ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ
Том 39, вып. 4 1992

УДК 581.1

© 1992 г. Н.А. ПРОНИНА, В.Е. СЕМЕНЕНКО

РОЛЬ ПИРЕНОИДА В КОНЦЕНТРИРОВАНИИ, ГЕНЕРАЦИИ И ФИКСАЦИИ CO_2 В ХЛОРОПЛАСТЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева Российской академии наук, Москва

Рассмотрены возможные механизмы концентрирования неорганического углерода (НУ) в клетках микроводорослей. Предложена новая гипотеза о центральной роли пиреноида, содержащего РБФК(О) и карбоангидразу (КА), в концентрировании, генерации и фиксации CO_2 в хлоропласте. Согласно этой гипотезе, генерация CO_2 в пиреноиде катализируется КА, локализованной в ламеллах, пересекающих пиреноид и содержащих ФСI. Во внепиреноидных тилакоидах хлоропласта, где локализуется ФСII, генерируется O_2. Крахмальные обкладки создают сопротивление диффузии CO_2 из пиреноида. Центральный элемент модели — кооперация РБФК(О) и КА в пиреноиде, где образуется и фиксируется CO_2, и наличие пространственного разобщения процессов генерации CO_2 и O_2 в хлоропласте, что увеличивает соотношение CO_2/O_2 в местах карбоксилирования и снижает оксигеназную функцию РБФК(О). Рассмотрены возможные подходы для подтверждения или отрицания предложенной модели фотосинтеза у эукариот, содержащих пиреноид.

Микроводоросли — пиреноид — РБФК(О) — карбоангидраза — механизмы концентрирования CO_2.

К концу 70-х, началу 80-х годов были накоплены фактические данные, свидетельствующие, что многие микроводоросли и цианобактерии отличаются от наземных C_3-растений высоким фотосинтетическим сродством к НУ и низким фотодыханием [1, 2]. Были также приведены доказательства того, что эти характеристики являются результатом активного внутриклеточного накопления НУ [3], механизм которого до сих пор во многом остается не выясненным. В связи с этим в последнее десятилетие внимание физиологов растений было сосредоточено на исследованиях проблем трансмембранного переноса НУ, а также превращения форм НУ в клетке до включения его в органические соединения.

НУ в водных растворах может присутствовать в различных формах, связанных с превращением углекислоты в соответствии с уравнением: CO_2 (газ) $\rightleftarrows H_2O + CO_2$ (раств.) $\rightleftarrows H_2CO_3 \rightleftarrows H^+ + HCO_3^-$. В этом уравнении объединяются четыре важных элемента для жизнедеятельности растений: CO_2, H_2O, HCO_3^- и H^+. Ускорение превращения CO_2/HCO_3^-, катализируемое КА, как известно, имеет большое значение для многих сторон жизни, например, таких процессов, как дыхание в животной и фотосинтез в растительной клетках.

Ранее мы рассматривали возможные механизмы превращения НУ в клетке при транспорте его в хлоропласт [4]. На рис.1 в общем виде приведена эта схема, где наряду с прямой диффузией CO_2 к центрам карбоксилирования, которая, очевидно, является механизмом обеспечения фотосинтеза НУ при высоких концентрациях CO_2 в среде, рассматриваются механизмы накопления НУ при адаптации клеток к недостатку CO_2. К последним относятся: 1) облегченная диффузия CO_2 из среды в клетку за счет механизма каталитического образования CO_2 из HCO_3^- в примембранных слоях клетки, что способствует выравниванию профиля CO_2 в среде; 2) облегченная диффузия CO_2 в клетке за счет создания в ней пула HCO_3^- при щелочных pH

Сокращения: КА — карбоангидраза, НУ — неорганический углерод.

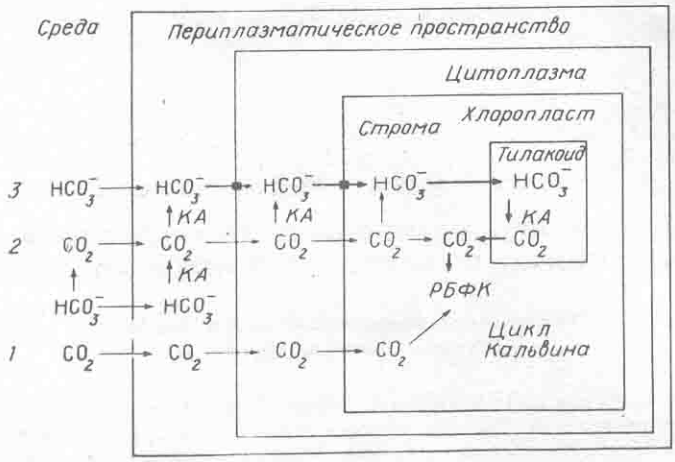

Рис. 1. Возможные механизмы трансмембранного переноса и концентрирования НУ в клетках микроводорослей
1 — прямая диффузия CO_2; *2* — облегченная диффузия CO_2; *3* — активный транспорт бикарбоната

