеленых водорослей циклический перенос электрона, связанный с активностью фотосистемы I, занимает гораздо большее место, чем у высших растений. Только часть РЦ I включена в нециклический электронный транспорт и это объясняет пониженную долю реакционных центров фотосистемы II.

Количество антенного хлорофилла а, связанного с РЦ I, у цианобактерий и багряннок заметно превышает долю этого пигмента в фотосистеме II. На каждый реакционный центр первой фотосистемы приходится 110–140 молекул хлорофилла а и 35–70 молекул относится к РЦ II [49, 66, 107, 116, 128]. Иными словами, на долю фотосистемы II приходится не более 5–10% всего хлорофилла. Возникающий дисбаланс поглощения является кажущимся, так как фикобилисомы передают энергию второй фотосистеме и разница в поглощении выравнивается [119] (Рис. 32). Соотношение РЦ I, РЦ II и фикобилипротенинов у *P. cruentum* сохраняется постоянным в широком диапазоне интенсивностей (от 6 до 280  $\mu\text{Em}^{-2}\text{с}^{-1}$ ) при освещении белым светом [45]. Это не так, если водоросли переносятся на малоинтенсивный ( $15 \mu\text{Em}^{-2}\text{с}^{-1}$ ) зеленый (поглощается фотосистемой I) или красный (область поглощения фотосистемы II) свет [44]. Клетки *P. cruentum* реагируют перестройкой компонентов пигментного аппарата. Спектральный состав света в этих условиях не влияет на содержание фикобилисом в клетке и их строение, но на красном свете каждая фикобилисома связана в среднем с четырьмя РЦ II, в то время как на зеленом свете — только с двумя. Соотношение РЦ II / РЦ I изменяется от 0,26 до 1,21. Доля хлорофилла, приходящегося на реакционные центры, остается неизменной; постоянным сохраняется и соотношение фикобилисом и суммы реакционных центров РЦ I и РЦ II. Соотношение всех компонентов пигментного аппарата представлено на рис. 33.

### 3.2.2.2. Обратная хроматическая адаптация

Длительное, измеряемое сутками пребывание на интенсивном монохроматическом свете приводит у сине-зеленых и красных водорослей к дополнительному к рассмотренному выше изменению в пигментном аппарате. Так как большая часть хлорофилла а принадлежит фотосистеме I, то у клеток *P. cruentum*, предварительно выращенных на белом свете, выделение  $\text{O}_2$  при пере-

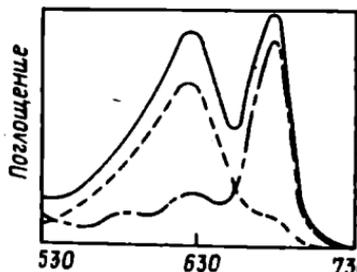


Рис. 32. Спектры поглощения клеток цианобактерии *Synechococcus* 6301 (—) и спектры поглощения фотосистемы I (·—·—·) и фотосистемы II (— — —) [119]

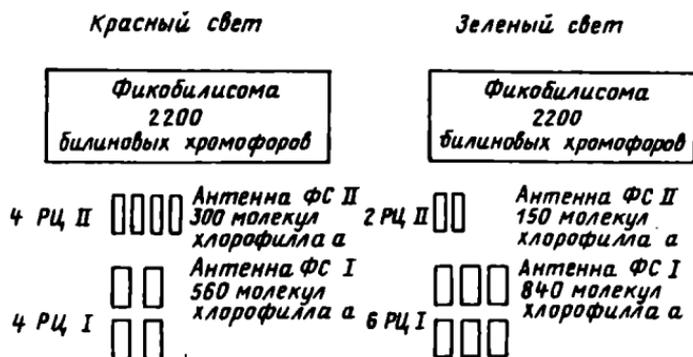


Рис. 33. Соотношение пигментов и реакционных центров фотосистем I и II у водорослей *Porphyridium cruentum*, выращиваемых на малоинтенсивном красном или зеленом свете [44]

несении их на монохроматический синий свет 435 нм, поглощаемый хлорофиллом а, составляет лишь 1/20 от количества кислорода, выделяемого при освещении светом 550 нм [108]. Такое освещение монохроматическим светом ведет к дисбалансу в работе двух фотосистем. В ответ увеличивается доля хлорофилла а, принадлежащего II-й фотосистеме (см. рис. 33). Она может возрастать для *P. cruentum* от 5% на белом свете до 40% — на синем или красном [109]. В результате переадаптации *P. cruentum* от белого к синему свету выделение  $O_2$  при освещении светом 435 нм может вновь возрастать в 15 раз [108]. Аналогично этому у клеток *Porphyra perforata*, выращенных на свету 560 нм, выделение  $O_2$  на свету 675 нм, постепенно возрастает более чем вдвое, а при возвращении на зеленый свет 560 нм через несколько суток уменьшается до прежних значений [190]. Наряду с этим освеще-

шение зеленым светом (поглощается фикоэритрином) или оранжевым (поглощается фикоцианином) ведет к падению относительного содержания фикобилипротеинов. Явление обнаружено у красных водорослей *P. cruentum* [31] и *P. perforata* [190] и у цианобактерии *A. nidulans* [72, 93]. Изменения происходят при росте водорослей на монохроматическом свете в течение 5–10 дней. Соотношение максимумов поглощения хлорофилла *a* и фикоэритрина у *P. cruentum* может меняться при этом более чем в 1,5 раза [31]. В итоге клетки водорослей, выращенных на свету, поглощаемом фикобилипротеином, т.е. фотосистемой II, содержат заметно меньше фикобилисом, чем выращенные на свету, который поглощается первой фотосистемой [116, 118, 125]. Явление предложено называть "обратной хроматической адаптацией" [93], так как оно проявляется в уменьшении доли фикобилипротеина, который преимущественно поглощает монохроматический свет. Оно рассматривается как специальный случай контроля деятельности фотосинтетического аппарата по интенсивности падающего света, при котором коррелируется действие двух систем фотосинтеза.

### 3.2.2.3. Фотосинтетические состояния 1 и 2

При интенсивности монохроматического света, не достигающей насыщения, "расбалансировка" двух фотосистем может подвергаться быстрой клеточной регуляции, протекающей за 5–10 минут. Регуляторный механизм сначала обнаружен у зеленых водорослей [28], затем найден у высших растений [180], красных водорослей [124] и цианобактерий [59]. В соответствии с предложенной терминологией [28, 124], свет, поглощаемый фотосистемой II, переводит хлоропласты в "состояние 1", а излучение, воспринимаемое фотосистемой I, приводит к "состоянию 2", в котором хлоропласты выделяют относительно меньше  $O_2$ , имеют меньшую интенсивность флуоресценции хлорофилла *a* и минимальный эффект усиления Эмерсона. Состояние 1 связано с выраженным эффектом усиления Эмерсона и повышением квантового выхода флуоресценции хлорофилла *a* [40]. Переход из состояния 1 в состояние 2 сопровождается изменением реакций в электронно-транспортных цепях фотосинтеза [23, 28]. Согласование в работе двух фотосистем заключается в увеличении активности той из них, которая "обойдена" излучаемой энергией. У высших растений переход в состояние 2 связан с фосфорилированием полипептидов светособирающего

хлорофилла а/б - содержащего комплекса [18, 102]. Триггерным механизмом реакции является степень окисленности пластохинона [11]. Фосфорилированные полипептиды комплекса способны к латеральной миграции в фотосинтетической мембране и обратимому связыванию с фотосистемой I. Таким образом, под влиянием коротковолнового света фотосистема II теряет часть антенных пигментов, передаваемых фотосистеме I. В этом заключается механизм балансировки или согласования действия двух фотосистем в условиях неравномерного поглощения света. Возвращение в состояние 1 под воздействием дальнего красного света происходит при дефосфорилировании полипептидов.

В природных условиях в состоянии 2 должны находиться клетки морских водорослей, так как водой пропускается преимущественно зеленый свет. В состоянии 2 находятся также клетки, адаптированные к темноте [158].

Предполагается, что увеличение интенсивности флуоресценции хлорофилла а, указывающее на нахождение хлоропластов в состоянии 2 (Рис. 34), происходит за счет нарушения миграции энергии к реакционным центрам фотосистемы I или II. Вероятно, это происходит в результате конформационных перестроек в мембранах хлоропластов, сопровождающих изменения в электрон-транспортной цепи фотосинтеза [33]. Последние неизбежно сопровождают переходы из одного состояния к другому вследствие дисбаланса в работе двух фотосистем.

Кинетика перехода в другое состояние [21] и ряд других характеристик процесса [51,60] у сине-зеленых и красных водорослей заметно отличаются от наблюдаемых у высших растений. Молекулярные механизмы формирования состояний 1 и 2 у организмов, имеющих фикобилисомы, еще не ясен. Первая модель протекания процесса предложена Муратой [124]. Эффект был объяснен "спилловером", или прямой миграцией энергии от антенного хлорофилла а фотосистемы I к хлорофиллу второй фотосистемы. Уровень спилловера должен быть выше в состоянии 2 и понижаться в состоянии 1. Возможность спилловера исследовалась и обсуждалась в ряде дальнейших исследований (см., например [33, 109]).

Предлагались модели переходных состояний, отличные от исходной спилловерной, которые не требовали фотофосфорилирования белков тилакоидов [24], хотя по аналогии с высшими растениями можно было бы ожидать, что у сине-зеленых и красных водорослей рассматриваемый эффект связан с фосфорилированием тилакоидных полипептидов. Такие фосфорилируемые

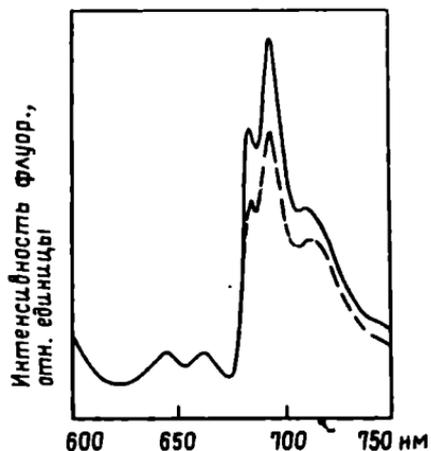


Рис. 34. Спектры флуоресценции красной водоросли *Rhodospirillum rubrum* в состояниях 1 (—) и 2 (---); возбуждение излучением 560 нм [24]

белки были найдены [24]. Из их совокупности два полипептида, 13 кД в мембранной фракции тилакоидов и 18,5 кД в фикобилисомной фракции, оказываются преимущественно фотофосфорилированными в состоянии 2 и менее — в состоянии 1 [12, 156]. Хотя существует расхождение во времени фотофосфорилирования и перехода из одного состояния в другое [22] этим полипептидам может быть отведена роль, в какой-то мере сходная с фосфорилируемым хлорофилл *a/b*-содержащим комплексом. В соответствующей модели [12] компоненты как фикобилисом так и антенного комплекса фотосистемы II претерпевают фотофосфорилирование, что приводит в состоянии 2 к взаимному расхождению фикобилисом и мембранных комплексов, позволяя фикобилисоме переместиться относительно тилакоидной мембраны и оказаться связанной с комплексом фотосистемы I.

В измененной модели переходных состояний [121] предполагается, что фикобилисомы, диссоциируя от комплекса второй фотосистемы, остаются удаленными и от первой фотосистемы. В итоге в состоянии 2 часть фикобилисом не передает поглощенную энергию реакционным центрам. Так как интенсивность флуоресценции и время жизни возбужденного состояния фикобилипротеинов в клетке при этом не возрастают [33], то необходимо включение в модель неизвестного дополнительного тушителя флуоресценции.

Переход из состояния 1 в состояние 2 и наоборот найден и у мутантов цианобактерий, утративших фикобилисомы [34, 179],

однако эффект менее выражен, чем у диких штаммов. Судя по индукции флуоресценции, часть фикобилисом в состоянии 2 действительно разобщается с реакционными центрами второй фотосистемы [122], а изменение состояния отражается на ориентации хромофоров аллофикоцианина в ядре фикобилисомы [32]. Очевидно, переход из состояния в состояние — сложная многокомпонентная реакция, затрагивающая фикобилисомы, антенные мембранные комплексы хлорофилла а и электронтранспортную цепь фотосинтеза.

### 3.2.3. Рост в темновых условиях обитания

Длительное пребывание большинства фототрофных организмов в темноте ведет к деградации и гибели клеток. Процесс подробно исследован для сине-зеленых водорослей: за обесцвечиванием следуют разрушение клеточных структур и лизис, максимально к концу двухмесячного срока [3]. К 1973 г. было описано более 20 видов сине-зеленых водорослей, факультативно способных к темновому гетеротрофному росту (см. [163]). Затем [153] скрининг около 200 видов цианобактерий показал, что таким свойством обладают многие виды. Темновая гетеротрофия более присуща нитчатым цианобактериям. Так, из 38 исследованных видов одноклеточных цианобактерий порядка *Chroococcales* только три вида, принадлежащих к роду *Arhanosarva*, и один вид рода *Chlorogloea* могут расти в темноте [152]. Источником азота для культур в этих условиях служат нитраты, соли аммония или аминокислоты, источником углерода — различные углеводы.

При стационарном темновом культивировании факультативных гетеротрофов время одной генерации клеток удлиняется и становится в 3–5 раз больше, чем на свету. Пигментный аппарат сохраняется в течение нескольких лет [186], хотя количество фикобилипротеинов в темновых культурах обычно падает до уровня 18–44% от световых культур [133, 166]. Учитывая общее высокое содержание фикобилипротеинов в клетке, их количество в темновых культурах следует считать достаточно большим (в проточных темновых культурах пигменты могут полностью утрачиваться [138]). Темновой рост цианобактерий возможен не только в лабораторных условиях. Примером природного гетеротрофа, сохраняющего пигментный аппарат фотосинтеза, может служить филаментозная почвенная цианобактерия *Chlorogloea fritschii* [186]. Наиболее интересным пред-

ставляется случай, описанный для штамма цианобактерии *Nostoc* "Mac" [88]. Это симбионт корней саговникового растения *Macrozamia lucida*. Симбиоз осуществляется в нижних слоях почвы, где из-за отсутствия света автотрофный рост невозможен. Штамм *Nostoc* "Mac" — прекрасный гетеротроф, для которого время клеточной генерации в темноте при культивировании водорослей на среде, содержащей глюкозу, составляет 48 ч и 24 ч, если к глюкозе добавлен гидролизат казеина. Для *Nostoc* "Mac" гетеротрофный образ жизни нельзя рассматривать как временное переживание неблагоприятных условий, а скорее — как нормальное состояние. Несмотря на вероятный длительный характер "гетеротрофной эволюции", который мог привести к модификациям в морфологии клеток, не отмечено никаких изменений клеточных структур при переводе культуры водоросли на "обычное" фотоавтотрофное культивирование. Количество фикобилипротеинов в растущих на свету и в темноте клетках остается одинаковым; только соотношение фикоэритрин/фикоцианин выше в темновых культурах.

Темновое культивирование возможно и для некоторых багрянок, хотя нормальное формирование пластид требует света [160]. Примером одноклеточной красной водоросли, специфически реагирующей на перенесение клеток со света в темноту, является *S. caldarium*. Этот факультативный гетеротроф, образующий на свету хлорофилл *a*; фикобилисомы и тилакоиды, в темноте утрачивает внутренние мембраны хлоропластов, полностью теряет фикобилипротеины и несет лишь следы хлорофилла [128, 129]. Макрофитная красная водоросль *Delesseria sanguinea* при помещении в темноту теряет хлорофилл, сохраняя R-фикоэритрин. Способность к формированию фикобилисом исчезает и этот фикобилипротеин существует в виде агрегатов в хлоропластах [114].

Судя по перечисленным данным, фикобилипротеинсодержащие водоросли, в темновых условиях образуют две группы.

1) Автотрофы, не способные к темновому росту, у которых подавляется синтез фикобилипротеинов, хлорофилла *a* и других структур фотосинтетического аппарата, что ведет к необратимому повреждению клеток.

