

A FOTOSZINETIKUS PIGMENTEK SZERVEZŐDÉSE A KLOROPLASZTISZ FÉNYBEGYŰJTŐ ÉS ANTENNAKOMPLEXÉBEN

FALUDI-DÁNIEL ÁGNES

MTA Szegedi Biológiai Központ, Növényélettani Intézet, Szeged

Az ásványi energiahordozók készletének fokozódó beszűkülése egyre inkább tudatosítja azt a tényt, hogy az élővilág számára felhasználható energia túlnyomó részének jelenlegi és eredeti forrása a Nap sugárzó energiája melyet a zöld növények kloroplasztiszai fognak fel, alakítanak át elektrokémiai potenciállá és raktároznak kémiai kötésenergia formájában. E funkciója révén az egyenként 10 μm átmérőjű, lencse alakú kloroplasztisz összességében a Föld legnagyobb erőműve és vegyigyára. Méretét és jelentőségét szemlélteti az, hogy a kloroplasztiszok belsejében képződött energiaátalakító membránrendszer felülete a Föld felületének sokszorososa (1. táblázat), és évente mintegy 10⁹ tonna szén szerves vegyületbe való beépítését teszi lehetővé.

1. táblázat

A fotoszintetikus apparátus és a Föld felszín
méretének összehasonlítása

Föld felszín	5,10 ²¹ cm ²
Levélfelület ⁺	10 ²¹ cm ²
Kloroplasztisz szám	3,10 ²⁸ db
Fotoszintetikus membrán	12,10 ²³ cm ²
<i>Fotoszintetikus membrán</i> Föld felszín	240

⁺ terület és tenyészidő átlag

Jelenlegi ismereteink szerint a kloroplasztiszmembránban folyó energiaátalakítás elsődleges folyamatai, három pigment-protein komplex típusban játszódnak le: az egymás után kapcsolt fotokémiai rendszerek (fotoszisztémák) antennáiban, a két ún. reakciócentrum-komplexben és a gerjesztési energia két fotoszisztéma közötti eloszlását szabályozó ún. fénybegyűjtő komplexben (BUTLER 1978).

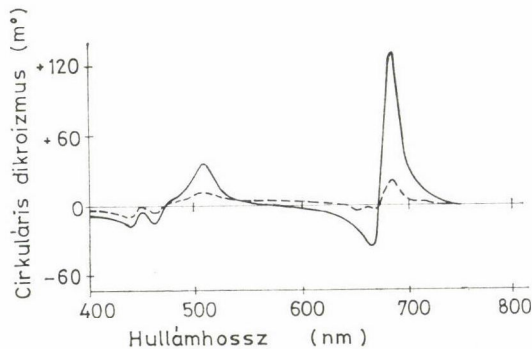
A fotoszintetikus pigmenttartalom 98–99%-a az antennákban és a fénybegyűjtő komplexben található. A pigmentek működésének módja és hatékonysága nagymértékben függ a pigmentmolekulák organizációjától, melyben lényeges mozzanat: a pigmentek molekuláris környezete, egymástól való tá-

volsága és kölcsönös orientációja (SEELY 1973, SAUER 1975). Ebből az elvi megfontolásból kiindulva választotta kutatási témául az SZBK Növényélettani Intézetében működő fotoszintézis csoport az elmúlt időszakban a fénybegyűjtő és antennakomplexeket felépítő pigmentek szerveződésének vizsgálatát.

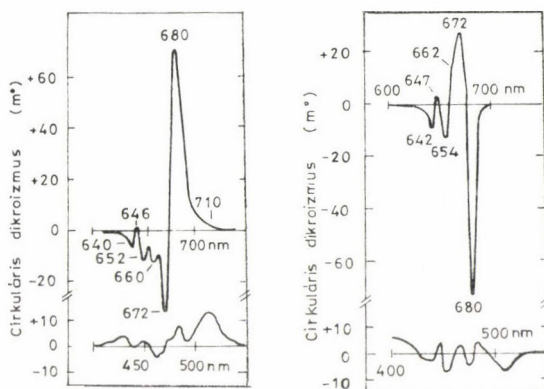
A kloroplasztiszmembránok pigment-protein komplexei hidrofób proteinek, melyeket tisztán és működőképes állapotban még nem sikerült előállítani. Ez kizárja egy sor közvetlen szerkezetkutató módszer alkalmazását és a vizsgálatokat olyan közvetett módszerekre utalja, mint pl. kloroplasztiszokban és membránalegységekben alkalmazott polarizációs spektroszkópia. A polarizációs spektroszkópiai módszerek sorából a fotoszintézis csoport főként két eljárást alkalmazott: *a)* rendezetlen, kloroplasztiszmembránok és fragmentumok cirkuláris dikroizmusának (CD) vizsgálatát, *b)* meghatározott módon rendezett kloroplasztiszmembránok és fragmentumok abszorpciós lineáris dikroizmusának (LD) és fluoreszcencia polarizációjának (FP) tanulmányozását.