внутриклеточных компартментов с последующим образованием из него CO_2 в хлоропласте в результате каталитического действия КА; 3) активный транспорт НУ в форме HCO_3^- через плазмалемму. Все модели, предложенные в настоящее время, различаются главным образом локализацией помпы, обеспечивающей активное накопление НУ, и формой НУ (CO_2, HCO_3^-, CO_2 + HCO_3^-), в которой последний транспортируется в клетку или в хлоропласт [1, 2, 5, 6].

Поскольку формы НУ, в которых он накапливается и фиксируется в клетке, различаются, возникает задача преобразования высокого пула HCO_3^- в строме хлоропласта в необходимый для карбоксилирования CO_2. Исследованию этого вопроса все еще уделяется мало внимания. В этом обзоре мы попытаемся обсудить и развить некоторые из предложенных ранее механизмов генерации CO_2 в хлоропласте в свете новых экспериментальных данных.

Модели генерации CO_2 в хлоропласте. Нами были предложены [7, 8] два механизма преобразования пула НУ в хлоропласте в форму, пригодную для карбоксилирования. Первый механизм (рис. 2, *а*) — увеличение концентрации CO_2 в зоне карбоксилирования за счет дегидратации бикарбоната стромы, когда равновесие CO_2/HCO_3^- сдвигается в пользу CO_2 в области образования кислых продуктов фиксации CO_2 (облегченная диффузия CO_2). В этом случае КА участвует в начальных этапах фиксации CO_2, переводя бикарбонат, преобладающую форму НУ стромы, в форму, пригодную для карбоксилирования, и выравнивает профиль концентрации CO_2 в хлоропласте. Как концентрирующий CO_2 этот механизм надо понимать условно, так как образование CO_2 в результате действия КА определяется скоростью фиксации CO_2 и выходом продуктов фиксации. Подобная модель генерации CO_2 в хлоропласте практически одновременно с нами была предложена Тсузуки и Миячи [9], которые назвали ее как «непрямое обеспечение РБФК(О) диоксидом углерода».

Второй механизм (рис. 2, *б*) является истинно концентрирующим CO_2 в примембранных слоях тилакоидов. В этом случае HCO_3^- транспортируется в люмен, в котором при кислом значении pH реакция, катализируемая КА, сдвигается в сторону образования

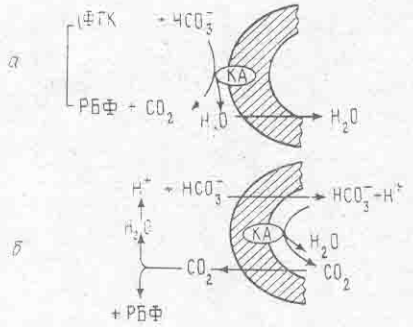

Рис. 2. Схема возможных механизмов генерации CO_2 в зонах карбоксилирования с участием мембраносвязанной КА в зависимости от топологии фермента в тилакоидной мембране
а — дегидратация бикарбоната в зоне образования кислых продуктов фиксации CO_2; *б* — дегидратация бикарбоната при использовании кислого pH в люмене

CO_2^-, поскольку pH в люмене тилакоида значительно ниже значения pKa 6,3, при котором наблюдается равенство концентраций HCO_3^- и CO_2. Образовавшийся в люмене CO_2 транспортируется затем по градиенту концентрации в строму, что увеличивает концентрацию CO_2 в примембранных слоях тилакоидов. При этом требуется лишь один протон на транспорт одного иона HCO_3^- в люмен, что энергетически эквивалентно 1/3 молекулы АТФ. При этом, предложенный нами механизм будет значительно более выгоден с энергетической точки зрения, учитывая, что во многих моделях предполагается затрата одной молекулы АТФ на активный транспорт CO_2 или HCO_3^-. Основаниями для последнего механизма являются: проницаемость тилакоидной мембраны для HCO_3^-, наличие на свету высокой крутизны градиента pH между люменом и стромой, что создает физико-химические условия для транспорта бикарбоната из стромы во внутритилакоидное пространство и для протекания реакции дегидратации бикарбоната в люмене и, наконец, наличие КА в мембране тилакоидов [8], а также световая зависимость ее активности [4, 10].