2) Факультативные темновые гетеротрофы, у которых происходит избирательное частичное подавление пигмент-белковой части фотосинтетического аппарата, не используемого в темновых условиях. Остальные клеточные компартменты функционируют нормально, клетка переключается на гетеротрофный тип

питания, а при возвращении на свет образование пигментов фотосинтеза и автотрофия восстанавливаются. У факультативных гетеротрофов, сохраняющих, но не использующих в темноте пигментный аппарат фотосинтеза, можно думать, утрачен световой контроль за образованием фотосинтетического аппарата. Соответствующие гены утратили свою способность быть фотогенами [174].

### 3.3. Комплементарная хроматическая адаптация

#### 3.3.1. Открытие явления хроматической адаптации

Наиболее замечательным световым феноменом является хроматическая адаптация. Это онтогенетическое изменение пигментации водорослей, выращиваемых на свету одинаковой интенсивности, но разного спектрального состава.

История открытия и исследования названного явления напоминает этапы изучения филогенетической световой адаптации. В 1902 г. Гайдуков [67, 68] и Энгельман [56] нашли, что окраска клеток синезеленых водорослей зависит от спектрального состава света, на котором выращиваются культуры. Эффект обнаружен у нитчатого вида *Oscillatoria sancta*. Клетки водоросли становились красными на зеленом свету и приобретали сине-зеленую окраску при оранжевом освещении. Феномен был сразу же поставлен под сомнение рядом исследователей, не сумевших подтвердить подобные результаты на других видах цианобактерий. Ясность была внесена работой Бореша [29], подтвердившего первоначальные данные для *O. sancta* и обнаружившего изменение цвета у ряда других цианобактерий. Окраска обусловлена, как впервые предположил Кайлин [99], разным клеточным содержанием С-фикоэритрина и С-фикоцианина. Пигмент, более эффективно поглощающий свет, на котором находятся клетки, синтезируется в большем количестве. Поэтому С-фикоцианин и соответствующая синяя окраска культур преобладают при росте на красном свету. Бурокрасный цвет клеток проявляется с накоплением С-фикоэритрина при освещении зеленым светом. Более полное название феномена - "комплементарная хроматическая адаптация" [56]. В нем подчеркивается, что на спектральные изменения клетка отвечает накоплением пигмента, окраска которого является дополнительной к составу действующего света. Подробнее история открытия хроматической адаптации рассмотрена в работах [168, 169].

### 3.3.2. Распространенность хроматической адаптации

Хроматическая адаптация обнаружена у фикоэритринсодержащих сине-зеленых водорослей. Эта группа не является преобладающей среди цианобактерий. Более того, способность синтезировать С-фикоэритрин служит необходимым, но не всегда достаточным условием для данного феномена: многие виды цианобактерий, содержащие фикоэритрин, не способны к хроматической адаптации. Ограниченность явления объясняет его прежде отрицание рядом авторов.

После того как в 1976 г. было найдено, что цианобактерии вместо С-фикоэритрина могут содержать близкий ему по спектральным свойствам фикоэритроцианин [39], сообщалось об адаптации у одного из таких видов (*M. laminosus*) к зеленому и красному свету [61]. Позже тестирование 36 видов цианобактерий, несущих фикоэритроцианин, не подтвердило наличие у них феномена адаптации [37]. Поэтому было высказано мнение, что у *M. laminosus* изменения в составе фикобилипротеинов провоцируются не спектральным составом света, а его интенсивностью [37]. Наконец, для цианобактерии *Oscillatoria splendida* показано, что содержание фикоэритроцианина падает на красном свете и увеличивается на зеленом или белом [173]. Наиболее вероятно поэтому, что у подобных видов адаптация к составу света существует, но встречается весьма редко.

Красные водоросли, за редким исключением, всегда обладают фикоэритрином (R- или B-фикоэритрины), но для них явление хроматической адаптации не обнаружено. Световые условия жизни багрянок - практически только морских видов - значительно более однородны, нежели у цианобактерий. В отличие от красных, сине-зеленые водоросли приспособились к разнообразным условиям существования на земном шаре. Они легко адаптируются к различному составу света и к обитанию в темноте. С другой стороны, опыты с красными водорослями затруднены, так как в большинстве - это бентосные макрофитные формы. Вопрос о наличии или отсутствии хроматической адаптации у красных водорослей может потребовать "испытаний" новых видов. Перспективными в этом плане могут оказаться водоросли, световые условия обитания которых заметно варьируют.

Распространенность адаптации у цианобактерий подробно исследована на базе коллекции штаммов этих организмов в институте им. Пастера. Сначала были рассмотрены 44 С-фи-

коэритринсодержащих вида [168]; затем число проанализированных видов, обладающих С-фикоэритрином, возросло до 92 [169]. Адаптация встречается заметно реже среди одноклеточных видов, чем филаментозных [153]. По способности к адаптации все сине-зеленые водоросли разбиваются на три группы (Таблица 9).

1. Первая группа - водоросли, не обладающие этим феноменом: а) сине-зеленые водоросли, фикобилисомы которых не содержат С-фикоэритрин (не внесены в таблицу); б) многие фикоэритринсодержащие сине-зеленые водоросли.

2. Вторая группа - цианобактерии, хроматическая адаптация которых осуществляется за счет изменения в клетке содержания только С-фикоэритрина.

3. Третья группа - цианобактерии, изменяющие в зависимости от спектрального состава света синтез как С-фикоэритрина, так и С-фикоцианина.

Проведенная выборка цианобактерий достаточно велика, чтобы можно было сделать определенные количественные выводы: 40 из 92 проанализированных видов не обладают способностью к адаптации (группа I) лишь небольшое число видов - 13 - адаптируются, изменяя синтез только С-фикоэритрина (групп II) и 39 видов - хроматически адаптируемые с изменением в синтезе как С-фикоэритрина, так и С-фикоцианина (группа III). Тем самым, более 40%, то есть почти половина видов цианобактерий, обладающих С-фикоэритрином, не способны к адаптации. Малое распространение хроматической адаптации не делает этот феномен менее замечательным. Избирательный синтез пигментов фотосинтеза в зависимости от спектрального состава света - уникальное явление, достоверно известное только у цианобактерий, и из пигментов фотосинтеза - только для фикобилипротеинов.

Между группами I-III и таксономическим положением водорослей нет простой корреляции. Так, роды цианобактерий *Gloeothese*, *Gloeobacter* и *Gloeosarva* содержат только неадаптирующихся представителей. Но большинство разделов сине-зеленых водорослей (см. табл. 9) включает штаммы, относимые ко всем трем группам. Поэтому для таксономии цианобактерий данные приведенной таблицы по крайней мере недостаточны и требуется расширение сведений.

В группе I (неадаптирующиеся С-фикоэритринсодержащие виды) соотношение фикобилипротеинов не зависит от спектрального состава света и сохраняется постоянным, хотя в зависимости от вида водорослей может сильно колебаться; у одних

## Феномен хроматической адаптации у фикоэритрин-содержащих цианобактерий [168,169]

	Группа I, не адапти- рующиеся виды	Группа II, адаптация изменени- ем синте- за С- фикоэрит- рина	Группа III, адап- тация изменением синтеза С-фикоэрит- рина и С-фикоциа- нина
1	2	3	4
<b>Секция 1</b>			
<i>Synechococcus</i>	+	-	+
<i>Gloeothese</i>	+	-	-
<i>Gloeobacter</i>	+	-	-
<i>Synechocystis</i>	-	+	-
<i>Gloeosarpa</i>	+	-	-
<i>Chamaesiphon</i>	+	-	+
<b>Секция 2</b>			
<i>Dermosarpa</i>	+	-	+
<i>Xenococcus</i>	-	-	+
<i>Dermosarpella</i>	-	-	+
<i>Muxosarcina</i>	-	-	+
<i>Chroococcidiopsis</i>	-	-	+
<i>Pleurosarpa</i>	-	-	+
<b>Секция 3</b>			
<i>Oscillatoria</i>	+	-	-
<i>Pseudanabaena</i>	+	-	+

1	2	3	4
группа			
Lyngbya-Plectonema -	+	+	+
Phormidium			
Секция 4			
Nostoc	+	+	+
Calothrix	+	+	+

+ - наличие адаптации; - - отсутствие феномена

штаммов преобладающим пигментом является С-фикоцианин, у других - С-фикоэритрин; С-фикоцианин составляет от 10% до 75% белка фикобилисом, С-фикоэритрин - 25-90% [168].

Группа II - самая немногочисленная. Она открыта лишь в 1977 г. [168]. До ее обнаружения считалось, что адаптация происходит только с одновременным изменением в синтезе С-фикоэритрина и С-фикоцианина. Содержание С-фикоцианина в клетках водорослей этой группы на зеленом свете практически не меняется. Зеленый свет стимулирует синтез С-фикоэритрина, красный - подавляет, но подавление никогда не происходит полностью, поэтому в пубых условиях освещения клетки сохраняют ту или иную долю фикоэритрина, содержание которого на зеленом свете может возрастать в 3-10 раз.

У водорослей группы III С-фикоэритрин на красном свете полностью исчезает или образуется в крайне малых количествах. На зеленом свете количество С-фикоцианина составляет не более 30% "красного" синтеза. На белом свете фикобилисомы цианобактерий сохраняют состав пигментов, характерный для зеленого, но не красного света.

Описания хроматической адаптации у водорослей, живущих в естественных условиях, немногочисленны (см. например [97] и более подробно [188]). Основное число лабораторных исследований феномена выполнено на двух видах цианобактерий, *Tetraselmis* [47, 62, 63, 64, 65, 84, 85, 132, 134, 162] и *F. diplosiphon* [19, 48, 87, 135, 154, 182]. Оба вида принадлежат к группе III, где адаптация к составу света происхо-

дит благодаря синтезу С-фикоцианина и С-фикоэритрина. Позже появились работы с цианобактериями *Synechocystis* 6701 (группа II) [74, 170], *Pseudanabaena* 7409 [36, 38] (группа III) и различными видами, относимыми к роду *Nostoc*: *N. muscorum* [105], *N. commune*, *N. sp.* штамм "Mac" [95] и *Nostoc sp.* [134, 192].

### 3.3.3. Спектры действия

Цианобактерии, обладающие хроматической адаптацией, сохраняют чувствительность к интенсивности освещения. Более того, они, как и все сине-зеленые водоросли, содержащие С-фикоэритрин, характеризуются наибольшей восприимчивостью к яркости света. Поэтому опыты по регистрации хроматической адаптации возможны на свету, не превышающем  $(1-10) \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup> в с [27]. При столь низких интенсивностях проявляется действие только спектрального состава света.

Сроки завершения хроматической адаптации при перенесении культур с зеленого на красный свет или наоборот составляют 1-3 суток, иногда более. К этому времени соотношение и количество фикобилипротеинов становится в пересчете на клетку постоянным (Рис. 35).

Для регистрации спектров действия хроматической адаптации использованы два метода (см. [171]). В первом случае, поскольку начальные изменения в составе фикобилипротеинов при изменении окраски света малозаметны, клетки цианобактерий предварительно обесцвечивают пигментами, выращивая их на среде, лишенной усвояемого азота. Затем культуры подвергают кратковременному монохроматическому освещению (для этого достаточно 5-6 минут света) и помещают в темноту. Как было выяснено еще в первых опытах с *T. tenuis* [84, 85] при последующем темновом росте соотношение фикоэритрина и фикоцианина еще достаточно долго будет определяться составом этого монохроматического света. Отбор проб после темнового выращивания с анализом содержания обоих пигментов позволяет получить спектр действия их биосинтеза. В работе Хаураи и Богорада [87] использована иная методика: от клеток водорослей, выращиваемых на красном или флуоресцентном свете (обогащен зелеными лучами), отбирали аликвоты и помещали их на 6 часов на монохроматический свет разного состава. Затем, подвергая анализу соотношение С-фикоэритрина и С-фикоцианина, получали спектр действия.

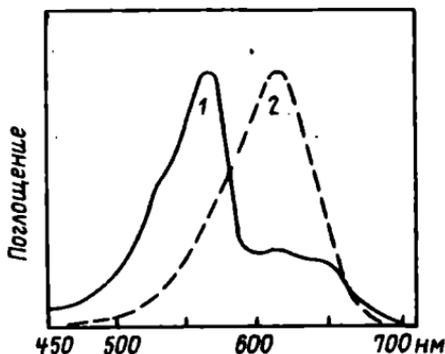


Рис. 35. Спектры поглощения фикобилисом цианобактерии *Fremyella diplosiphon*, полученных из клеток, выращенных на зеленом (1) и красном (2) свету [78]

Данные о видимой области спектров действия сходны у всех авторов: положение максимумов при 540–550 и 640–660 нм практически соответствует наиболее интенсивному поглощению С-фикоэритрина и С-фикоцианина (Таблица 10). Различия касаются ультрафиолета, где интенсивность максимумов примерно на порядок ниже, чем у видимых полос 550 и 650 нм. Дополнительная проверка [135] показала, что ультрафиолет регулирует биосинтез С-фикоцианина, но не эффективен или значительно менее эффективен в отношении С-фикоэритрина, а положение максимума при 463 нм [87], скорее всего, является артефактом, связанным с менее точной, чем в остальных случаях методикой регистрации (см. табл. 10).

Фоторецепторы хроматической адаптации не выделены в чистом виде, их предварительная идентификация может быть осуществлена только на основе регистрируемых спектров действия. Максимумы в области 540–660 нм характерны как для линейных, так и циклических тетрапирролов. Сопоставление ультрафиолетовых полос с длинноволновыми в принципе делает природу фоторецепторов более определенной. Малоинтенсивные полосы в области до 400 нм более типичны для незамкнутых тетрапирролов, как связанных с белком (фикобилиптеины), так и свободных.

В темноте у хроматически адаптируемых видов образуются полноценные фикобилисомы, прикрепленные к тилакоидной мембране и хорошо различимые на электронных микрофотографиях [133]. После красной подсветки и последующего выращивания

Максимумы спектров действия биосинтеза С-фикоэритрина и С-фикоцианина при комплементарной хроматической адаптации

Вид водоросли	С-фикоэритрин	С-фикоцианин	Литература
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	541 нм	641 нм	[65, 85]
" "	350 нм 550 нм	360 нм 660 нм	[47]
<i>Fremyella diplosiphon</i>		370 нм 645 нм	[182]
" "	387 нм 550 нм	463 нм 641 нм	[87]
<i>Synechocystis</i>	670 540 нм	торможение синтеза С-фикоэритрина, 641 нм	[170]

в темноте индукция биосинтеза С-фикоцианина и подавление синтеза С-фикоэритрина протекают длительно, практически во все время темнового гетеротрофного роста. Темновой синтез С-фикоэритрина после зеленого освещения постепенно замирает и сменяется преимущественным синтезом С-фикоцианина, как если бы все предшествующее время культура находилась на красном свете. Очевидно, биохимические процессы, связанные с индукцией синтеза С-фикоэритрина, подвержены темновой дезактивации, а для поддержания "красного" биосинтеза в темноте достаточно подавления реакций, связанных с "зеленой" фоторецепцией.

Теоретически возможны два механизма хроматической адаптации: специфический протеолиз отдельных фикобилипротеинов или индукция их синтеза. Опыты с *F. diplosiphon* и *T. tenuis*

показали, что с изменением окраски света не происходит активации специализированных протеаз и избирательного разрушения одного из фикобилипротеинов. Это продемонстрировано включением в состав фикобилипротеинов радиоуглеродной метки: фенилаланина, меченного по  $^{14}\text{C}$  [19]. Убыль одного из белков-пигментов объясняется разбавлением, т.е. падением его содержания за счет роста культуры и образования новых клеток, а также потерями, объясняемыми естественной постоянной скоростью гибели и обновления белкового фонда клеток. Аналогичные выводы сделаны при измерении содержания фикоцианина и фикоэритрина у экспоненциально растущих на монохроматическом свете культур *Synechocystis* 6701 и *Pseudanabaena* 7409 [168].