Kloroplasztiszmembránok és membránalegységek CD vizsgálatából nyert információk

Ép kloroplasztiszokban az a-klorofillra jellemző abszorpciós spektrumtartományban egy igen nagy CD jelet mértünk (DEMETER és mtsai 1972). Speciális, nem gránumos kloroplasztiszokból ez a CD jel hiányzik (1. ábra), amiből arra következtettünk, hogy a nagy CD a kloroplasztisz membránrendszerének mintegy 60–70%-át kitevő gránum lamellákból vagy a gránummembránok valamely jellegzetes összetevőjétől ered (FALUDI-DÁNIEL és mtsai 1973). A nagy CD jel értelmezése során sikerült kizárni annak lehetőségét, hogy a nagy CD lineáris dikroizmusból (FALUDI-DÁNIEL és BRETON 1975) vagy differenciális fényszórásból eredő (FALUDI-DÁNIEL és mtsai 1978) mérési műter-



1. ábra. Gránumos és gránumot nem tartalmazó intakt kloroplasztiszok CD spektruma. A gránumos kloroplasztiszokat kukoricalevelek mezofillumából izolált protoplasztokból, a gránumot nem tartalmazókat levékonyított sejtfalú hüvelyparenchima sejtekből nyertük (—: gránumos, - - -: gránumot nem tartalmazó kloroplasztisz). A szuszpenziók klorofilltartalma 10^{-5} M, a minta hőmérséklete 23 °C volt



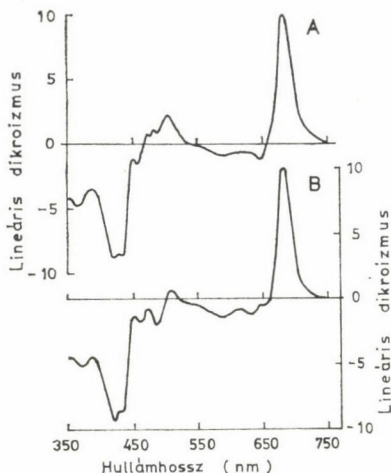
2. ábra. Gránulosz kloroplasztiszok és *in vitro* aggregált fénybegyűjtő komplex CD spektruma -250°C -on, 60% glicerinnben. (A spektrumokat 678 nm-nél 0,5 abszorpcióra normáltuk; bal: kloroplasztisz, jobb: fénybegyűjtő komplex)

mék volna, így igazoltuk, hogy a nagy CD a gránummembránok belső szerkezeti sajátosságát tükrözi. Azt tapasztaltuk azonban, hogy a gránumok izolálása során a nagy CD jel elvész (DEMETER és mtsai 1976), ami arra utal, hogy a nagy CD jel valamely izolálásra érzékeny membránösszetevőhöz tartozik. Ennek a membránkomponensnek az azonosítására irányuló törekvések során kimutattuk, hogy a gránummembránok különböző alegységeiben (1. fotoszisztéma, 2. fotoszisztéma részecskék és a fénybegyűjtő komplex monomér formája) nagyságrenddel kisebb, és az ép kloroplasztisz CD-jétől spektrálisan is különböző CD jel mérhető, ami klorofill molekulapárok közötti egyszerű kölcsönhatással magyarázható. A membránfrakciók Mg^{2+} ionok jelenlétében aggregálódnak, ami a fénybegyűjtő komplex esetében egy kloroplasztiszmembránhoz hasonló képződményt eredményez (2. ábra).