Безусловно, обе модели имеют определенные ограничения и недостатки. Во-первых, они предполагают отсутствие КА в строме хлоропласта, поскольку образованный в хлоропласте или в люмене CO_2 может снова преобразоваться в HCO_3^-, прежде чем достигнет центров карбоксилирования. Вместе с тем имеются данные о наличии в хлоропласте не только мембраносвязанной КА, но и растворимой, которая может быть локализована в строме [11]. Во-вторых, для функционирования этих механизмов необходима либо тесная кооперация КА и РБФК(О), наличие которой пока установить не удалось, либо компартментация этих ферментов в особых структурах, позволяющих создавать в них повышенную концентрацию CO_2. В последнем случае необходима также непроницаемая мембрана для поддержания повышенной концентрации CO_2 в примембранном слое тилакоидов в строме.

Локализация РБФК(О) и КА. Биохимическими и иммунохимическими методами показано, что у большинства микроводорослей, содержащих пиреноид, РБФК(О) локализована в пиреноиде [12—16] (рис. 3) в отличие от высших растений и водорослей, не имеющих пиреноида [13], у которых РБФК (О) локализуется в строму хлоропласта. Пока остается неясным, локализована ли РБФК(О) исключительно в пиреноиде или имеется также в строме хлоропласта.

Эта неопределенность связана с тем, что морфологическая выраженность пиреноида, а также локализация РБФК(О) в нем или строме определяются условиям выращивания микроводорослей [17, 18] и стадией развития клетки [19, 20]. Отмечается [17], что РБФК(О) локализована преимущественно в пиреноиде в условиях, когда структура его хорошо выражена. РБФК(О) в клетках, культивируемых фотогетеротрофно, распределяется в хлоропласте. Озафуне [18] также обнаружил, что формиро-

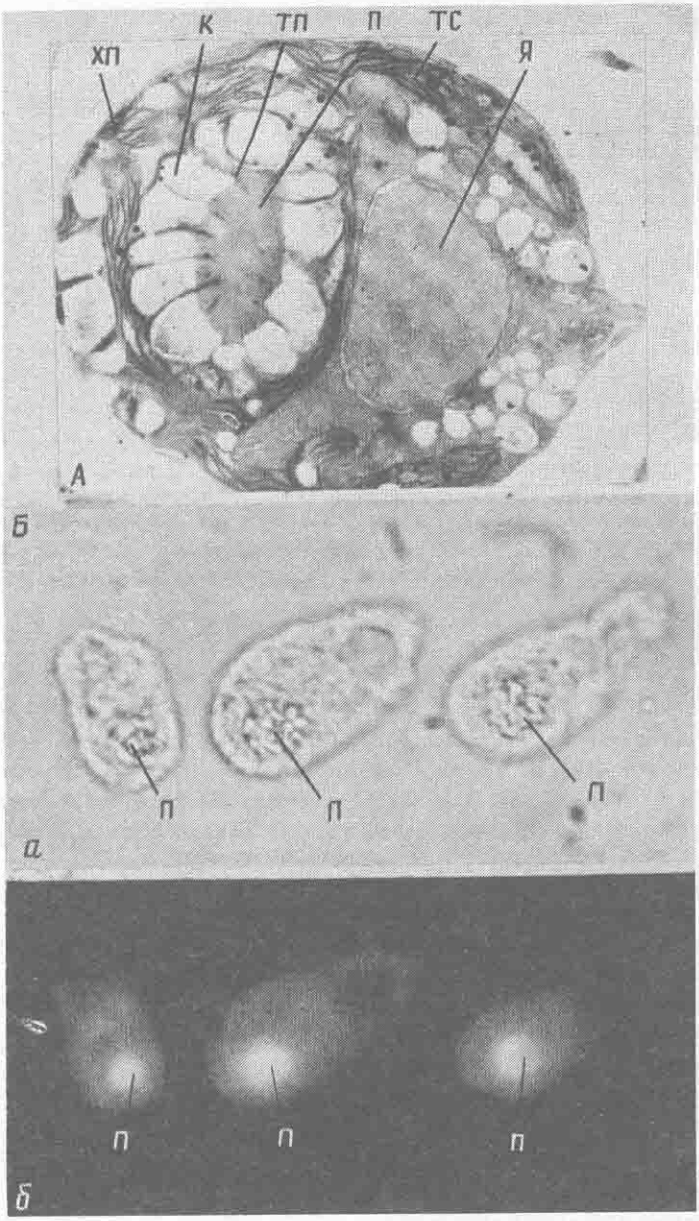

Рис. 3. Пиреноид и иммунофлуоресцентные доказательства локализации в нем РБФК(О)
На *А*: ультраструктура клеток *Dunaliella salina* ХП — хлоропласт, П — пиреноид, К — зерна крахмальной обкладки, ТП — тилакоиды пиреноида, ТС — тилакоиды стромы, Я — ядро
На *Б*: клетки *D. salina*, меченные антителами против РБФК(О), в проходящем свете (*а*) и при возбуждении флуоресценции иммуноспецифического зонда (*б*) [12]

вание у *Euglena* пиреноида *de novo* является светозависимым процессом, который инициируется недостатком органического углерода в среде.