Подавление синтеза С-фикоцианина и стимуляция синтеза С-фикоэритрина при перемещении культуры с красного на зеленый свет происходят достаточно быстро, в течение 45–90 минут, что показано наиболее чувствительными методами регистрации: по флуоресценции фикобилипротеинов, по включению в состав белков изотопа серы  $^{35}\text{S}$  и иммунохимически [71]. При обратном переносе на красный свет синтез фикоэритрина блокируется также за 45–90 минут. Синтез фикобилипротеинов при смене освещения происходит весьма интенсивно (до  $5 \cdot 10^6$  молекул пигментов в секунду на 1 мг клеток) [27].

Добавка в среду культивирования *F. diplosiphon* рифампицина, являющегося ингибитором РНК-полимеразы, подавляет синтез С-фикоэритрина за 45 минут, то есть за то же самое время что и перенос культуры с красного на зеленый свет. Кинетики ингибирования синтеза рифампицином и красным светом совпадают. С другой стороны, добавка хлорамфеникола в концентрации 10 мг/мл, подавляющего синтез белка на рибосомах, ингибирует синтез фикоэритрина в течение 5 минут. Это свидетельствует о физиологическом контроле хроматической адаптации на уровне транскрипции.

По аналогии с фитохромом, существующим в двух светопоглощающих формах, в модели фоторецепции, рассматриваемой Шайбе [161], предполагается, что хроматическая адаптация регулируется одним фоторецептором, существующим в "зеленой" или "красной" взаимопревращающихся формах Ф. 550 и Ф. 650. Условием модели является предположение о фотоактивности обеих форм рецептора, в то время как фитохром активен

только в одной из своих светопоглощающих форм. Данные по транскрибированию генов С-фикоэритрина и С-фикоцианина также говорят, скорее, о двух самостоятельных фоторецепторах хроматической адаптации (см, далее). Об этом же свидетельствуют опыты по изучению мутантных штаммов *F. diplosiphon*, обладающих хроматической адаптацией [17, 35, 41, 169]. Получено три типа таких мутаций: 1) в фикобилисомах мутантов втрое возрастает содержание аллофикоцианина и сохраняется светозависимая регуляция биосинтеза С-фикоцианина и С-фикоэритрина; 2) фикобилисомы утрачивают С-фикоэритрин, светорегулируемый биосинтез С-фикоцианина сохраняется; 3) светоиндуцируемый биосинтез С-фикоцианина утрачивается, поэтому на красном и зеленом свете в фикобилисомах преобладает С-фикоэритрин. Первый тип мутаций вряд ли добавляет какие-либо данные о природе фоторецепции. В последних двух случаях независимые изменения в образовании двух пигментов проще всего связать с присутствием в клетках двух фоторецепторов.

### 3.3.4. Изменения пигментного состава фикобилисом

Анализ состава фикобилисом цианобактерий *Pseudanabaena* 7409 выявил новые данные в пользу транскрипционного контроля хроматической адаптации [38]. Исследованный вид относится к группе III, в которой адаптация затрагивает синтез фикоэритрина и фикоцианина. Фикобилисомы водорослей, выращенных на зеленом свете, содержат С-фикоэритрин и С-фикоцианин в соотношении 3:1 [36]. С перемещением культуры на красный свет синтез С-фикоэритрина подавляется вплоть до полной утраты пигмента фикобилисомами. Одновременно начинается интенсивный синтез С-фикоцианина, причем образуется второй изопротеин С-фикоцианина. Это выявляется электрофорезом фракций фикобилипротеинов. На зеленом свете С-фикоцианин состоит из  $\alpha_1$ -субъединицы 17,4 кД и  $\beta_1$ -полипептида 21,7 кД. На красном свете к ним добавляются еще два полипептида - 18,2 кД ( $\alpha_2$ ) и 20,2 кД ( $\beta_2$ ).

Максимумы спектров поглощения, хроматографически разделенных и ренатурированных полипептидных субъединиц, находятся при 623 нм ( $\alpha_1$ ), 622 нм ( $\alpha_2$ ), 610 нм ( $\beta_1$ ) и 604 нм ( $\beta_2$ ). Соотношение "старого" фикоцианина (С-

фикоцианина I) и "нового" (С-фикоцианина II) на красном свете устанавливается равным 1:1. Анализ аминокислотного состава двух С-фикоцианинов показывает, что каждая из субъединиц "нового" С-фикоцианина не может быть результатом модификации уже синтезированного "старого" пигмента, например, за счет потери части концевых аминокислотных остатков. Поэтому образование С-фикоцианина - II есть результат активации другого гена, то есть регуляция белкового синтеза на уровне транскрипции. Обнаружение в фикобилисомах одновременно двух С-фикоцианинов представляется замечательным примером тонкой клеточной дифференцировки у прокариотов на молекулярном уровне. Вместе с тем, в группах II и III не выявлено никакого С-фикоэритрина II, подобного С-фикоцианину II. На зеленом свете происходит накопление того же самого С-фикоэритрина, который обнаруживается в фикобилисомах при красном освещении.

Для проверки обнаруженного механизма адаптации к красному свету был дополнительно проанализирован ряд штаммов цианобактерий, принадлежащих к группе III, и у большинства из них (24 штамма из 31) на красном свете также обнаружен синтез С-фикоцианина II [36]. Очевидно, механизм адаптации является универсальным. Но соотношение двух С-фикоцианинов не обязательно составляет 1:1. Оно определяется видом и штаммом цианобактерий и, например, у *T. tenuis* равно (1,5-2) : 1 в пользу "старого" пигмента.

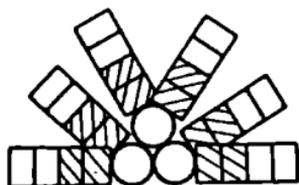
Конкретное количественное соотношение С-фикоцианинов I и II, говорит о том, что на красном свете частичная замена "старого" фикоцианина новым затрагивает лишь определенные наружные участки фикобилисом. С этим согласуется происходящее одновременно изменение в составе пинкерных полипептидов. Их роль в фикобилисомах впервые выяснена именно в опытах с хроматически адаптируемыми видами цианобактерий [75, 192].

Анализ накопления транскриптов генов С-фикоцианина у культуры водорослей *F. diplosiphon* и определение времени их полужизни (10-30 мин) показывает, что гены С-фикоцианина I транскрибируются в одинаковых количествах на красном и зеленом свете, а мРНК С-фикоцианина II формируется только при красном свете. Зеленый свет индуцирует транскрипцию генов С-фикоэритрина [117] и активно подавляет считывание мРНК С-фикоцианина II (транскрипты не детектируются уже через два

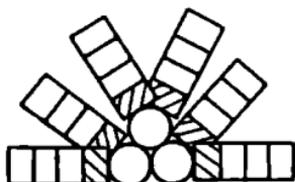
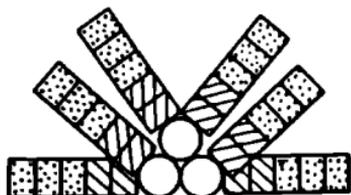


Зеленый свет

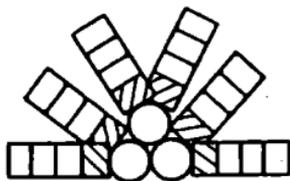
Красный свет



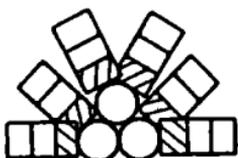
1



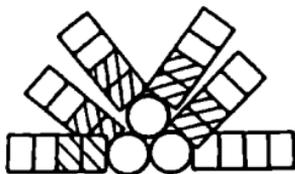
2



3



4



5



□ - С-фикоэритрин    ▨ - С-фикоцианин I    ▩ - С-фикоцианин II

Рис. 37. Изменения боковых цилиндров полудисковидных фикобилисом при хроматической адаптации:

1) цианобактерия *Tolypothrix tenuis*;

2) цианобактерия *Fremyella diplosiphon*;

3) цианобактерия *Pseudanabaena* 7409;

4) цианобактерия *Nostoc* sp.;

5) цианобактерия *Synechocystis* 6701

ного содержания в фикобилисомах и сходства окраски с окраской С-фикоцианина вопрос о функции этого пигмента в хроматической адаптации оставался открытым. Стабильность ядра фикобилисом указывает на неучастие аллофикоцианина в процессе. Практически во всех случаях удается проследить, что хроматическая адаптация связана с изменением длины и пигментного состава боковых цилиндров фикобилисом, а параллельно смене гексамерных дисков в цилиндрах сменяется состав линкерных полипептидов (Рис. 37).

Таким образом, перестройка фикобилисом при хроматической адаптации заключается в следующем: 1) центральная часть фикобилисом, ее аллофикоцианиновое ядро, остается неизменной; 2) прилегающие к ядру ближайшие диски боковых цилиндров, образованные С-фикоцианином, также не изменяются; 3) наружные диски, состоящие из С-фикоэритрина или С-фикоцианина II достраиваются или исчезают в зависимости от окраски света [80, 172]; 4) параллельно изменениям наружных дисков-гексамеров синтезируются или исчезают бесцветные связующие полипептиды [80]. Общее правило [169] заключается в том, что на зеленом свете за счет синтеза С-фикоэритрина боковые цилиндры фикобилисом становятся несколько длиннее. Изменения размеров фикобилисом более заметны в группе II, где на красном свете С-фикоэритрин исчезает, а компенсирующего синтеза С-фикоцианина II не происходит.

### 3.3.5. Морфологические изменения клеток, сопровождающие хроматическую адаптацию

Изменение состава фикобилипротеинов – не единственный спектральный эффект света. Освещенность заметно сказывается на морфологии клеток. *F. diplosiphon* и *T. tenuis* являются филаментозными цианобактериями, размер нитей которых может заметно меняться. На зеленом свете длина филаментов *F. diplosiphon* составляет 450 нм, поперечные размеры клеток вдвое меньше, чем линейные. На красном свете филаменты не превышают в длину 50 нм, а клетки вместо цилиндрической принимают сферическую форму [19]. Разрушение и укорочение нитей происходит в результате быстрой гибели части клеток, названных некрдиями. За первые 12 часов освещения красным светом исчезает до 20% всех бывших до этого на зеленом свете клеток. В других опытах для размеров нитей, образуемых *F. diplosiphon*, получены сходные данные [27]. На белом све-

ту их длина составляет  $588 \pm 430$  нм, на красном —  $42 \pm 32$  нм. Перенесение с красного на зеленый свет удлиняет трихомы до  $346 \pm 302$  нм. Описан еще один эффект светового воздействия на выращивание *F. diplosiphon* [48]. У клеток, растущих гетеротрофно в темноте и ежедневно на 5 минут помещаемых на зеленый свет, скорость роста и уровень синтеза фикобилинпротеинов и хлорофилла *a* постепенно падают. Эффект обращается таким же кратковременным 5-минутным освещением красным светом.

Клетки *T. tenuis* на смену освещения также отвечают изменением своей морфологии. Образуемые ими нити длиннее у культур, растущих под флуоресцентными лампами, и короче у растущих на красном свете [27,172].

Филаментация под действием освещения хорошо выражена еще у двух исследованных видов: *N. muscorum* [104, 105, 106] и *N. commune* [106]. Эти цианобактерии на красном свете образуют удлиненные трихомы, а на зеленом распадаются на отдельные клетки, имеющие сферическую форму. Красный максимум в спектре действия филаментации *N. muscorum* расположен при 650 нм. Эффект удлинения исчезает на зеленом свете с максимумом в спектре действия при 525 нм [105]. Остается неясным [169], почему при общем сходстве морфологических изменений у *F. diplosiphon* с *N. muscorum* и *N. commune* они имеют на красном и зеленом свете различную направленность.

На белом свете культура *N. commune* состоит из малых недифференцированных клеток, а *N. muscorum* — из подвижных трихомов. Это может объясняться разными квантовыми эффективностями красного и зеленого света для двух видов. В темновых условиях *N. commune* образует массу крупных недифференцированных клеток [106]. Но даже краткое предварительное освещение красным светом стимулирует последующее образование филаментов, сохраняющихся до 4-х суток пребывания в темноте. Трихомы могут компоноваться из недифференцированных клеток и в отсутствии света, но для этого необходим относительно длительный срок: 1–2 недели для *N. commune* и примерно 2 месяца для *N. muscorum*. Морфология клеток контролируется не только освещенностью, но и химическими факторами. На одной из широко распространенных сред для культивирования цианобактерий, среде Кратца–Майерса, клетки *N. muscorum* на зеленом свете имеют цилиндрическую форму и сферическую — на красном. Но на среде ВГ-11, обогащенной минеральным азотом и обедненной фосфором и сульфатами, клетки остаются сферическими.

СПИСОК  
ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Бекасова О.Д., Романюк В.А., Звапинский В.И. // Био-физика, 1981. - 26. - С. 74-79.
2. Бухов Н.Г. // Физиол. растений. - 1987. - 34. - С. 748-757.
3. Гусев М.В., Никитина К.А. // Успехи микробиологии. - 1978. - 13. - С. 30-49.
4. Литвин Ф.Ф., Звапинский В.И. // Успехи совр. биологии. - 1983. - выпуск 3. - 339- 357.
5. Любименко В.Н., Тиховская З.П. // Дневник всесоюзного съезда ботаников. Ленинград - 1928. - С. 40-41.
6. Мокроносов А.Т. // Онтогенетический аспект фотосинтеза, М. Наука.-1981. - 196 с.
7. Титлянов Е.А. // Биология моря. - 1976. - 1. - С. 3-12.
8. Algarra P., Niell F.X.// Aquatic Bot. - 1990. - 36. - P. 127-138.
9. Algarra P., Thomas J.C., Mousseau A.// Plant. Physiol. - 1990. - 92. - P. 570-576.
10. Allen J.F., Bennet J., Steinbach K.E., Arntzen C.J.// Nature. - 1981. - 291. - P. 25-29.
11. Allen J.F., Sanders C.E., Holmes N.G.// FEBS Lett. - 1985. - 193. - P. 271-275.
12. Allen M.M.// Bacteriol. - 1968. - 99. - P. 836-841.
13. Anderson J.M.// Annu. Rev. Plant. Physiol. - 1986. - 37. - P. 93-136.
14. Anderson L.K., Grossman A.R.// J. Bacteriol. - 1990. - 172. - P. 1297-1305.
15. Baker K.S., Smith R.C.// Limnol. Oceanogr. - 1982. - 27. - P. 500-509.
16. Beardall J., Morris J.// Mar. Biol. - 1976. - 37. - P. 377-387.
17. Beguin S., Guglielmi G., Rippka R., Cohewbazel G.// Biochimie.- 1985. - 67. - P. 109-117.
18. Bennet J.// Nature. - 1977. - 269. - P. 344-356.
19. Bennet A., Bogorad L.// J. Cell. Biol. - 1973. - 58. - P.419-435.
20. Berthold G. // Arten Mitt. Zool. Sta. Neapel - 1882.
21. Biggins J., Bruce D.// Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - 806. - P. 230-236.
22. Biggins J., Bruce D.// In: Progr. Phot. Res. (Ed. Biggins J.) Martinus Nijhoff, Dordrecht. - 1987. - 2. - P. 773-776.