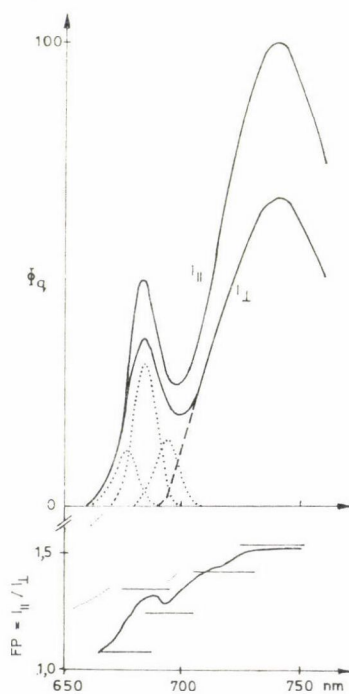
Ennek a „self-assembly” jellegű folyamatnak során a pigmentmolekulák között olyan kölcsönhatás létesül, mely az ép kloroplasztiszok jellegzetes CD-jéhez hasonló nagyságú és spektrális sajátosságú CD jelet ad (GREGORY és mtsai 1980). Bár a natív és az *in vitro* fénybegyűjtő komplex szerkezete között van eltérés (amit az előjelkülönbség mutat), a hasonlóság mértéke elegendő ahhoz a következtetéshez, hogy a kloroplasztisz nagy CD jelét a fénybegyűjtő komplexből származtassuk. Ilyen „felerősített” CD jelek folyadékkristályokba ágyazott pigmentekre jellemzők (HOLZWARTE és HOLZWARTE 1973). Ez arra mutat, hogy a fénybegyűjtő komplex szerkezete folyadékkristályokéhoz hasonló.

Kloroplasztiszmembránok LD és FP vizsgálatából nyert ismeretek

Az LD mérések a pigmentmolekulák abszorpciós dipólusainak orientációjáról informálnak meghatározott módon rendezett membránsíkhöz viszonyítva. Mivel az utóbbi állandó, az LD különbségekből áttételesen a pigmentek egymáshoz viszonyított orientációjára is lehet következtetni.



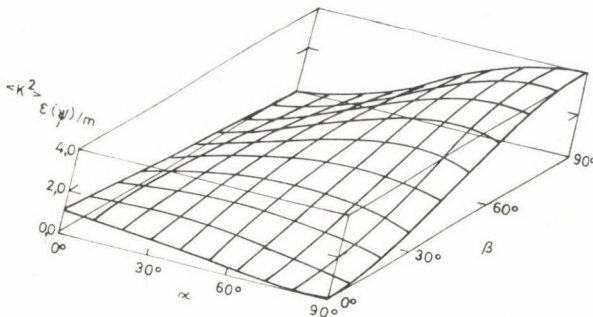
3. ábra. Normális és b-klorofil mentes árpakloroplasztiszok LD spektruma. (A vörös abszorpciós csúcsnál 1,0-re normálva; felső: normális, alsó: mutáns kloroplasztisz)



4. ábra. A kloroplasztiszmembránnal párhuzamosan és arra merőlegesen emittált fluoreszcencia intenzitása (felül) és az FP hullámhosszfüggése (alul). A pontozott vonal görbebontással nyert sávokat jelöl, a vékony vízszintes szakaszok 675, 685, 695, 720 és 735 nm-es maximumú sávok FP-jét mutatja. A minta hőmérséklete $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ volt

Mágneses térben és mechanikai úton rendezett koroplasztizmembránok LD vizsgálata során megállapítottuk, hogy különböző membránkörnyezetben elhelyezkedő és kémiaiag eltérő karotinoidok orientációja eltér egymástól (FALUDI-DÁNIEL és BRETON 1975). Normális és b-klorofill hiányos kloroplasztiszok LD-jének összehasonlításából (DEMETER és mtsai 1976) arra lehetett következtetni, hogy a b-klorofill vörös abszorpcióért felelős elektronátmenetének iránya közelebb áll a kloroplasztizmembrán normálisához, mint az a-klorofill formák megfelelő elektronátmenete (3. ábra).

Ha meghatározott módon orientált kloroplasztizmembránokat polarizálatlan fényvel megvilágítunk, akkor a pigmentmolekulák által a membránsíkkal párhuzamosan és merőlegesen kibocsátott fluoreszcencia intenzitásából, az emissziós dipólusok membránhoz (és egymáshoz) viszonyított orientációjára lehet következtetni. A membrán normálisával párhuzamosan és merőlegesen emittált fluoreszcencia intenzitások hányadosa $FP = 1,0$ azt jelenti, hogy az emissziós dipólusok a membrán normálisához viszonyítva véletlen elrendeződésűek vagy pontosan $54,7^\circ$ -ot zárnak be (GARAB és BRETON 1976). A különböző protoklorofillformákra nézve $FP = 1,0$ érték mérhető, amit a molekulák véletlen elrendeződésének lehet tulajdonítani (GARAB és mtsai 1980). Az a-klorofill 670 nm fölött emittáló formái a membrán normálissal egyre nagyobb szöget zárnak be, azaz az FP a hosszabb hullámok felé növekszik (4. ábra). Kivétel a 695 nm-es fluoreszcencia sáv, amely viszonylag kisebb mértékben rendezett vagy a membrán síkjába kevésbé besimuló emissziós átmenetet jelez. Mivel a 695 nm-es fluoreszcencia sáv a 2. fotoszisztéma antennájából ered az alacsony FP, vagy ennek az antennának kevésbé szabályos organizációját tükrözi, vagy a 2. fotoszisztémához szorosan kapcsolódó helikális felépítésű fénybegyűjtő komplex hatásával magyarázható. Egyébként a hosszuhullámú emisszió FP-je fokozatosan a reakciócentrumok orientációját jellemző abszorpciós dikroizmus hányadoshoz közelít (BRETON és mtsai 1975, GARAB és mtsai 1981). Ennek alapján az antennapigmenteket a reakciócentrum pigmentekhez