Взаимосвязь формирования пиреноида и распределения РБФК(О) исследовали также в клеточном цикле *Euglena* [19]. С использованием иммуноголд-метода было показано, что перед делением клетки РБФК(О) распредляется в строме хлоропласта, а пиреноид в момент деления синхронной культуры обнаруживается в дисперсном

состоянии. Формирование пиреноида происходит перед началом световой фазы, после того как РБФК(О) концентрируется в центральной области хлоропласта разделившихся клеток. Распределение РБФК(О) исследовано также в клеточном цикле *Chlamydomonas reinhardtii* [20]. Авторы наблюдали, что РБФК(О) в световой фазе локализована главным образом в пиреноиде, но около 30–40% ее находится в строме.

С другой стороны, имеются сведения, что РБФК(О) полностью локализована в пиреноиде [21] и способна к фиксации CO_2. Владимирова и др. [12, 14], например, рассматривают пиреноид как гигантскую, активно функционирующую карбоксисому. На это указывают также данные о наличии активазы РБФК(О) в пиреноиде двух видов микроводорослей [15, 16]. Данные об отсутствии пиреноида у пластидных мутантов, дефектных по РБФК(О) [22], также показывают, что РБФК(О) — главный компонент пиреноида и существенна для формирования пиреноида.

В связи с тем что хлоропласт является местом фиксации CO_2 и дегидратации HCO_3, возникает вопрос о локализации в нем КА, которая может быть локализована в строме, тилакоидных мембранах, в пиреноиде или оболочке хлоропласта. До сих пор точная локализация КА в хлоропласте не выяснена. Это связано прежде всего с тем, что уровень активности КА в хлоропласте составляет у некоторых организмов, например у *Chlamydomonas* и *Chlorella*, менее 10% суммарной активности КА, тогда как основная доля общей активности обнаруживается в наружных мембранах.

Нами было показано ранее, что КА в клетках *Chlorella* и, возможно, в клетках *Chlamydomonas* локализуется в тилакоидных мембранах [7, 8], хотя при выделении мембран хлоропласта точных критериев об отсутствии в этих фракциях загрязнений другими компонентами клетки получить не удалось. Недавно Морони [23], используя мутанты *C. reinhardtii* CIA-5 и CIA-5CW-15, утратившие механизм CO_2-концентрирования, обнаружил изоферменты КА, отличающиеся от наружной КА периплазматического пространства. Сравнительный анализ этих мутантов, один из которых сохранил, а другой утратил клеточную стенку, позволил предположить, что растворимая КА локализована в периплазматическом пространстве, а мембраносвязанная — во внутренних мембранах клетки или хлоропласта.

Недавно были представлены цитохимические доказательства наличия КА в пиреноиде у *C. reinhardtii* [24]. Применив специфический ингибитор КА дансиламид, Кутицу и Миячи наблюдали в пиреноиде специфическое свечение комплекса КА и дансиламида.

Однако эти данные не согласуются с результатами других авторов [15, 25]. Ягава с соавт. [25] с помощью иммуноголд цитохимического метода не обнаружили КА в пиреноиде красной одноклеточной водоросли *Porphyridium cruentum*, используя антитела против КА, выделенной из этого организма. КА находилась главным образом в хлоропласте и только некоторая доля ее — в цитоплазме. Преимущественная локализация КА в хлоропласте показана этим же методом с использованием антител против КА шпината у диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornutum* [15]. Метка иммуноголд в пиреноиде наблюдалась у этого организма также лишь на уровне фона.

Разногласия, полученные в этих работах [15, 24, 25], могут быть связаны с недостатками иммуноголд-метода, в котором используется сыворотка против лишь одного из изоферментов КА или КА из других объектов, к которой фермент пиреноида может иметь низкое сродство. В отличие от иммуноцитохимического анализа с помощью метода связывания фермента сульфаниламидом [24] можно идентифицировать все формы (изоферменты) КА.