23. Biggins J., Bruce D.// Photosynth. Res. - 1989. - 20. - P.1-34.
24. Biggins J., Campbell C.L., Bruce D.// Biochim. Biophys. Acta.- 1984. - 767. - P. 138-144.
25. Blinks L.R.// Sears Foundation J. Mar. Res. - 1955. - 14. - P. 363-373.
26. Boardman N.K.// Annu. Rev. Plant Physiol. - 1977. - 28. - P. 355-377.
27. Bogorad L.// Annu. Rev. Plant. Physiol. - 1975. - 26. - P. 369-401.
28. Bonaventura C., Myers J.// Biochim. Biophys. Acta. - 1969. - 189. - P. 336-383.
29. Boresch K.// Arch. Protistewkol. - 1922. - 44. - P. 1-77.
30. Breeman A.M., Hoopen A. ten.// Phycologia. - 1984. - 23. - P.223-231.
31. Brody M., Emerson R.// Am. J. Bot. - 1959. - 46. - P. 433-440.
32. Bruce D., Biggins J.// Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - 810. - P. 295-301.
33. Bruce D., Biggins J., Steiner T., Thewalt M.// Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - 806. - P. 237-246.
34. Bruce D., Brimble S., Bryant D.A.// Biochim. Biophys. Acta. - 1989. - 974. - P. 66-73.
35. Brunc B.U., Briggs W.R., Grossman A.R.// J. Bacteriol. - 1989. - 171. - P.901-908.
36. Bryant D.A.// Europ. J. Biochem. - 1981. - 119. - P. 425-429.
37. Bryant D.A.// J. Gen. Microbiol. - 1982. - 128. - P. 835-844.
38. Bryant D.A., Cohen-Bazire G.// Europ. J. Biochem. - 1981. - 119. - P. 415-424.
39. Bryant D.A., Glazer A.N., Eiserling F.A.// Arch. Microbiol. - 1976. - 110. - P. 61-75.
40. Canaani O., Malkin S.// Biochim. Biophys. Acta. - 1984. - 766. - P. 513-524.
41. Cobley J.G., Miranda R.D.// J. Bacteriol. - 1983. - 153. - P. 1486-1492.
42. Cox G., Benson D., Dwarto D.M.// Arch. Microbiol. - 1981. - 130. - P. 165-174.
43. Crosset R.N., Drew E.A., Larkum A.W.D.// Nature. - 1965. - 207. - P. 547-548.
44. Cunningham F.X. Jr., Dennenberg R.J., Joursinic P.A., Gantt E.// Plant. Physiol. - 1990. - 93. - P. 888-895.
45. Cunningham F.X. Jr., Dennenberg R.J., Mustardy L., Jursinic P.A., Gantt E.// Plant Physiol. - 1989. - 91. - P. 1179-1187.
46. Czarnowski M.// Wiadom. Bot. - 1984. - 28. - P. 9-26.

47. Diakoff S., Scheibe J.// *Plant. Physiol.* - 1973. - 51. - P.382-385.
48. Diakoff S., Scheibe J.// *Physiol. Plant.* - 1975. - 34. - P. 125-128.
49. Diner B.A., Wollman F.A.// *Plant Physiol.* - 1979. - 63. - P. 20-25.
50. Diner B.A., Wollman F.A.// *Plant Physiol.* - 1979. - 63. - P. 26-29.
51. Dominy P.J., Williams W.P.// *Biochim. Biophys. Acta.*, - 1987. - 892. - P. 264-274.
52. Doty M.S., Gilbert W.J., Abbot J.A.// *Phycologia.* - 1974. - 13. - P. 345-357.
53. Dring M.J.// *Limnol. Oceanogr.* - 1981. - 26. - P. 271-284.
54. Engelman T.W.// *Bot. Ztg.* - 1982. - 40. - S. 419-426.
55. Engelman T.W.// *Bot. Ztg.* - 1983. - 41. - S. 1-29.
56. Engelman T.W.// *Arch. Anat. Physiol.* - 1902. - P. 333-335.
57. Falkowski P.G., Owens T.G.// *Plant. Physiol.* - 1980. - 66. - P. 592-595.
58. Fogg G.E.// In: *The Cyanobacteria* Eds. P. Fay, C. Van Baalen. Elsevier. - 1983. - P. 393-414.
59. Fork D.C., Satoh K.// *Photochem. Photobiol.* - 1983. - 37. - P. 421-427.
60. Fork D.C., Satoh H.// *Annu. Rev. Plant. Physiol.* - 1986. - 37. - P. 335-381.
61. Füglistaller P., Widmer H., Sidler W., Frank G., Zuber H.// *Arch. Microbiol.* - 1981. - 129. - P. 268-274.
62. Fujita Y., Hattori A.// *Plant. Cell Physiol.* - 1960. - 1. - P. 281-292.
63. Fujita Y., Hattori A.// *Plant Cell Physiol.* - 1960. - 1. - P. 293-303.
64. Fujita Y., Hattori A.// *Plant Cell Physiol.* - 1962. - 3. - P. 209-220.
65. Fujita Y., Hattori A.// *J. Biochem.* - 1962. - 52. - P. 38-42.
66. Fujita Y., Murakami A.// *Plant Cell Physiol.* - 1987. - 28. - P. 87-122.
67. Gaidukov N.// *Abh. Preuss. Akad. Wiss.* - 1902. - 5.
68. Gaidukov N.// *Ber. dtsh. Bot. Ges.* 1903 - 21. - S.517-522.
69. Gantt E.// *BioScience.* - 1977. - 25. - P. 781-788.
70. Gasparich G.E., Barby J.S., Bryant D.A., Porter R.D., Steven S.E. Jr.// In: *Progr. Phot. Res.* Ed. J. Biggins, Martinus Nijhoff, Dordrecht, - 1987. - 4. - P. 761-764.
71. Gendel S., Ohad J., Bogorad L.// *Plant Physiol.* - 1979. - 64. - P. 768-790.

72. Ghosh A.K., Govindjee// *Biophys. J.* - 1966. - 6. - P. 611-619.
73. Gibson C.E.//*Br. Phycol. J.* - 1987. - 22. - P. 187-191.
74. Gingrich J.C., Blaha L.K., Glazer A.N.// *J. Cell. Biol.* - 1982. - 92. - P. 261-268.
75. Gingrich J.C., Williams R.C., Glazer A.N.// *J. Cell Biol.* - 1982. - 95. - P. 170-178.
76. Glewer H.E.// In: *Adv. Aquat. Microbiol.* Eds H.W. Jannasch, P.J. Williams, Academic, New York. -1985. - 3. - P. 49-107.
77. Goedheer J.C.// *Photosynthetica* - 1976. - 10. - P. 411-422.
78. Grabowski J., Gantt E.// *Photochem. Photobiol.* - 1978. - 28. - P. 47-54.
79. Grossman A.R., Lemaux P.G., Conley P.B.// *Photochem. Photobiol.* - 1986. - 44. - P. 827-837.
80. Grossman A.R., Lemaux P.G., Conley P.B.// *Photosynth. Res.* - 1988. - 17. - P. 32-56.
81. Halldal P.// In: *Photobiology of Microorganisms.* Ed. P. Halldal Wiley, London. - 1970. - P. 17-58.
82. Harder R.// *Z. Bot.* - 1923. - 15. - P. 305-355.
83. Harris G.P.// *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* - 1978. - 10. - P. 1-171.
84. Hattori A., Fujita Y.// *J. Biochem.* - 1959. - 46. - P. 521-524.
85. Hattori A., Fujita Y.// *J. Biochem.* - 1959. 46. - P. 1259-1261.
86. Haupt W.// *Annu. Rev. Plant Physiol.* - 1982. - 33. - P. 205-233.
87. Haury J., Bogorad L.// *Plant Physiol.* - 1977. - 60. - P. 835-839.
88. Hoare D.S., Ingram L.O., Thurston E.L.// *Arch. Microbiol.* - 1971. - 78. - P. 310-321.
89. Hoge F.E., Swift R.N.// *Remot. Sen. Envir.* - 1990. - 34. - P. 19-25.
90. Jahn W., Steinbiss J., Zetsche K.// *Planta* - 1984. - 161. - P. 536-539.
91. Jerlov N.G.// *Marine Optics.* Elsevier Oceanography Series. Elsevier Publishing Company, Amsterdam. - 1976. - Series 14. - 231 pp.
92. Johnson P.W., Sieburth J.M.// *Limnol. Oceanogr.* - 1979. - 24. - P. 928-935.
93. Jones L.W., Myers J.// *Plant Physiol.* - 1964. - 39. - P. 938-946.
94. Kawamura M., Mimuro M., Fujita Y.// *Plant Cell Physiol.* - 1979. - 20. - P. 697-705.
95. Kipe-Nolt J.A., Stevens S.E., Jr., Bryant D.A.// *Plant Physiol.* - 1982. - 70. - P. 1549-1553.

96. Koch W.// Arch. Mikrobiol. - 1953. - 18. - P. 232-241.
97. Kohl J.G., Niclisch A.// Int. Rev. Ges. Hydrobiol. - 1981. - 66. - P. 83-94.
98. Kursar T.A., Alberte R.S.// Plant. Physiol. - 1983. - 72. - P. 409-414.
99. Kyliw H.// Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. - 1910. - 69. - p. 169-239.
100. Larkum A.W.D., Barret J.// Adv. Bot. Res. - 1983. - 10. - P. 1-219.
101. Larkum A.W.D., Drew E.A., Grosset R.N.// J. Ecol. - 1967. - 55. - P. 361-371.
102. Larsson U.K., Anderson B.// Biochim. Biophys. Acta. - 1985. - 809. - P. 396-402.
103. Lau R.H., MacKenzie M.M., Doolittle W.F.// J. Bacteriol. Dec. - 1977. - 132. - P. 771-778.
104. Lazaroff N.// J. Phycol. - 1966. - 2. - P. 7-17.
105. Lazaroff N., Schiff J.// Science. - 1967. - 137. - P. 603-607.
106. Lazaroff N., Vishniac N.// J. Gen. Microbiol. - 1961. - 25. - P. 365-374.
107. Levy J., Gantt E.// J. Phycol. - 1988. - 24. - P. 452-458.
108. Ley A.C., Buttler W.L.// Biochim. Biophys. Acta. - 1977. - 462. - P. 290-299.
109. Ley A.C., Butler W.L.// Plant Physiol. - 1980. - 65. - P. 714-722.
110. Li W.K.W., Subba Rao D.V., Smith J.G., Cullen J.J., Irwin B., Platt T.// Science - 1983. - 219. - P. 292-295.
111. Littler M.M., Littler D.S., Blair S.M., Norris J.N.// Science - 1985. - 227. - P. 57-59.
112. Lobban C.S., Harrison P.J., Duncan H.J.// The Physiological Ecology of seaweeds, Cambridge University Press, Cambridge UK - 1985. - P. 242.
113. Lönneborg A., Lind L.K., Kalla S.R., Gustaffson P., Öquist G.// Plant Physiol. - 1985. - 78. - P. 110-114.
114. Luning K., Schmitz K.// Phycologia. - 1988. - 27. - P. 72-77.
115. Manodori A., Melis A.// FEBS Lett. - 1985. - 181. - P. 79-82.
116. Manodori A., Melis A.// Plant Physiol. - 1986. - 82. - P. 182-189.
117. Mazel D., Guglielmi G., Houmard J., Sidler W., Bryant D.A., DeMarsac N.T.// Nucl. Acid Res. - 1986. - 14. - P. 8279-8290.
118. Melis A.// Z. Naturforsch. C. - 1989. - 44. - P. 109-118.
119. Melis A.// Phil. Trans. Roy Soc. London B. - 1989. - 323. - P. 397-409.

120. Melis A., Brown J.S.// Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 1980. - 77. - P. 4712-4716.
121. Mullineaux C.W., Allen J.F.// Biochim. Biophys. Acta. - 1988. - 934. - P. 98-107.
122. Mullineaux C.W., Holzwarth A.R.// FEBS Lett. - 1990. - 260. - P. 245-248.
123. Mur L.R., Cons H.J., Van Liere L.// FEMS Lett. - 1977. - 1. - P. 335-338.
124. Murata N.// Biochim. Biophys. Acta. - 1969. - 172. - P. 242-251.
125. Myers J., Graham J.-R., Wang R.T.// Plant Physiol. - 1980. - 66. - P. 1144-1149.
126. Myers J., Kratz W.A.// J. Gen. Physiol. - 1955. - 39. - P. 11-22.
127. Nadson G.// Bull. jardin botan. St. Petersburg. - 1908. - 8.
128. Nichols K.E., Bogorad L.// Nature. - 1960. - 188. - P. 870-877.
129. Nichols K.E., Bogorad L.// Bot. Gaz. - 1962. - 124. - P. 85-93.
130. Nultsch W.// In: Algal Physiology and Biochemistry. Ed. W.D.P. Stewart, Blackwell Sci. Publ. Oxford. - 1974. - P. 864-893.
131. Oelmuller R., Grossman A.R., Briggs W.K.// Plant Physiol. - 1989. - 90. - P. 1486-1491.
132. Ohki K., Fujita Y.// Plant Physiol. - 1989. - 90. - P. 1486-1491.
133. Ohki K., Fujita Y.// Plant Cell Physiol. - 1978. - 19. - P. 7-15.
134. Ohki K., Gantt E.// J. Phycol. - 1983. - 19. - P. 359-364.
135. Ohki K., Watanabe M., Fujita Y.// Plant Cell Physiol. - 1982. - 23. - P. 651-656.
136. Oltmans F.// Jahrb. Wiss. Bot. - 1892. - 23. - S. 349-440.
137. Ohquist G.// Physiol. Plant. - 1974. - 30. - P. 38-40.
138. Paū P.// Canad J. Microbiol. - 1972. - 18. - P. 275-280.
139. Peat A., Whitton B.A.// Arch. Microbiol. - 1967. - 57. - P. 155-180.
140. Perry M.J., Talbot M.C., Alberte R.S.// Marine Biol. - 1981. - 62. - P. 91-102.
141. Platt T., Subba Rao D.V., Irvin B.// Nature. - 1983. - 300. - P. 702-704.
142. Prezelin B.B.// Can. Bull. Fish Aquat. Sci. - 1981. - 210. - P. 1-43.
143. Prezelin B.B., Alberte R.S.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1978. - 75. - P. 1801-1804.

144. Ramus J.// In: The Biology of Saweeds. Eds 'C.S. Lobbau, M.J. Wynne Blackwell Sci. Publications, Oxford. - 1981. - P. 458-492.
145. Ramus J.// J. Phycol. - 1983.-19. - P. 173-178.
146. Ramus J., Beale S.J., Mauzerall D.// Mar. Biol. - 1976. - 37. - P. 231-238.
147. Ramus J., Beale S.J., Mauzerall D., Howard K.L.// Mar. Biol. - 1976. - 37. - P. 223-229.
148. Raps S., Kycia J.H., Ledbetter M.C., Siegelman H.W.// Plant Physiol. - 1985. - 79. - P. 983-987.
149. Raven J.A.// In: MBL Lectures in Biology. Allan R. Liss Inc. New York. - 1984. - 4. - 587 pp.
150. Rhee C., Briggs W.R.// Bort. Gas. - 1977. - 138. - P. 123-128.
151. Richardson K., Beardall J., Raven J.A.// New Phytol. - 1983.--93. - P. 157-193.
152. Rippka R.// Arch. Mikrobiol.- 1972. - 87. - S. 93-98.
153. Rippka R., Deeeruelles J., Waterbury J.B., Herdman M., Waterbury J.B., Herdman M., Stanier R.Y.// J. Gen. Microbiol. - 1979. - 11. - P. 1-61.
154. Rosinski J., Hainfeld J.F., Rigbi M., Siegelman H.W.// Ann. Bot. - 1981.- 47. - P. 1-12.
155. Saffo M.B.// BioScience. - 1987. - 37. - P. 654-664.
156. Sanders C.E., Melis A., Allen J.F.// Biochim. Biophys. Acta.- 1989. - 976. - P. 1-12.
157. Sargent H.C.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1934. - 20. - P. 251.
158. Satoh H., Fork D.C.// Biochim. Biophys. Acta. - 1983. - 722. - P. 190-196.
159. Schäfer E., Briggs W.R.// Photobiochem. Photobiophys. - 1986.-12. - P. 305-320.
160. Sheath R.G., Hellebust J.A., Sawa T.// Phycologia. - 1977. - 16. - P. 165-176.
161. Scheibe J.// Science - 1972. - 176. - P. 1037-1039.
162. Siegelman H.W., Kycia J.H.// Plant Physiol. - 1982. - 70. - P. 887-897.
163. Smith A.J.// In: The Biology of "blue-green algae. Eds .G. Carr, B.A. Whitton. Berkeley - Los Angeles Univ. of California Press. - 1973. - P. 1-38.
164. Sournia A.// Phycologia. - 1976. - 15. - P. 363-366.
165. Staehelin L.A., Giddings T.H., Badanie P., Krzymowski W.W.// In: Light transducing membranes. Academic. New York. - 1978. - P. 335-355.