5. ábra. A gerjesztési energia átviteli sebességét befolyásoló orientációs faktor κ^2 függése a donor (α) és akceptor (β) dipólusok membránnormálissal bezárt szögétől. A véletlen elrendezésnek megfelelő orientáció esetén $\kappa^2 = 0,66$

hasonló orientációban képzelhetjük el. Ennek az orientációs mintázatnak a gerjesztési energia továbbítási sebességére gyakorolt hatását elemző számítások szerint a rendezett modellben az energiavándorlás sebessége többszörösen nagyobb lehet, mint véletlen elrendezésben levő pigmentek között (5. ábra).

Összefoglalás

Kloroplasztiszmembránokkal folytatott polarizációs spektroszkópiai tanulmányok során kimutattuk, hogy

a fénybegyűjtő komplex szerkezete folyadékkristályokéhoz hasonló, az antennakomplexekben a pigmentmolekulák a reakciócentrum felé mutató irányban fokozottan rendezettek és a vörös abszorpciós (ill. emissziós) dipólusok a reakciócentrumokhoz hasonló orientáció felé haladva a membránok normálisával növekvő szöget zárnak be.

Az antennapigmenteknek ez a szabályos elrendeződése az energiaátvitel sebességét többszörösére növeli — így a fotoszintetikus fényhasznosítás szempontjából kiemelkedő jelentőségű.

A beszámoló tárgyát képező munka egy biológusokból és fizikusokból álló team (Demeter Sándor, Garab Győző, Horváth Gábor, Mustárdy László és Faludi-Dániel Ágnes) vizsgálatának eredménye, melyben az I.18.1-es KGST együttműködési csoport, a Saclay-i Atomenergia Központ és a Manchesteri Egyetem Biokémiai Tanszékének munkatársai is részt vettek.

IRODALOM

- BRETON, J., E. ROUX, J. WHITMARSH: *Biochim. Biophys. Res. Comm.* **64**, 1274—1276 (1975).
 BUTLER, W. L.: *Ann. Rev. Plant Physiol.* **29**, 345—378 (1978).
 DEMETER, S., Á. FALUDI-DÁNIEL, A. S. GARAY: *Abst. 4th Internatl. Biophysics Congress, Moscow, Sect. I—IV* p. 365 (1972).
 DEMETER, S., L. A. MUSTÁRDY, E. MACHOWICZ, R. P. F. GREGORY: *Biochem. J.* **156**, 469—472 (1976).
 DEMETER, S., H. SAGROMSKY, Á. FALUDI-DÁNIEL: *Photosynthetica*, **10**, 193—197 (1976).
 FALUDI-DÁNIEL, Á., S. DEMETER, A. S. GARAY: *Plant Physiol.* **52**, 54—56 (1973).
 FALUDI-DÁNIEL, Á., J. BRETON: *Photochem. Photobiol.* **22**, 125—127 (1975).
 FALUDI-DÁNIEL, Á., G. E. BIALEK, G. HORVÁTH, Zs. Sz.—RÓZSA, R. P. F. GREGORY: *Biochem. J.* **174**, 647—651 (1978).
 GARAB, GY. I., J. BRETON: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **71**, 1095—1102 (1976).
 GARAB, GY. I. Chr. SUNDQVIST, L. A. MUSTÁRDY, Á. FALUDI-DÁNIEL: *Photochem. Photobiol.* **31**, 491—494 (1980).
 GARAB, GY. I., G. J. KISS, L. A. MUSTÁRDY, M. MICHEL-VILLAZ: *Biophys. J.* **34**, 423—437 (1981).
 GREGORY, R. P. F., S. DEMETER, Á. FALUDI-DÁNIEL: *Biochim. Biophys. Acta* **591**, 356—360 (1980).
 HOLZWARTH, G., N. A. W. HOLZWARTH: *J. opt. Soc. Amer.* **63**, 324—331 (1973).
 SAUER, K.: in Govindjee (ed.) *Bioenergetics of Photosynthesis*, Acad. Press, New York, pp. 206—247 (1975).
 SEELY, G. R.: *J. theor. Biol.* **40**, 189—199 (1973).