Роль пиреноида в концентрировании и генерации CO_2 в хлоропласте. Отличительной особенностью многих эукариотических микроводорослей является наличие пиреноида, который на электронных микрофотографиях характеризуется как электронноплотное включение, локализованное в хлоропласте (рис. 3). У многих видов водорослей вокруг пиреноида имеют место обкладки, содержащие крахмал (рис.3), парамилон или липидные включения [12, 14, 17].

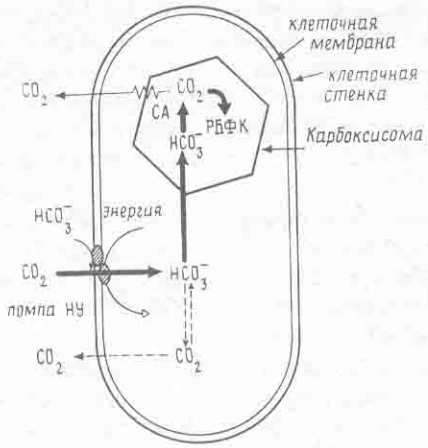

Рис. 4. Схема локализации компонентов и функционирования концентрирующего механизма у цианобактерии *Synechococcus* [28, 29]. Помпа НУ использует в качестве субстрата CO_2. Способность утилизировать HCO_3^- индуцируется при низких концентрациях НУ. HCO_3^- накапливается в цитозоле и переносится в карбоксисомы, где генерируется CO_2 около РБФК(О) с помощью карбоангидразы. Роль барьера для утечки CO_2 из карбоксисом выполняет карбоксисомальная мембрана

Морфологию пиреноида интенсивно исследовали многие годы, тогда как его функция оставалась неясной. Некоторые исследователи считали, что пиреноид представляет собой запасной белок. Холдсворс [26] также предполагал, что РБФК(О) и, возможно, другие ферменты фотосинтетического цикла восстановления углерода сосредоточены в пиреноиде, который обеспечивает делящиеся клетки ферментами.

С другой стороны, наличие РБФК(О) в пиреноиде [12, 14, 21] и данные о локализации в пиреноиде ряда других ферментов цикла Кальвина [26] не исключают той возможности, что пиреноид обладает полным комплектом ферментов цикла Кальвина.

Возникает также вопрос — почему у организмов, содержащих пиреноид, РБФК(О) локализуется в области, удаленной от других реакций и процессов, имеющих место в хлоропласте? Недавно этому факту было дано новое объяснение [15] в свете модели, предложенной для объяснения локализации РБФК(О) в карбоксисомах цианобактерий [27] (рис. 4).

В последние годы Рейнхольд с соавт. [28] предложили модель, идентифицирующую карбоксисомы как интегральный компонент механизма концентрирования CO_2 у цианобактерий. Прайс и Баджер [29] получили доказательства в поддержку этой модели. Эти доказательства [29] основаны на экспериментах, в которых КА животных экспрессировалась в цитозоле цианобактерии *Synechococcus* PCC7942, что приводило к фенотипу, нуждающемуся в высокой концентрации CO_2 для роста и на положении о том, что ряд мутантов, «нуждающихся в высокой концентрации CO_2», но сохранивших способность к внутриклеточному накоплению НУ, утратили элементы, ответственные за образование CO_2 внутри карбоксисом. Карбоксисомы, по мнению авторов, служат компартментами, в которых может генерироваться и выделяться CO_2 в местах карбоксилирования. В этой модели (рис. 4) КА локализуется исключительно в карбоксисомах и участвует в генерации CO_2 из иона HCO_3^-, что увеличивает концентрацию CO_2 в этом компартменте и создает микроокружение, необходимое для насыщения РБФК(О) CO_2. В цитоплазме НУ, по-видимому, представлен в основном HCO_3^-, который в отсутствие КА дегидратируется очень медленно.

По аналогии с карбоксисомальной моделью концентрирования CO_2 Маккей с соавт. [15] предположили, что пиреноид также может играть существенную роль в механизмах CO_2-концентрирования. Согласно этой модели, РБФК(О) и КА должны быть локализованы в пиреноиде. И если появляется все больше фактов, указывающих на то, что РБФК(О) локализована именно в пиреноиде и вносит существенный вклад в фиксацию CO_2, то данных о локализации в пиреноиде КА пока мало.