166. Stanier R.Y., Cohen-Bazire G.// *Annu. Rev. Microbiol.* - 1977. - 31. - P. 225-274.
167. Stanier R.Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G.// *J. Bacteriol. Rev.* - 1971. - 35. - P. 171-205.
168. Tandeau de Marsac N.// *J. Bacteriol.* - 1977. - 130. - P. 82-91.
169. Tandeau de Marsac N.// *Bull. Inst. Pasteur.* - 1983. - 81. - P. 201-254.
170. Tandeau de Marsac N., Castets A.-M., Cohen-Bazire G.// *J. Bacteriol.* - 1980. - 142. - P. 310-314.
171. Tandeau de Marsac N., Houmard J.// *Meth. Enzymol.* - 1988. - 167. - P. 318-328.
172. Tandeau de Marsac N., Mazel D.// *Photosynth. Res.* - 1988. - 18. - P. 133-161.
173. Thomas J.C., Mousseau A., Hauswirth N.// In: *Advances in Photosynthesis Research*. Ed. C. Sybesma, M. Nijhoff. Dr. W. Junk Publ., Hague - 1984. - 2. - P. 7691-7694.
174. Thompson W.F., Kaufman L.S., Watson J.C.// *BioEssays.* - 1986. - 3. - P. 153-159.
175. Tsinoremas N.F., Hubbard J.A.M., Evans M.C.W., Allen J.F.// *FEBS Lett.* - 1989. - 256. - P. 106-110.
176. Utkilen H.C., Briseid T., Eriksson B.// *J. Gen. Microbiol.* - 1983. - 129. - P. 1717-1720.
177. Van Eukelenburg C.// *J. Microbiol. Serol.* - 1979. - 45. - P. 369-390.
178. Vernet M., Mitchell B.G., Holmansen O.// *Mar. Ecol. Progr. Series.* - 1990. - 63. - P. 9-16.
179. Vernotte C., Astier C., Olive J.// *Photosynth. Res.* - 1990. - 26. - P. 203-212.
180. Vernotte C., Briantais J.M., Armond P., Arntzen C.J.// *Plant Sci. Lett.* - 1975. - 4. - P. 116-123.
181. Vierling E., Alberte R.S.// *Physiol. Plant.* - 1980. - 50. - P. 93-98.
182. Vogelmann T.C., Scheibe J.// *Planta.* - 1978. - 143. - P. 233-239.
183. Waaland J.R., Waaland S.D., Bates G.// *J. Phycol.* - 1974. - 10. - P. 193-199.
184. Waaland S.D., Cleland R.E.// *Planta.* - 1972. - 105. - P. 196-204.
185. Waterbury J.B., Watson S.W., Guillard R.R.R., Brand L.E.// *Nature.* - 1979. - 277. - P. 293-294.
186. White A.W., Shilo M.// *Arch. Mikrobiol.* - 1975. - 102. - P. 123-127.

187. Whitton B.A., Potts M.// Marine littoral. - 1983. - P. 515-542.
188. Wyman M., Fay P.// In: The Cyanobacteria. Eds. P. Fay, C. van Baalen. Elsevier, Amsterdam. - 1987. - P. 347-370.
189. Wyman M., Gregory R.P.F., Carr N.G.// Science. - 1985. - 230. - P. 818-820.
190. Yocum C.S., Blinks L.R.// J. Gen. Physiol. - 1958. - 41. - P. 1113-1117.
191. Yu M.N., Glazer A.N., Spencer K.G., West J.A.// Plant Physiol. - 1981, - 68. - P. 482-488.
192. Zilinskas B.A., Howell D.A.// Plant Physiol. - 1983. - 71. - P. 379-387.

## 4. ФОТОРЕЦЕПТОРНЫЕ ФУНКЦИИ ФИКОВИЛИСОМ И ФИКОВИЛИПРОТЕИНОВ

Для растений свет является источником энергии и регулятором многих биологических функций. Реакции фоторецепции и световой регуляции у фотосинтезирующих организмов делятся на две группы [76]: 1) фотоконтроль двигательной активности; 2) морфогенетический контроль роста, развития и процессов жизнедеятельности.

Двигательная активность присуща фотосинтезирующим бактериям, жгутиковым фотосинтетикам, нитчатым цианобактериям и ряду одноклеточных красных водорослей. Вторая группа процессов фотоконтроля, реакции фотоморфогенеза, типичны для всех фотосинтезирующих организмов, в том числе сине-зеленых и красных водорослей, независимо от степени дифференцировки их таллома.

В большинстве случаев клеточные механизмы фотоконтроля двигательной активности и морфологических процессов различны, но для реализации любого из фотоэффектов излучение должно быть прежде всего поглощено световоспринимающим пигментом-фоторецептором.

### 4.1. Фоторегуляция двигательной активности с участием фикобилипротеинов

У подвижных фотосинтезирующих организмов фоторецепторная регуляция движения обеспечивает оптимальное протекание фотосинтеза как основного энергетического процесса. Различают три вида двигательной активности у фотосинтетиков [27]: 1. Фотокинез – зависимость двигательной активности от интенсивности света. Эффект проявляется в более частой смене направления движения или увеличении скорости равномерного перемещения микроорганизма при нарастании интенсивности света. 2. Фотофобические реакции – изменения поступательного движения при резком перепаде интенсивности света, например, на границе света и тени. Это могут быть остановки, повороты или даже смена направления движения на противоположное. Фотофобический ответ выглядит одинаково как при попадании организма с яркого света на слабый, так и наоборот. 3. Фототаксис – движение, ориентированное по направлению световых лучей. Интенсивность света также является фактором фототаксиса: направление движения зависит от яркости источника. При

высокой интенсивности наблюдается движение от источника света (отрицательный фототаксис), при умеренных и низких интенсивностях — перемещение к источнику света (положительный фототаксис).

У нитчатых цианобактерий сем. *Oscillatoriaceae* скользящий тип движения известен более двухсот лет (см. [56]). Подвижные гормогонии периодически возникают у большинства представителей семейств *Nostocaceae*, *Oscillatoriaceae*, *Rivulariaceae*, *Schisonemataceae* и *Stigonemataceae* [20, 28, 73]. Кроме того, ряд одноклеточных цианобактерий и красных водорослей способны к движениям типа "подергиваний".

Фоторегуляция двигательной активности складывается из трех этапов [47, 51]:

- 1) восприятие светового сигнала фоторецептором;
- 2) клеточная трансформация воспринятого сигнала с передачей его в двигательный аппарат;
- 3) ответная реакция, управление работой двигательных систем.

Существуют два молекулярных механизма трансформации фотосигнала, обозначаемые как специализированная и энергозависимая фоторецепция. Специализированная фоторегуляция происходит за счет поглощения света специфическими фоторецепторами. При энергозависимой фоторецепции восприятие света осуществляется пигментами фотосинтетического аппарата.

#### 4.1.1. Специализированная фоторецепция двигательной активности

Специализированная фоторецепция в природе весьма разнообразна по компонентам и механизмам. Основным ее свойством является очень низкая концентрация фоторецептора в клетке. Рецепторами могут служить каротиноиды, флавопротеины и другие пигменты. Например у эвглены, классического объекта по изучению фототаксиса, рецепторами специализированной фоторегуляции служат флавопротеины [7], а у хламидомонад — родопсин [39]. У одного и того же организма в фоторецепции могут участвовать не один, а несколько различных пигментов [20]. Сопоставление спектров действия фотоэффекта со спектрами поглощения пигментов *in vivo* и *in vitro* позволяет в принципе выявить возможные фоторецепторы.

Участие фикобилипротеинов у исследованных видов сине-зеленых и красных водорослей в специализированной фоторецеп-

ции движения не найдено. Не столь ясен вопрос для других микроорганизмов, содержащих эти пигменты. У криптофитовых водорослей (род *Cryptomonas*) в спектре действия фототаксиса обнаружен максимум 560 нм, соответствующий поглощению фикоэритрина [101]. Полное ингибирование фотосинтеза диуроном не приводит к изменению рецепторной чувствительности фототаксиса [100]. В спектре действия фототаксиса нескольких штаммов зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* обнаружен максимум 570 нм [38]. Пожалуй, это единственный случай выявления у зеленых водорослей пигмента, близкого по спектру поглощения к фикоэритрину, однако идентификация хромофора только по спектру действия недостаточна. Помимо фикоэритрина поглощение в области 560–570 нм может принадлежать и другим фотохромам.

#### 4.1.2. Энергозависимая фоторецепция движения

Энергозависимая фоторецепция движения названа также неспецифической [6]. В названии подчеркивается отсутствие в этом случае специального фоторецептора. В процессе участвует вся масса пигментов фотосинтеза, выступающая и как антенна фотосинтетического аппарата, и, "по совместительству", как коллективный фоторецептор.

Большое количество пигментов определяет очень высокую чувствительность фоторецепции данного типа: регистрируется изменение освещенности в несколько десятков квантов в секунду [23].

Энергозависимая фоторецепция наиболее широко распространена у прокариотов: она найдена у цианобактерий, зеленых, пурпурных бактерий и галобактерий. При этом фотокинез и фотофобические реакции встречаются чаще, чем фототаксис.

В спектрах действия этих трех процессов обнаруживаются максимумы, принадлежащие пигментам фотосинтетического аппарата соответствующих групп организмов. Так, участие бактериохлорофилла в фотофобических реакциях у пурпурных бактерий продемонстрировано Энгельманом еще в конце прошлого века [33].

При энергозависимой регуляции подвижности первичные стадии процесса совпадают с первичными реакциями фотосинтеза. Фотосинтетический аппарат используется клеткой для энергообеспечения передвижений, о чем свидетельствует следующая совокупность данных.

1. Фоторегуляция движения зависит от веществ, являющихся специфическими ингибиторами и разобщителями цепи переноса электронов фотосинтеза.

2. Изменение окислительно-восстановительного состояния, влияющее на фотосинтетическую цепь переноса электронов, непосредственно сказывается на двигательной активности.

3. Световое насыщение фотосинтеза и двигательной активности происходит при одинаковых интенсивностях света.

Эти закономерности полностью приложимы к цианобактериям и красным водорослям. Например, ингибиторы фотосинтетического транспорта электронов подавляют и фотофобическую реакцию цианобактерий [45].

Во всех механизмах фотодвижений важнейшим звеном преобразований светового сигнала является генерация электрических потенциалов на клеточных мембранах [8, 42, 46, 50, 67]. Процесс связан с циклическим и нециклическим фотофосфорилированием [72]. Разные виды водорослей способны осуществлять все три типа двигательных фотореакций (фотофобический ответ, фотокинез, фототаксис) или какой-то один из них. Так, например, у *S. paradoxa* обнаруживаются фотокинез и фотофобические реакции, а способность к фототаксису отсутствует [49].

#### 4.1.2.1. Фотофобические реакции

Фотофобические реакции исследованы у цианобактерий, принадлежащих к родам *Oscillatoria* и *Phormidium*. В большинстве случаев фоторецепцию осуществляют и фикобилисомы, и хлорофилл. Так, у *Phormidium uncinatum* в фикобилисомах преобладает С-фикоэритрин. Максимальная фотофобическая активность найдена в области 550–560 нм, что соответствует максимуму поглощения С-фикоэритрина. Меньший пик (620 нм) в спектре действия обусловлен С-фикоцианином; максимум 665 нм относится к хлорофиллу а [70] (рис. 38).

В спектре действия фотофобического ответа у *P. cruentum*, одного из немногих подвижных видов красных водорослей [82], тоже присутствуют максимумы, принадлежащие фикобилисомам и хлорофиллу [73].

#### 4.1.2.2. Фотокинез

При фотокинезе пигменты фикобилисом могут или не участвовать в процессе (см. рис. 38), или опосредовать его, как и

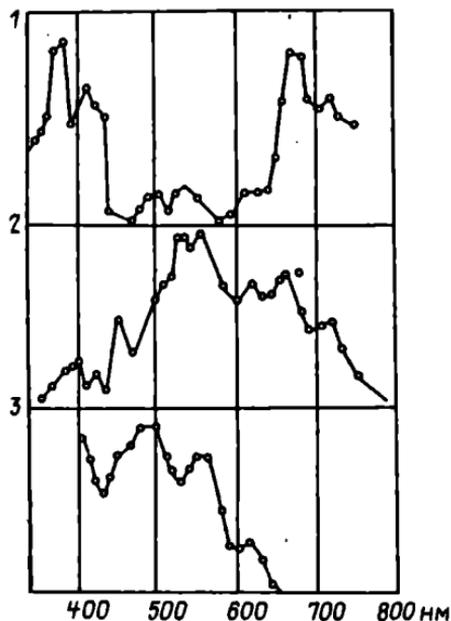


Рис. 38. Спектры действия фотокинеза (1), фотофобического ответа (2) и фототаксиса (3) цианобактерии *Rhormidium* (представлено по [68, 69, 70] с изменениями)

хлорофилл. Например, в спектре действия фотокинеза *P. uncinatum*, в отличие от фотофобического ответа, не регистрируются максимумы, принадлежащие фикобилипротеинам [69]. Фикобилисомы не принимают также участия в фотокинезе у цианобактерий *N. muscorum*, *Rhormidium ambiguum*, *Pseudanabaena catenata*, *S. platensis*. У этих видов цианобактерий в фотокинетических спектрах действия проявляются только максимумы 435 и 675 нм, принадлежащие хлорофиллу, и отмечается фотоактивность в области 450–500 нм (каротиноиды) [69, 75, 77].

В отличие от этого, у *An. variabilis* фикобилисомы воспринимают свет, оказывающий фотокинетическое действие [77], поэтому для сине-зеленых водорослей ранее предлагалось [77] различать два типа фотокинеза: "тип *Rhormidium*" (*P. ambiguum*), когда в спектре действия не содержится максимумов, принадлежащих фикобилипротеинам, и "тип *Anabaena*" (*An. variabilis*): в спектре действия преобладает поглощение фикобилисом, а поглощение хлорофилла а не выражено. Позже было выяснено, что такое разделение не является строгим и у ряда цианобактерий в спектрах действия присутствуют максимумы, принадлежащие как хлорофиллу, так и фикобилисомам [72, 75].

#### 4.1.2.3. Фототаксис

Фототаксис исследовался, вероятно, в наиболее ранних работах по двигательной фотоактивности цианобактерий [24, 36]. Закономерности, отмеченные для фотокинеза и фотофобических реакций, справедливы и в этом случае.

У *An. variabilis* максимум спектра действия положительного фототаксиса расположен при 615 нм (С-фикоцианин), кроме того, регистрируется максимум 670 нм хлорофилла *a*. Спектры действия у *P. uncinatum* и *P. autumnale* соответствуют спектрам поглощения фикобилисом. Полосы, принадлежащие хлорофиллу *a*, практически не заметны в спектрах [68, 71].

От двух других ответов, связанных с регуляцией подвижности, фототаксис отличается тем, что он является ориентированной реакцией. Положительный фототаксис сменяется отрицательным при достижении света той же интенсивности, при которой наступает выцветание фотосинтетических пигментов [78], поэтому фототаксис служит дополнительным по отношению к пигментации приспособлением клеток к наилучшим из имеющихся условий фотосинтеза. Попадание организма на слабый свет замедляет рост, а превышение оптимальных интенсивностей света ведет к ингибированию фотосинтеза и выцветанию клеток. Таким образом, клетки активно перемещаются в зону возможного оптимума световых условий [48].

Рецепторный аппарат фототаксиса более сложен, чем при фотокинезе и фотофобическом ответе. Пигменты фотосинтеза участвуют и в положительном, и в отрицательном фототаксисе. Наряду с этим в клетках существует пигмент неясной природы, поглощающий свет в области от 500 до 560 нм и свыше 700 нм, который служит триггерным механизмом только для отрицательного фототаксиса [78]. Вероятно, он не относится к фотосинтетическому аппарату, так как ингибиторы фотосинтеза не могут подавить полностью отрицательный фототаксис.

Сопоставление спектров действия двигательных фотореакций и спектров поглощения фикобилисом показывает, что в фоторецепции у сине-зеленых и красных водорослей участвуют не отдельные фикобилипротеины, а все пигменты фикобилисом. В энергозависимой фоторегуляции движения фикобилисома является единым коллективным фоторецептором. Пигменты, преобладающие в фикобилисомах, например С-фикоэритрин или С-фикоцианин, имеют наибольшие максимумы в соответствующем

ших спектрах действия. Фикобилисомы как антенная часть фотосинтетического аппарата преимущественно связаны со второй системой фотосинтеза. Отсутствие или наличие в спектрах действия двигательной активности максимумов принадлежащих пигментам фикобилисом (см. рис. 38) является хорошим индикатором участия в двигательной активности первой или второй фотосистемы.