Для понимания механизма концентрирования CO_2 необходимо знать полипептидный состав и активность ферментов, входящих в состав пиреноида, при адаптации к

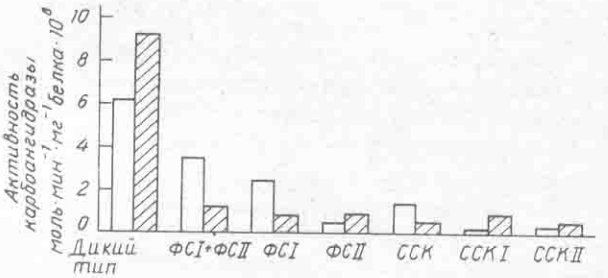

Рис. 5. Активность карбоангидразы у фотосинтетических мутантов *Chlamydomonas reinhardtii* (указаны сохранившиеся хлорофилл-белковые комплексы фотосистем). Незаштрихованный столбик — мембраносвязанная КА, заштрихованный столбик — растворимая КА

низким концентрациям CO_2, а также изучить соотношение РБФК(О) в пиреноиде и растворимой РБФК(О) в строме [24]. Ясно также, что точное знание локализации КА должно пролить свет на функциональную роль пиреноида, поскольку необходимо учитывать, что условием действия механизма CO_2-концентрирования у микроводорослей по карбоксисомальному типу является ограничение субклеточного распределения КА пиреноидом. Локализация части КА снаружи пиреноида в строме, однако, не согласуется с карбоксисомальной моделью Рейнхольд. В этой связи становится понятным, почему модель Рейнхольд не может распространяться на все эукариоты, имеющие пиреноид.

Тем не менее эта модель, имеющая много общего с моделью, предложенной нами (рис. 2), объясняет механизм, с помощью которого создается структура, необходимая для поддержания высоких концентраций CO_2 и увеличения сопротивления диффузии CO_2. Роль барьера, препятствующего утечке CO_2 из пиреноида, может выполнять крахмальная обкладка вокруг пиреноида. Возможно, что в клетках микроводорослей, имеющих пиреноид, CO_2-концентрирующий механизм функционирует через увеличение насыщения диоксидом углерода РБФК(О) в пиреноиде. Возможно, что микроводоросли, имеющие пиреноид, эволюционно занимают промежуточное место между цианобактериями, содержащими РБФК(О) в карбоксисомах, и организмами, у которых РБФК(О) распределена в строме хлоропласта. В этой связи кажется закономерным, что $K_M(CO_2)$ РБФК(О) у микроводорослей, имеющих пиреноид, ниже, чем у цианобактерий, и выше, чем у высших C_3-растений [1].

Можно думать, что отношение CO_2/O_2 в пиреноиде будет снижаться вследствие выделения O_2 в тилакоидах, пересекающих пиреноид (рис. 3). Маккей и др. в своем обзоре [15] сделали попытку объяснить, как сохраняется высокое отношение CO_2/O_2 в центрах карбоксилирования. Авторы опирались главным образом на факты, свидетельствующие о том, что вклад тилакоидов пиреноида в суммарное значение фотосинтетического выделения кислорода хлоропласта в целом невелик. На это указывает то, что очень часто внутрипиреноидные тилакоиды редуцированы [30], число ламелл в пиреноиде невелико и составляет у некоторых групп водорослей лишь один или два тилакоида [31]. Тилакоиды хлоропласта в отличие от пиреноидных часто сгруппированы по два, три и более тилакоидов.

Более того, цитохимическая и иммуноцитохимическая характеристики тилакоидов [15, 32] показали, что внутрипиреноидные тилакоиды содержат полипептиды ФСI, а активность ФСII в них либо значительно уменьшена либо совсем отсутствует. Эти исследования указывают на низкую способность внутрипиреноидных тилакоидов к выделению кислорода. Отсутствие ФСII в пиреноиде позволило сделать заключение, что в этом компартменте возможно сохранить повышенную концентрацию CO_2 и ожидать высокого значения отношения CO_2/O_2 в местах локализации РБФК(О) [15].

В этой связи можно дать новое объяснение полученным нами данным о локализации

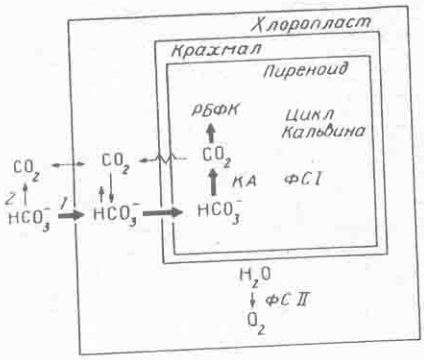

Рис. 6. Механизм генерации CO_2 в пиреноиде хлоропласта. С помощью HCO_3^- помпы (*1*) или облегченной диффузии CO_2 (2) в хлоропласте накапливается НУ, главным образом в форме HCO_3^-. Бикарбонат проникает в пиреноид, где локализуется РБФК(О) и дегидратируется с образованием CO_2. Генерация CO_2 в пиреноиде катализируется КА, локализованной в ламеллах, содержащих ФСI. Во внепиреноидных тилакоидах, где локализуется ФСII, генерируется O_2. Крахмальные обкладки создают сопротивление диффузии CO_2 из пиреноида. Центральный элемент модели — кооперация РБФК(О) и КА в пиреноиде и различная локализация генерации CO_2 и O_2 в хлоропласте