Отсутствие максимумов хлорофилла а в спектре действия объясняется тем, что фоторецепция в этих случаях связана со второй системой фотосинтеза. Доля же хлорофилла а, принадлежащего у цианобактерий фотосистеме II, низка (часто не более 5–10%). Поэтому спектральные максимумы фикобилипротенинов полностью маскируют полосу хлорофилла. Подводя итог, можно сказать, что фикобилисомы, будучи пигментной частью второй системы фотосинтеза, участвуют в регуляции двигательной активности ряда сине-зеленых и красных водорослей, обеспечивая световой энергией механизм нециклического фотофосфорилирования.

#### 4.2. Фотоморфологический контроль в клетках и фикобилипротенины

Участие фикобилипротенинов в фотоморфологическом контроле — вопрос менее ясный, чем регуляция двигательной фотоактивности. Пигменты-рецепторы фотоморфогенеза содержатся в клетках в очень малых количествах. В отличие от энергозависимой фоторегуляции подвижности, при которой растение использует аппарат фотосинтеза, фоторецепция морфогенеза требует биохимических преобразований, о природе которых имеется очень мало данных. Для поиска фоторецептора необходимы сведения о наличии светорегулируемых процессов в клетках и спектральной зависимости наблюдаемых фотореакций.

##### 4.2.1. Светорегулируемые процессы у сине-зеленых и красных водорослей

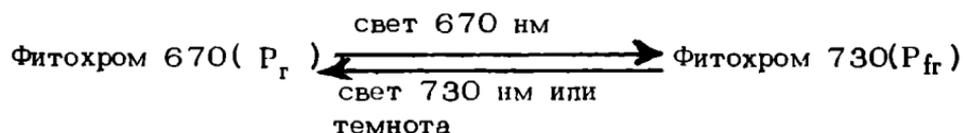
Достоверно установлено, что под световым контролем у цианобактерий находится хроматическая адаптация и переход от недифференцированного роста к развитию филаментов у хроматически адаптируемых видов. Кроме того, формирование актинет у ряда гетероцистообразующих сине-зеленых водорослей

возможно только на свету и зависит от его спектрального состава (см. [55]).

У красных водорослей под регуляторным действием фоторецепторов находятся гамето- и спорогенез, фотопериодические, процессы, развитие таллома, синтез ряда ферментов (см. [30]). Во всех перечисленных случаях встает вопрос о природе воспринимающих свет рецепторов.

#### 4.2.2. Фитохром как фикобилипротеин

У растений известно несколько различных фоторецепторов, воспринимающих свет в различных участках спектра (см., например, [30]). Наиболее исследованным из них и единственным выделенным *in vitro* является фитохром. Его значение для жизнедеятельности растений трудно переоценить; предполагается, что фитохром оказывает влияние на протекание более ста различных морфологических процессов (см. [54]). Фитохром — рецептор цветковых и других высших растений. Пигмент существует в двух спектральных формах,  $P_r$  и  $P_{fr}$ , способных к взаимопревращению:



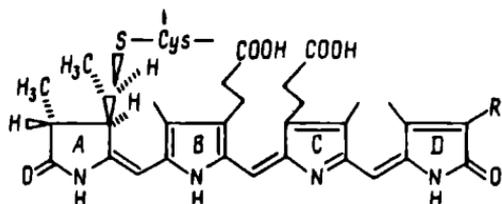
Морфологически активна длинноволновая  $P_{fr}$  — форма.

Кроме высших растений фитохром найден у зеленых водорослей [53]. У других растительных групп, в частности у багряннок и цианобактерий, судить о наличии фитохрома можно по сопоставлению спектров действия фотоморфологического процесса и спектров поглощения двух форм фитохрома. Найдено, что у красных водорослей *Acrochaetium claviesii* [96] и *S. caldarium* [92] биосинтез ряда ферментов стимулируется синим светом. У *A. claviesii* зарегистрированы фотоиндуцированные изменения спектра в красной области, которые могут быть приписаны фитохрому [97]. Образование спор у багрянки *Bangia atropurpurea*, лучше всего протекает на зеленом свете [21]. У красной водоросли *Porphyra tenera* освещение красным светом оказывает тот же эффект, что и темнота [29, 84]. Это действие обратимо под влиянием дальнего красного света, что служит указанием на присутствие фитохрома, погло-

шающего свет именно в красном и дальнем красном участках спектра. Так как в морской воде красный свет ослабляется с глубиной, а багрянки часто являются глубинными водорослями, то не совсем ясна целесообразность "использования" красными водорослями именно этого фоторецептора. Но на мелководье красного света еще вполне достаточно для фотоморфогенетического действия фитохрома, а на глубине фитохром может воспринимать синий свет, так как у него есть синий максимум поглощения [30]. По совокупности данных можно считать, что красные водоросли содержат фитохром, что не исключает присутствия у них и других фоторецепторов: для подтверждения вывода требуется получение этого пигмента *in vitro*.

У цианобактерий световая зависимость формирования акинет описана для *An. cylindrica* [103]; *Anabaena fertilissima* [83], *An. variabilis* [17], *Nostoc PCC 7524* [22]. Наиболее тщательно измеренный спектр действия содержит максимум 615-630 нм, принадлежащий С-фикоцианину [17]. Процесс полностью или частично подавляется ДСМУ [22], следовательно, он связан с фотосинтезом подобно энергозависимой фоторецепции движения. Это не исключает присутствия специализированного фоторецептора [13, 18, 59], но наличие фитохрома, по-видимому, исключается. Максимумы 550 и 640 нм в спектрах действия хроматической адаптации также нельзя приписать фитохрому. В связи с этим в случае красных водорослей поиск направлен прежде всего на получение фитохрома *in vitro*, а в случае сине-зеленых необходимо знание свойств фитохрома, так как вероятные фоторецепторы цианобактерий, фикобилипротеины, обладают многими чертами сходства с этим пигментом.

Фитохром исследуется очень интенсивно, его свойства подробно анализируются в обзорах последних лет [37, 40, 41, 63, 85, 95], а здесь будут упомянуты только в сопоставлении с чертами фикобилипротеинов. Хромофор фитохрома - фитохромобилин (2,3-дигидробиливердин), типичный линейный тетрапиррол с числом конъюгированных двойных связей, равным 10, поэтому его спектр поглощения более длинноволновый, чем у пигментов фикобилисом. Этот хромофор отличается от фикоцианилина, хромофора С-фикоцианина, аллофикоцианина и некоторых других фикобилипротеинов, только боковым радикалом R в пиррольном кольце D:



фикоцианобилин :  $R-CH_2NH_2$

фитохромобилин :  $R-CH_2CH_2$

Ковалентная связь хромофора с апопротеином точно такая же, как в фикобилипротеинах; ковалентная связь кольца А с цистеиновым остатком в молекуле апопротеина [43,64]. Молекулярная масса фитохрома составляет 120–127 кД (см. [98]), с каждой молекулой белка связана одна тетрапиррольная хромофорная группа [64]. По этим свойствам с фитохромом очень сходны большие (75–90 кД.) LСМ полипептиды, обеспечивающие связь фикобилисом с тилакоидной мембраной. Биосинтез фитохромобилина вплоть до последних стадий совпадает с путем синтеза фикоцианобилина, для которого фитохромобилин является прямым предшественником в цепи биохимических реакций (рис. 39) (см., однако [65]). Фитохромобилин может быть замещен фикоцианобилином, который удается ковалентно связать с апопротеином фитохрома с образованием фотохимически активного продукта [31, 32]. Кроме того, фитохром и один из фикобилипротеинов, С-фикоцианин, имеют общие антигенные детерминанты [58]. Наконец, в основе фотопревращений фитохрома и фотохромизма фикобилипротеинов лежит одна и та же реакция фотоизомеризации (см. далее).

#### 4.2.3. Фикобилипротеины в роли возможных фоторецепторов

Большое сходство с фитохромом, а также положение максимумов 550 и 560 нм в спектрах действия хроматической адаптации, типичное для поглощения фикобилипротеинов, заставляют проводить поиск фоторецепторов среди этих пигментов. Для обнаружения вероятных "фикобилипротеиновых" рецепторов у цианобактерий используются два подхода. Во-первых, исследуются клеточные фракции и экстракты, в спектрах поглощения которых регистрируются фотообратимые изменения. Во-вторых, исследуется фотохромизм отдельных фикобилипротеинов.

Рецепторы хроматической адаптации у сине-зеленых водорослей предложено называть адаптохромами, а рецепторы других фотоморфологических процессов – фикоморфохромами [16].

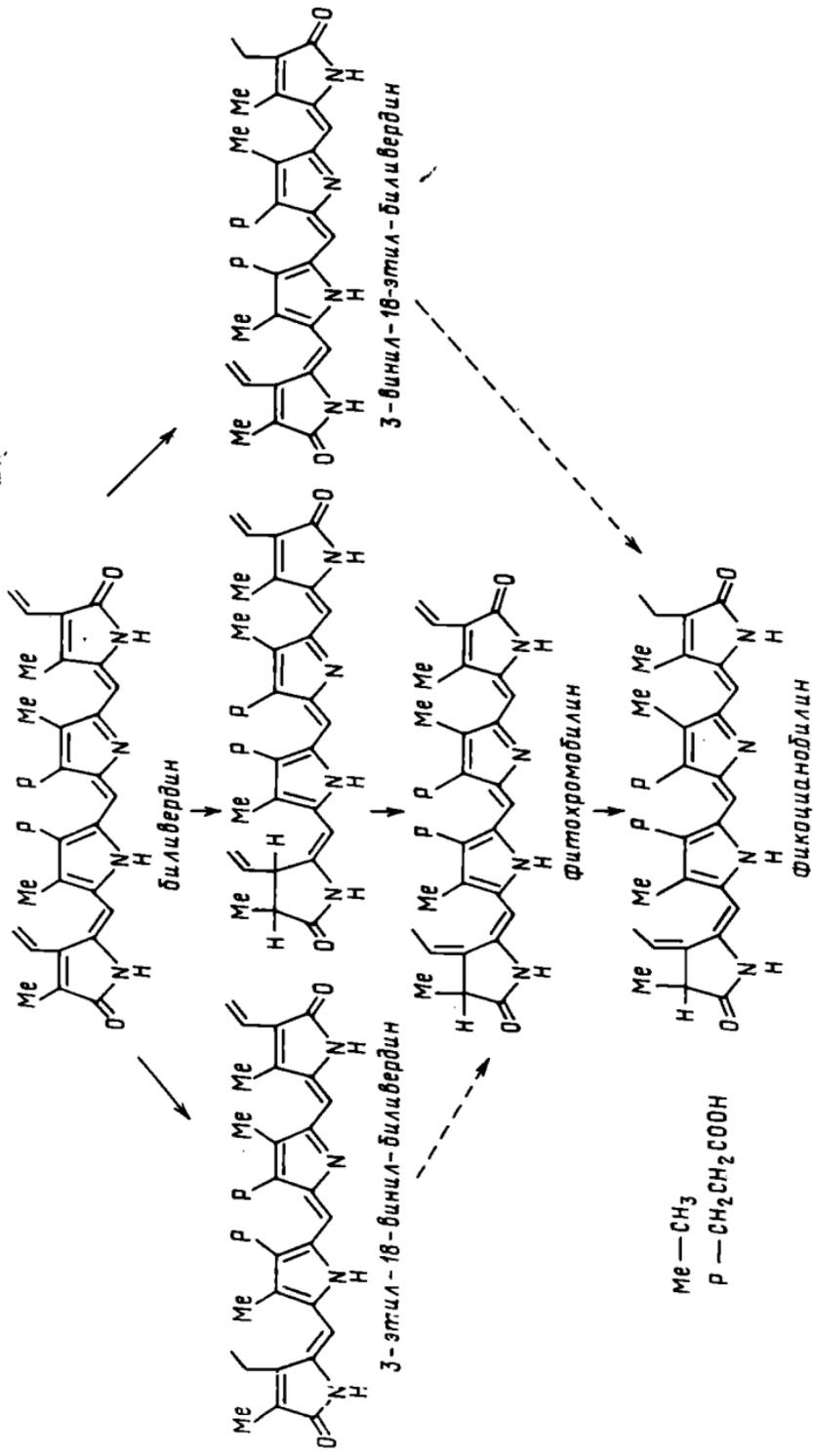


Рис. 39. Схема конечных стадий биосинтеза фитохромобилина и фикоцианобилина. Наиболее вероятный путь превращений показан сплошными стрелками (представлено по [19] с изменениями)

Позже совокупность всех фоторецепторных пигментов сине-зеленых водорослей независимо от их природы и регулируемых ими реакций, была названа "фикохромами" [12]. Аналогия между названиями "фикохром" и "фитохром" очевидна.

Шайбе [88] получил из клеток хроматически адаптируемого вида цианобактерий *T. tenuis* фракцию фикобилипротеинов, способную к фотообратимому изменению спектров поглощения при 520 и 650 нм. Позже из клеток нескольких видов цианобактерий изофокусированием получены пигмент-белковые водорастворимые фракции разной степени очистки, в которых регистрировались фотоиндуцированные изменения спектров. Пигменты этих фракций обозначены как фикохромы а, b, с и d [11, 12, 14]. В наибольшем количестве все четыре фикохрома находятся в фикобилисомной фракции клеток [15].

1. Фикохром а выделен из цианобактерий *A. nidulans*, *N. muscorum*, *P. luridum* и *Tolypothrix distorta*. Фотоиндуцированные изменения поглощения наблюдаются при 630 и 580 нм.

2. Фикохром b получен из цианобактерии *T. distorta*. При облучении светом 500 нм у фикохрома увеличивается поглощение при 570 нм; обратные изменения (увеличение поглощения при 500 нм и уменьшение — при 570 нм) возникают при освещении монохроматическим светом 570 нм.

3. Фикохром с найден у цианобактерий *N. muscorum* и, возможно, *T. tenuis*. В дифференциальном спектре поглощения этого пигмента (зеленый свет минус красный) наблюдается максимум при 650 нм и небольшие изменения в зеленом участке спектра.

4. Фикохром d выделен из *T. tenuis*; у пигмента наблюдается увеличение поглощения в области 650 нм при облучении светом той же длины волны (650 нм) и уменьшение поглощения при 650 нм в результате облучения светом 610 — 620 нм.

Изменения поглощения у фикохромов а, с и d под действием света не превышают нескольких процентов, и только у фикохрома b они составляют до 1/3 исходного уровня. Дифференциальные спектры поглощения фикохромов а, b и d не соответствуют спектрам действия хроматической адаптации. Лишь спектр изменений поглощения фикохрома с в какой-то мере сходен со спектром действия физиологической адаптации клеток при хроматических изменениях [12]. Все это заставляет с осторожностью приписывать фикохромам роль фоторецепторов и требует продолжать поиск и изучение свойств возможных рецепторных пигментов у цианобактерий [86].