КА в тилакоидных мембранах [7, 8] и наличии высокой активности фермента у фотосинтетических мутантов *C. reinhardtii*, сохранивших комплексы ФСI (рис. 5). Как следует из рис. 6, мутанты, лишенные ФСI и сохранившие лишь ФСII или светособирающие комплексы фотосистем, имеют очень низкую активность КА по сравнению с диким типом клеток [33]. Эти результаты могут свидетельствовать, что КА хлоропласта *C. reinhardtii* входит в состав полипептидных комплексов ФС I.

Анализ приведенных выше данных приводит нас к заключению, что механизм концентрирования и генерации CO_2 у микроводорослей, содержащих пиреноид, может функционировать через тесную кооперацию РБФК(О) пиреноида и КА внутрипиреноидных тилакоидов. В этом случае реализуется механизм, представленный на рис. 2, *б*, где роль барьера, препятствующего утечке CO_2 из пиреноида в строму, играют крахмальные обкладки.

Механизм генерации CO_2 в клетках микроводорослей, имеющих пиреноид, может сводиться к следующему (рис. 6): НУ транспортируется в хлоропласт за счет активного транспорта HCO_3^- или облегченной диффузии CO_2, в результате чего содержание НУ в хлоропласте достигает высоких значений. В пиреноиде HCO_3^- (основной вид НУ стромы) дегидратируется с помощью КА до CO_2 и затем утилизируется РБФК(О). Таким образом, CO_2 образуется и утилизируется в одном и том же микрокомпартменте, который пространственно удален от реакций фотосинтетического выделения O_2 в тилакоидах, находящихся вне пиреноида и локализованных в строме хлоропласта. Небольшие количества CO_2, образовавшиеся при неферментативной дегидратации HCO_3^- в строме и цитоплазме, и большие количества фотосинтетически образованного O_2 свободно диффундируют при этом через проницаемую плазмалемму. Таким образом, решаются проблемы влияния высоких концентраций O_2 на фиксацию CO_2, снижения оксигеназной функции РБФК(О) и снижения скорости диффузии CO_2 из клетки.

Вероятно, в микроводорослях, не содержащих пиреноид, у которых РБФК(О) локализована в строме, могут функционировать два механизма (рис. 2, *а*, *б*) при условии ограничений, рассмотренных в начале обзора.

Функционирование пиреноида как самостоятельного метаболического компартмента может вносить существенный вклад в увеличение эффективности фотосинтеза при снижении концентрации CO_2. Однако следует все же отметить, что в настоящее время

имеется мало сведений о природе биохимических реакций, протекающих при такой высокой концентрации белка, которая наблюдается в пиреноиде.

Из анализа литературы последних лет становится ясно, что для увеличения фотосинтетического сродства к НУ при адаптации микроводорослей к недостатку CO_2 необходима полностью сформированная система концентрирования CO_2, которая включает не только систему активного транспорта и накопления НУ в клетке, но и необходимые компоненты и условия для использования этого внутреннего пула НУ. Среди последних большое значение уделяется роли КА и ее локализации в клетке, компартментации РБФК(О) в карбоксисомах и пиреноиде, формированию светоиндуцированного градиента pH в хлоропласте.

Необходимо особо подчеркнуть, что состояние проблемы в настоящее время позволяет приблизиться к пониманию клеточной и молекулярной организации CO_2-концентрирующих механизмов и требует привлечения к ее решению как физиолого-генетических и биохимических методов, так и методов математического моделирования этих процессов.