#### 4.2.4. Фотохромизм фикобилипротеинов

У фикобилипротеинов можно наблюдать фотохромные эффекты, сходные с регистрируемыми у фикохромов, причем денатурирующие воздействия стимулируют проявления фотохромизма [62]. Так, фотоактивная фракция фикобилипротеинов, описанная как отмечалось, Шайбе [88], выделена из клеток культивируемых на сильном свете и на среде, обедненной минеральным азотом. Оба фактора способствуют денатурации белка, модификации пигментов, уменьшению содержания фикобилисом в клетках. Позже [81] из клеток *T. tenuis*, выращенных в сходных условиях, были выделены С-фикоцианин и аллофикоцианин. Оба пигмента обладали светоиндуцированными дифференциальными спектрами поглощения, причем спектр "красный свет минус зеленый" для С-фикоцианина был аналогичен наблюдаемому у фикохрома а, и спектр "зеленый свет минус красный" для аллофикоцианина был сходен со спектром фикохрома с. Аналогичные обратимые изменения спектров поглощения С-фикоцианина и аллофикоцианина из *T. tenuis* наблюдаются при обработке их денатурирующими агентами - мочевиной и гуанидинхлоридом [80]. Данные о том, что частичная денатурация фикобилипротеинов приводит к появлению фотохромных эффектов, подтверждаются различными авторами [26, 57, 66, 79, 87, 89, 90]. У изолированных фикобилисом обратимые фотоиндуцированные изменения поглощения и флуоресценции зарегистрированы в присутствии экзогенных доноров и акцепторов электронов (феррицианида,  $\alpha$ -бензохинона, дитионита); наибольшие изменения спектров отмечаются в области поглощения аллофикоцианина и длинноволновых минорных полипептидов [1, 4]. Фотообратимые изменения спектра можно наблюдать и у отдельных хромопептидов С-фикоцианина [94]. Дезагрегация фикобилипротеинов также увеличивает подверженность их хромофоров фотохимическим превращениям [66]. Так, мочевина и гуанидинхлорид, кроме денатурирующего эффекта, обладают дезагрегирующим действием [80], а среди агентов, вызывающих фотохромизм С-фикоцианина, отмечается интенсивное действие полиэтиленгликоля, способствующего дезагрегации фикобилипротеинов [26]. Высказано мнение, что фикохромы а, с и d являются разновидностями агрегатного состояния аллофикоцианина и С-фикоцианина [66]. Наибольший фотохромизм из всех фикобилипротеинов обнаруживает фикоэритроцианин, особенно его  $\alpha$ -полипептидная субъединица [60, 91], несущая редкий для фикобилипротеинов хромофор -

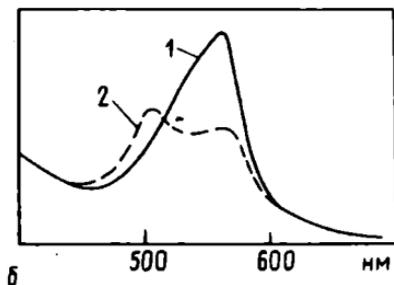
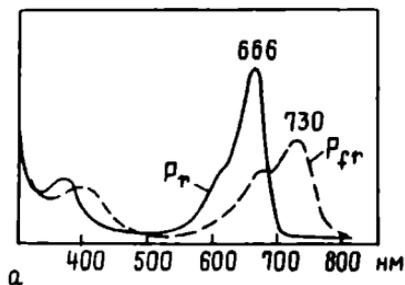


Рис. 40. а) спектры поглощения двух спектральных форм фитохрома [99]; б) спектры поглощения фотообратимых спектральных форм  $\alpha$ -полипептидной субъединицы фикоэритроцианина цианобактерии *Mastigocladus laminosus* после освещения в течение трех минут светом 510 (1) и 570 нм (2) [60]

криптовиолин [10]. Фотообратимые изменения спектра в этом случае сравнимы с наблюдаемыми у фитохрома (рис. 40) и соответствуют характеристикам фикохрома b [15, 60].

Самым вероятным молекулярным механизмом фотохромизма у фикобилинов является *цис-транс* изомеризация. В фотобиологии линейных тетрапирролов изомерия двойных связей, входящих в состав метиновых мостиков молекул, обозначаемая также как *Z*→*E* – перемена конфигурации, имеет особое значение (см. [34, 87, 90]). Термодинамически наиболее устойчива псевдоциклическая *Z,Z,Z* – геометрическая форма молекул. У пигментов типа биливердина *E*→*Z* – изомеризация возможна при C-4 и C-15 атомах, обратная реакция не протекает [35, 61]. Первичная фотореакция у фитохрома включает *Z*→*E* изомеризацию двойной связи, образуемой C-15 и C-16 атомами [94] (рис. 41). Возвращение молекулы в термодинамически более устойчивое состояние происходит самопроизвольно в темноте или активируется светом 730 нм. Хромофоры C-фикоцианина, как, вероятно, и других фикобилипротеинов, находятся, судя по рентгеноструктурным данным, в *Z,Z,Z* – конфигурации (о геометрических различиях хлорофоров см. [89]). У нативных фикобилипротеинов фотохромизм практически отсутствует, так как нековалентное взаимодействие хромофорных простетических групп с апопротеином настолько сильно, что перемена геометрического положения пиррольных копцев оказывается невозможной [87]. В полностью денатурированных фикобилипротеинах взаимодействие с апопротеином утрачивается, однако

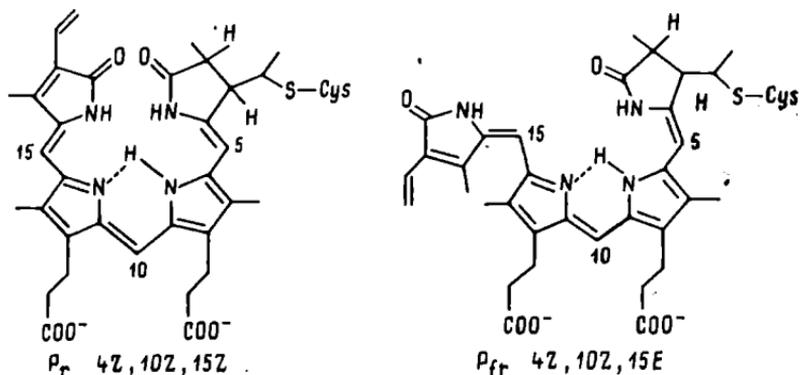


Рис. 41. Геометрическое строение молекулы фитохромобилина в  $P_r$ - и  $P_{fr}$ -формах [85]

хромофоры принимают наиболее устойчивую псевдоциклическую форму, поэтому фотохромизм также отсутствует или выражен крайне незначительно [25,93]. Только в частично денатурированных белках фикобилиновые хромофоры оказываются, по всей видимости, в белковом микроокружении, сходном с существующим в фитохроме, и это соответствует наибольшей степени фотообратимых изменений. Однако ни один из наблюдаемых фотохромных эффектов нельзя идентифицировать с известными спектрами действия хроматической адаптации. Есть ли среди уже известных фикобилипротеинов такие, которые "по совместительству" в своей небольшой фракции выполняют роль фоторецепторов или такую функцию несет какое-то неидентифицированное химическое соединение — предстоит еще выяснить.

#### 4.2.5. Выцветание пигментов фикобилисом под действием физико-химических факторов

Большая часть энергии, поглощенной фикобилипротеинами, излучается в виде флуоресценции, что обеспечивает высокую фотостабильность нативных фикобилипротеинов. Еще один путь инактивации возбужденного состояния в этих соединениях — фотоизомеризация. Квантовый выход фотодеструкции фикоаритрина, фикоцианина и аллофикоцианина составляет  $(2,5-11) \cdot 10^{-6}$ , и, следовательно, их фотостабильность на порядок выше, чем у флуоресцеина [102]. В клетке при повреждающих интенсивностях света выцветание пигментов фикобилисом происходит гораздо быстрее, чем хлорофилла и каротиноидов [52,74].

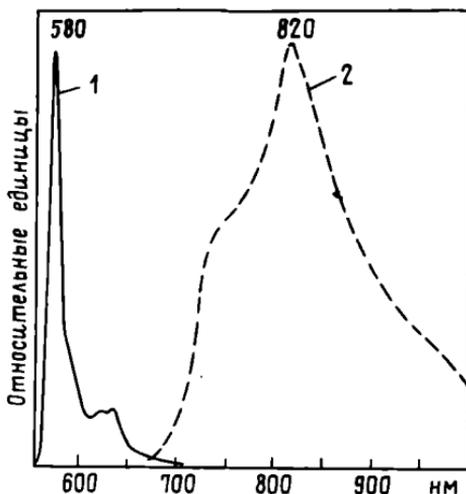


Рис. 42. Спектры флуоресценции (1) и фосфоресценции (2) R-фикоэритрина красной водоросли *Callithamnion corymbosum*, 77°K

В растворе фикобилипротеины устойчивы к действию повышенных температур. Например, для разрыва ковалентной связи хромофоров и апопротеинов используется многочасовое кипячение в метаноле. Окраска при этом сохраняется. В клетке на нескольких видах нетермофильных сине-зеленых и красных водорослей (*P. cruentum*, *F. diplosiphon*, *P. fragile*, *A. nidulans*, *Synechocystis* PCC 6714) показано, что нагревание до 50°C приводит в течение нескольких минут к полному обесцвечиванию фикобилипротеинов при сохранении каротиноидов и хлорофилла *a* [104]. Вероятно, речь может идти о каком-то энзиматическом процессе.

В растворе выцветание денатурированного C-фикоцианина составляет 40-50% за 15 ч при действии  $10^{-2}$  M  $\beta$ -меркаптоэтанола, pH 5 и возрастает при разбавлении образца [44]. Способствуют стабильности низкие (2-3) или нейтральные значения pH, отсутствие окислителей и восстановителей.

Отмечено темновое восстановление (выцветание) фикобилисом и отдельных фикобилипротеинов *Synechococcus elongatus* в присутствии  $10^{-2}$  M дитионита [5].

У 2,3-дигидробиливердинов, к которым относится и фикоцианилин, относительно легкое фотоокисление в растворе хорошо известно (см. [34]). Фотовыцветание фикобилипротеинов исследовано менее, и механизмы процесса не ясны. Предполагается,

что реакция может протекать с образованием триплетных состояний, так как в присутствии кислорода фотовыцветание замедляется [87]. Нами совместно с Ю.В. Ковалевым и А.А. Красновским мл. зарегистрированы спектры фосфоресценции R-фикоэритрина, что также указывает на существование триплетов (рис. 42). Известно также, что фикобилисомы, выделенные из цианобактерии *N. muscorum*, сенсibiliзируют восстановление низкопотенциальных акцепторов электрона (метилвиологен): под действием света, поглощаемого фикобилисомами в растворе, метилвиологен восстанавливается дитиотрептоном. Возможные механизмы реакции - миграция энергии от фикобилисом к метилвиологену или образование лабильных радикалов фикобилипротеинов [2]. Возможность образования у фикобилипротеинов продуктов радикальной природы отмечалась и ранее [3]; Это явление было отмечено в растворе при освещении фракции фикобилипротеинов, обогащенных компонентами ядра фикобилисом [9]. Конкретные продукты фотовосстановления и фотоокисления фикобилисом и отдельных фикобилипротеинов станут, очевидно, известны в дальнейшем.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Бекасова О.Д., Бухов Н.Г., Карапетян Н.В. // Биохимия. 1981. - 46. - С. 287-294.
2. Бекасова О.Д., Муслимов И.А., Красновский А.А. // Мол. биология. - 18. - С. 1121-1127.
3. Ерстигнеев В.Б., Бекасова О.Д. // Изв. АН СССР. Сер. биология. - 1979. - 3. - С. 344-356.
4. Ерохина Л.Г., Шубин Л.М., Бекасова О.Д., Красновский А.А. // Биофизика. - 1981. - 26. - С. 132-134.
5. Ерохина Л.Г., Шубин Л.М., Климов В.В., Красновский А.А. Мол. биология. - 20. - С. 53-60.
6. Синешекоев О.А., Литвин Ф.Ф. // Успехи соврем. биологии. - 1974. - 78. - С. 57-75
7. Синешекоев О.А., Литвин Ф.Ф. // Успехи микробиол. - 1982. - 17. - С. 62-87.
8. Синешекоев О.А., Синешекоев В.А., Литвин Ф.Ф. // Докл. АН СССР. - 1978. - 239. - С. 471-474.
9. Шубин Л.М., Ерохина Л.Г., Проскуряков И.И., Красновский А.А. // Биофизика. - 1982. - 27. - С. 721-726.

10. Bishop J.E., Rapoport H., Klotz A.V., Chan C.F., Glazer A.N., Füglistaller P., Zuber H.// J. Am. Chem. Soc. - 1987. - 109. - P. 875-881.
11. Björn G.S.// *Physiol. Plantarum.* - 1978. - 42. - P. 321-323.
12. Björn G.S., Björn L.O.// *Physiol. Plantarum.* - 1976. - 36. - P. 297-304.
13. Björn G.S., Braune W., Björn L.O. // *Physiol. Plantarum.* - 1983. - 59. - P. 493-500.
14. Björn L.O.// *Quat. Rev. Biophys.* - 1979. - 12. - P. 1-23.
15. Björn L.O., Björn G.S.// *Photochem. Photobiol.* - 1980. - 32. - P. 849-852.
16. Bogorad L.// *Annu. Rev. Plant Physiol.* - 1975. - 26. - P.369.
17. Braune W.// *Arch Mikrobiol.* - 1979. - 122. - P. 289-295.
18. Braune W., Wilczok T., Waclawek R.// *Cytobios.* - 1988. - 54. - P. 39-48.
19. Brown S.B., Houghton J.D., Vernon D.J.// *J. Photochem. Photobiophys. Ser. B.* - 1980. - 5. - P. 3-23.
20. Caestenholz R.W.// In: *Botanical monographs.* Eds.: N.G. Carr, B.A. Whitton, Blackwell Sci. Publ. - 1982. - 19. - P. 413-440.
21. Charnovsky K., Towill L.R., Sommerfeld M.R.// *J. Phycol.* - 1982. - 18. - P. 417-422.
22. Chauvat F., Corre B., Herdman M., Joset-Espardellier F.// *Arch. Microbiol.* - 1982. - 133. - P. 44-49.
23. Clayton R.K.// In: *Encyclopedia plant physiol.* Ed.: W. Ruhland, Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York. - 1959. - 17. - P. 371-387.
24. Dangeard P.A.// *Ann. Protistol.* - 1928. - 1. - P. 3-10.
25. De Kok J.// *Photochem. Photobiol.* - 1985. - 42. - P. 663-668.
26. De Kok J., Braslavsky S.E., Spruit C.J.P.// *Photochem. Photobiol.* - 1981. - 34. - P. 705-710.
27. Diehn B., Feinleib M.E., Haupt W., Hildebrand E., Lenei F., Nultsch W.// *Photochem. Photobiol.* - 1977. - 26. - P. 559-560.
28. Drews G.// *Arch Protistenkunde.* - 1959. - 104. - P. 329-340.
29. Dring M.J.// *Nature.* - 1967. - 215. - P. 1411-1412.
30. Dring M.J.// *Annu. Rev. Plant Physiol.* - 1988. - 39. - P.157-174.
31. Elich T.D., Lagarias J.C.// *J. Biol. Chem.* - 1989. - 264. - P. 12902-12908.
32. Elich T.D., McDonagh A.F., Palma L.A., Lagarias J.C.// *J. Biol. Chem.* - 1989. - 264. - P. 183-189.
33. Engelman T.W.// *Pflügers Arch. ges. Physiol.* - 1883. - 30. - P. 95-124.

34. Falk H.//The Chemistry of linear tetrapyrroles and bile pigments. Springer Verlag, Wien, New York. - 1989. - P. 621.
35. Falk H., Kapl G., Müller N.// Monatsch. Chem. - 1983. - 114. - P. 773-781.
36. Faminzin A.// Jb. wiss. Bot. - 1867. - 6. - P. 1-44.
37. Farrens D.L., Holt R.E., Rospandos B.N., Song P.S., Cotton T.M. // J. Am. Chem. Soc. - 1989. - 26. - P. 9162-9169.
38. Feinleib M.E., Curry G.M.// Physiol. Plantarum. - 1967. - 20. - P. 1083-1095.
39. Foster K.W., Saranak J., Pafel N., Zarilli G., Okabe M., Kline T., Nakanishi K. // Nature. - 1985. - 311. - P. 756-759.
40. Furuya M. (ed.)//Phytochrome and photoregulation in plants. Academ. Press, Tokyo. - 1987. - P. 354.
41. Furuya M.// Adv. Biophys. - 1989. - 25. - P. 133-167.
42. Glagoleva T.N., Glagolev A.N., Gusev M.V., Nikitina K.A.// FEBS Lett. - 1980. - 117. - P. 49-53.
43. Grombein G.J., Rüdiger W., Zimmerman H.// Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. - 1975. - 356. - P. 1706-1714.
44. Guard-Friar D., MacColl R.//Arch. Biochem. Biophys. - 1984. - 230. - P. 300-305.
45. Häder D.-P.// Arch. Microbiol. - 1974. - 96. - P. 255-266.
46. Häder D.-P.// Arch. Microbiol. - 1978. - 119. - P. 75-79.
47. Häder D.-P. // In: Physiology of movements, Encyclopedia of plant physiol. New Series. Eds. W. Haupt, M.E. Feinleib, Springer, Berlin. - 1979. - 7, - P. 268-309.
48. Häder D.-P.// Arch. Microbiol. - 1984. - 140. - P. 34-39.
49. Häder D.-P.// Arch. Microbiol. - 1985. - 141. - P. 159-163.
50. Häder D.-P.// Biochim. Biophys. Acta. - 1986. - 864. - P. 107-122.
51. Häder D.-P. // In: The cyanobacteria. Eds. P. Fay, C. Van Bee- len, Elsevier, Amsterdam, New York, London. - 1987. - P. 325-345.
52. Häder D.-P., Häder M.//Arch. Microbiol. - 1989. - 152. - P. 453-457.
53. Haupt W.// Planta. - 1959. - 53. - P. 484-501.
54. Hendricks S.B., Vanderwoude W.J.// In: Encyclopedia of Plant Physiology. Eds. W. Shropshire, W. Mohr. Springer, Berlin. - 1983. - 16A. - P. 3-23.
55. Herdman M.// In: Meth. Enzymol. - 1988. - 167. - P. 222-232.
56. Hirose M.// Plant Cell Physiol. - 1987. - 28. - P. 587-597.
57. John W., Fischer S., Siebzehnrübl S., Scheer H.// In: Antenna and reaction centers of photosynthetic bacteria. Ed. M.E. Michel-

Beyerle, Springer, Berlin. - 1985. - P. 17-26.

58. Keiller D.R., Whitelam G.C., Smith H.//Planta. - 1988. - 176. - P. 391-398.
59. Kezhi B., Guoliang W., Cheng C. // Hydrobiologia. - 1985. - 123. - P. 89-91.
60. Rufer W., Björn G.S.// Physiol. Plantarum. - 1989. - 75. - P. 389-394.
61. Kufer W., Cmiel E., Thümmler E., Rüdiger W., Schneider S., Scheer H.// Photochem. Photobiol. - 1982. - 36. - P. 603-607.
62. Kufer W., Scheer H.// Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. - 1979. - 360. - P. 935-956.
63. Lagarias J.C.// Photochem. Photobiol. - 1985. - 42. - P.811-820.
64. Lagarias J.C., Rapoport H.// J. Am. Chem. Soc. - 1980. - 102. - P. 4821-4828.
65. Lüond E.B., Köst H.P., Rüdiger W.// Z. Naturforsch. - 1990. - 45. - P. 1099-1110.
66. Murakami A., Fujita Y.// Photochem. Photobiol. - 1983. - 38. - P. 605-608.
67. Murvanidze G.V., Glagolev A.N.// J. Bacteriol. - 1982. - 150. - P. 239-244.
68. Nultsch W.// Planta. - 1961. - 56. - P. 632-647.
69. Nultsch W.// Planta. - 1962. - 57. - P. 613-623.
70. Nultsch W.// Planta. - 1962. - 58. - P. 647-663.
71. Nultsch W.// Ber. dtsh. bot. Ges. - 1962. - 75. - P. 443-453.
72. Nultsch W.// In: Primary molecular movements in Photobiology. Eds. A. Cheucucci, R.A. Weale, Elsevier Publ., Amsterdam, London, New York. - 1973. - P. 245-273.
73. Nultsch W.// In: Primitive sensory and communication systems. Ed. M.J. Carlile. Acad. Press. London. - 1975. - P. 29-90.
74. Nultsch W.// Z. Pflanzenphysiol. - 1983. - 111. - P. 327-332.
75. Nultsch W., Häder D.-P.// Ber. dtsh. bot. Ges. - 1974. - 87. - P. 83-92.
76. Nultsch W., Häder D.-P.// In: Structure and bonding. Eds J.D. Dumitr et al., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. - 1981. - 41. - P. 111-139.
77. Nultsch W., Hellmann W.// Arch. Microbiol. - 1972. - 82. - P. 76-90.
78. Nultsch W., Schuchart H., Koenig F.// Arch. Microbiol. - 1983. - 134. - P. 33-37.
79. Ohad J., Schneider H.-J., Gendel S., Bogorad L.// Plant Physiology. - 1980. - 65. - P. 6-12.

80. Ohki K., Fujita Y.// Plant Cell Physiol. - 1979. - 20. - P. 483-490.
81. Ohki K., Fujita Y.// Plant Cell Physiol. - 1979. - 20. - P. 1341-1347.
82. Pringsheim E.G.// Arch. Microbiol. 1968. - 63. - P. 331-355.
83. Reddy P.M., Talpasyi E.R.S.// Biochem. Physiol. Pflanzen. - 1981. - 176. - P. 105-107.
84. Rentschler H.-G.// Planta. - 1967. - 76. - P. 65-74.
85. Rüdiger W., Eilfeld P., Thümmler F.// In: Optical properties of tetrapyrroles. Eds. G. Blauer, H. Sund, Walter de Gruyter, Berlin, New York. - 1985. - P. 349-366.
86. Rüdiger W., Scheer H.// In: Morphogenes. 1982. - P. 119-151.
87. Scheer H.// In: Progress in Photosynthesis Research. Ed J. Biggins. Martinus Nijhoff, Amsterdam. - 1987. - P. 143-149.
88. Scheibe J.// Science. - 1972. - 176. - P. 1037-1039.
89. Schmidt G., Siebzehnrübl S., Fischer R., Rüdiger W., Scheer H.// Z. Naturforsch. - 1987. - 42c. - P. 845-848.
90. Schmidt G., Siebzehnrübl S., Fischer R., Scheer H.// In: Photosynthetic light harvesting Systems. Organization and Function. Eds H. Scheer, S. Schneider, Walter de Gruyter, Berlin. - 1988. - P. 77-89.
91. Siebzehnrübl S., Fisher R., Kufer W., Scheer H.// Photochem.-Photobiol. - 1989. - 49. - P. 753-761.
92. Steinmuller K., Zetsché K.// Plant Physiol. - 1984. - 76. - P. 935-939.
93. Thümmler F., Rüdiger W., Cmiel E., Schneider S.// Z. Naturforsch. - 1983. - 38 c. - P. 359-368.
94. Thümmler F., Rüdiger W.// Tetrahedron. - 1983. - 39. - P. 1943-1951.
95. Tobin E.M., Silverthone J.// Annu. Rev. Plant. Physiol. - 1985. - 36. - P. 569-593.
96. Van der Velde H.H., Guikung P., Van der Wulp D.// Z. Pflanzenphysiol. - 1975. - 76. - P. 95-108.
97. Van der Velde H.H., Guikung P., Van der Wulp D.// Plant Sci. Lett. - 1978. - 11. - P. 145-149.
98. Vierstra R.D., Cordonnier M.-M., Pratt L.H., Quail P.H.// Planta. - 1984. - 160. - P. 521-528.
99. Vierstra F.D., Quail P.H.// Plant Physiol. - 1985. - 77. - P. 990-998.
100. Watanabe M., Miyoshi Y., Furuija M.// Plant Cell Physiol. - 1976. - 17. - P. 683-690.

101. Watanabe M., Furuija M.// Plant Cell Physiol. - 1979. - 15.-  
P. 413-420.
102. White J.C., Stryer L.//Analyt. Biochem. - 1987. - 161. -  
P. 442-452.
103. Yamamoto Y.// J. Gen. Appl. Microbiol. - 1976. - 22. -  
P. 311-323.
104. Zhao J.D., Brand J.J. // Arch. Microbiol. - 1989. - 152. -  
P.447-452.

# СОДЕРЖАНИЕ

И.Н. Стадничук Фикобилисомы ,

1. Свойства и строение фикобилисом . . . . .	3
1.1. Функции и клеточная локализация фикобилипротеинов . . . . .	3
1.2. Методы выделения фикобилисом . . . . .	7
1.3. Полудисковидные и полуэллипсоидальные фикобилисомы . . . . .	9
1.4. Строение полудисковидных фикобилисом . . . . .	14
1.5. Линкерные полипептиды фикобилисом . . . . .	20
1.5.1. Связующая функция минорных полипептидов . . . . .	22
1.5.2. Последовательность самосборки элементов фикобилисом и спектральные сдвиги максимумов поглощения у фикобилипротеинов . . . . .	24
1.5.3. Обозначения линкерных полипептидов . . . . .	26
1.5.4. Связь боковых цилиндров и ядра фикобилисомы . . . . .	26
1.5.5. Полипептиды, завершающие рост цилиндров . . . . .	26
1.5.6. Минорные полипептиды, несущие хромофоры . . . . .	27
1.5.7. Якорный LCM-полипептид фикобилисом . . . . .	28
1.5.8. Первичная структура линкерных полипептидов . . . . .	29
1.6. Гены фикобилипротеинов и линкерных полипептидов . . . . .	30
1.7. Фикобилисомы цианобактерии <i>Synechococcus</i> 6301 ( <i>Anacystis nidulans</i> ) . . . . .	33
1.7.1. Строение боковых цилиндров . . . . .	33
1.7.2. Строение ядра фикобилисомы . . . . .	38
1.8. Строение фикобилисом цианобактерии <i>Synechocystis</i> 40 . . . . .	40
1.9. Фикобилисомы цианобактерии <i>Mastigocladus laminosus</i> . . . . .	41
1.10. Аллофиоксианины I, II и III из цианобактерии <i>Nostoc</i> sp. . . . .	45
1.11. Полипептидный состав фикобилисом <i>Synechococcus</i> PCC 7002 . . . . .	45
1.12. Строение фикобилисом цианобактерии <i>Alabaena variabilis</i> . . . . .	47
1.13. Фикобилисомы цианобактерии <i>Phormidium persicinum</i> . . . . .	49
1.14. Фикобилисомы цианобактерии <i>Gloeobacter violaceus</i> . . . . .	50
1.15. Связь фикобилисом с тилакоидной мембраной . . . . .	51
1.15.1. Расположение фикобилисом на тилакоидной мембране . . . . .	51

1.15.2. Взаимодействие фикобилисом с пигмент-белковым комплексом фотосистемы II . . . . .	52
1.16. Фикобилисомы и миграция энергии . . . . .	59
1.16.1. Миграция энергии, измеряемая в клетках водорослей . . . . .	59
1.16.2. Миграция энергии в изолированных фикобилисомах . . . . .	59
1.16.2.1. Миграция энергии в боковых цилиндрах . . . . .	62
1.16.2.2. Перенос энергии в ядре фикобилисома; два конечных акцептора энергии . . . . .	64
Список использованных источников информации . . . . .	67
<b>2. Минеральные ресурсы клеток и фикобилисомы; фикобилипротеины в специализированных клетках . . . . .</b>	<b>81</b>
2.1. Минеральное питание . . . . .	81
2.1.1. Влияние азотного голодания . . . . .	82
2.1.2. Влияние углекислого газа . . . . .	86
2.1.3. Роль минерального железа . . . . .	86
2.1.4. Влияние нехватки серы . . . . .	87
2.1.5. Солевой стресс . . . . .	87
2.2. Специализированные клетки . . . . .	88
2.2.1. Гетероцисты . . . . .	88
2.2.2. Цианеллы в клетках-хозяевах . . . . .	91
2.2.3. Криптофитовые водоросли . . . . .	92
Список использованных источников информации . . . . .	95
<b>3. Регуляторное действие света . . . . .</b>	<b>102</b>
3.1. Филогенетическая световая адаптация . . . . .	102
3.2. Онтогенетическая световая адаптация . . . . .	107
3.2.1. Влияние интенсивности света на пигментный аппарат фотосинтеза . . . . .	108
3.2.2. Распределение световой энергии между двумя фотосистемами . . . . .	114
3.2.2.1. Соотношение антенных пигментов и реакционных центров фотосистем I и II . . . . .	114
3.2.2.2. Обратная хроматическая адаптация . . . . .	115
3.2.2.3. Фотосинтетические состояния 1 и 2 . . . . .	117
3.2.3. Рост в темновых условиях обитания . . . . .	120
3.3. Комплементарная хроматическая адаптация . . . . .	122
3.3.1. Открытие явления хроматической адаптации . . . . .	122
3.3.2. Распространенность хроматической адаптации . . . . .	123
3.3.3. Спектры действия . . . . .	127
3.3.4. Изменения пигментного состава фикобилисом . . . . .	131

3.3.5. Морфологические изменения клеток, сопровождающие хроматическую адаптацию . . . . .	135
Список использованных источников информации . . . . .	137
4. Фоторецепторные функции фикобилисом и фикобилипротеинов . . . . .	146
4.1. Фоторегуляция двигательной активности с участием фикобилипротеинов . . . . .	146
4.1.1. Специализированная фоторецепция двигательной активности . . . . .	147
4.1.2. Энергозависимая фоторецепция движения . . . . .	148
4.1.2.1. Фотофобические реакции . . . . .	149
4.1.2.2. Фотокинез . . . . .	149
4.1.2.3. Фототаксис . . . . .	151
4.2. Фотоморфологический контроль в клетках и фикобилипротеины . . . . .	152
4.2.1. Светорегулируемые процессы у сине-зеленых и красных водорослей . . . . .	152
4.2.2. Фитохром как фикобилипротеин . . . . .	153
4.2.3. Фикобилипротеины в роли возможных фоторецепторов . . . . .	155
4.2.4. Фотохромизм фикобилипротеинов . . . . .	158
4.2.5. Выцветание пигментов фикобилисом под действием физико-химических факторов . . . . .	160
Список использованных источников информации . . . . .	162

Технический редактор Г.С. Бычкова      Корректор В.В. Собакина

Сдано в набор 04.11.91      Подписано в печать 17.12.91  
 Формат 60 × 90 1/16      Бум. офсетная      Печать офсетная  
 Усл. печ.л. 10,75      Усл.кр-отт. 10,94      Уч.-изд.л. 12,26  
 Тир. 165 экз.      Зак. 7856      Цена 4р.90к.

Адрес редакции: 125219, Москва, А-219, ул. Усиевича, д.20а  
 Тел. 155-45-13

Производственно-издательский комбинат ВИНТИ  
 140010, Люберцы 10, Московской обл., Октябрьский пр., 403

Выпуски и тома серии, опубликованные ранее:

- Биологическая химия. Т. 18. М. 1983  
Биологическая химия. Т. 19. М. 1983  
Биологическая химия. Т. 20. М. 1984  
Биологическая химия Т. 21. М. 1985  
Биологическая химия. Т. 22. М. 1986  
Биологическая химия. Т. 23. М. 1987  
Биологическая химия. Т. 24. М. 1987  
Биологическая химия. Т. 25. М. 1987  
Биологическая химия. Т. 26. М. 1987  
Биологическая химия. Т. 27. М. 1988  
Биологическая химия. Т. 28. М. 1989  
Биологическая химия. Т. 29. М. 1989  
Биологическая химия. Т. 30. М. 1989  
Биологическая химия. Т. 31. М. 1989  
Биологическая химия. Т. 32. М. 1989  
Биологическая химия. Т. 33. М. 1990  
Биологическая химия. Т. 34. М. 1990  
Биологическая химия. Т. 35. М. 1990  
Биологическая химия. Т. 40. М. 1990  
Биологическая химия. Т. 39. М. 1991

Стадничук И.Н. "Фикобилисомы" Биологическая химия (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). М., 1991, 46, с. 1 - 172

Издание содержит обзор работ, опубликованных в отечественной и зарубежной литературе за последние пять лет. Предлагаемый обзор посвящен строению и функционированию сложных надмолекулярных структур—фикобилисом и является первым обзором, выходящим на русском языке. Анализируется связанное с фикобилисомами явление хроматической адаптации как наиболее интересный феномен из приспособительных реакций растений на действие света. Большое внимание уделяется анализу молекулярной организации дисковидных фикобилисом, исследованных наиболее подробно. Издание служит естественным продолжением обзора "Фикобилипротеины", опубликованной в 1990 году в серии "Биологическая химия", том 40 Итоги науки и техники. Библ. 924