Авторы приносят благодарность М.Г.Владимировой и А.Г.Маркеловой за обсуждение рассматриваемых в статье вопросов и любезно предоставленный рисунок 3.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Aizawa K., Miyachi S.* Carbonic anhydrase and CO_2 concentrating mechanisms in microalgae and cyanobacteria // FEMS Microbiol. Rev. 1986. V. 39. P. 215.
2. *Пронина Н.А., Семененко В.Е.* Молекулярная и клеточная организация CO_2 концентрирующих механизмов в фотоавтотрофных клетках микроводорослей // Альгология. 1991. Т. 1. № 2. С. 80.
3. *Badger M.R., Kaplan A., Berry J.A.* Internal inorganic carbon poll of *Chlamydomonas reinhardtii*. Evidence for a carbon dioxide concentrating mechanims // Plant Physiol. 1980. V. 66. № 3. P. 407.
4. *Пронина Н.А., Аврамова С., Георгиев Д., Семененко В.Е.* Динамика карбоангидразной активности *Chlorella* и *Scenedesmus* при адаптации клеток к свету высокой интенсивности и к низкой концентрации CO_2 // Физиология растений. 1981. Т. 28. Вып.1. С. 43.
5. *Husic H.D., Moroney J.V., Tolbert N.E.* The rolt of carbonic anhydrase in the inorganic carbon concentrating system of *Chlamydomonas reinhardtii* // Progress in Photosynthesis Research / Ed. J.Biggins, Dordrecht; Boston; Lancaster: Martunus nijhoff publishers, 1987. P. 317.
6. *Sultemeyer D.F., Fock H.P., Canvin D.T.* Active uptake of inorganic carbon by *Chlamydomonas reinhardtii:* evidence for simultaneous transport of HCO_3 and CO_2 characterization of active CO_2 transport // Can. J. Bot. 1991. V. 69. № 5. P. 995.
7. *Пронина Н.А., Семененко В.Е.* Локализация мембраносвязанной и растворимой форм карбоангидразы в клетках хлореллы // Физиология растений. 1984. Т. 31. Вып. 2. С. 241.
8. *Пронина Н.А., Семененко В.Е.* Локализация связанной карбоангидразы в мембранах клеток хлореллы // Физиология растений. 1988. Т. 35. Вып. 1. С. 51.
9. *Tsuzuki M., Shiraiwa Y., Miyachi S.* Role of carbonic anhydrase in photosynthesis in *Chlorella* derived from kinetic analysis of $^{14}CO_2$ fixation // Plant Cell Physiol. 1980. V. 21. № 4. P. 677.
10. *Семененко В.Е., Аврамова С., Георгиев Д., Пронина Н.А.* О световой зависимости карбоангидразной активности клеток *Chlorella* и *Scenedesmus* // Физиология растений. 1979. Т. 26. Вып. 5. С. 1069.
11. *Husic H.D., Kitayama M., Togasaki R.K. et al* Identification of intracellular carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii* which is distinct from the periplasmic form of the enzyme // Plant Physiol. 1989. V. 89. № 3. P. 904.
12. *Владимирова М.Г., Маркелова А.Г., Семененко В.Е.* Выявление локализации рибулозобисфосфаткарбоксилазы в пиреноидах одноклеточных водорослей цитоиммунофлуоресцентным методом // Физиология растений. 1982. Т. 29. Вып. 5. С. 941.
13. *Lacoste-Royal G., Gibbs S.P.* Ochromonas mitochondria contain specific chloroplast protein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. № 5. P. 1456.
14. *Маркелова А.Г., Владимирова М.Г., Семененко В.Е.* Ультраструктурная локализация РБФК в клетках водорослей // Физиология растений. 1990. Т. 37. Вып. 5. С. 907.
15. *McKay M.R.L., Gibbs S.P.* Composition and function of pyrenoids: cytochemical and immunocytochemical approaches // Can. J. Bot. 1991. V. 69. № 5. P. 1040.
16. *McKay M.R.L., Gibbs S.P., Vaughn K.C.* Rubisco activase is present in the pyrenoid of green algae // Protoplasma. 1991. V. 162. № 1. P. 38.
17. *Kiss J.Z., Vasconcelos A.C., Triemer R.E.* Paramylon synthesis and chloroplast structure associated with nutrient levels in *Euglena* // J. Phycology. 1986. V.22. № 2. P. 327.

18. *Osafune T., Sumida S., Ehara T. et al.* Immunoelectron microscopic evidence for the occurrence of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in «propyrenoids» *Euglena gracilis* // J. Electron Microsc. 1990. V. 39. № 1. P. 101.
19. *Osafune T., Yokota A., Sumida S., Hase E.* Immunogold localization of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase with reference to pyrenoid morphology in chloroplasts of synchronized *Euglena gracilis* cells // Plant Physiol. 1990. V. 92. № 3. P. 802.
20. *Lacoste-Royal G., Gibbs S.P.* Immunocytochemical localization of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in the pyrenoid and thylakoid region of the chloroplast of *Chlamydomonas reinhardtii* // Plant Physiol. 1987. V. 83. № 3. P. 602.
21. *McKay L., Gibbs S.P.* Immunocytochemical localization of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in light-limited and light-saturated cells of *Chlorella pyrenoidosa* // Protoplasma. 1989. V. 149. № 1. P. 31.
22. *Spreitzer R.J., Ogren W.L.* Rapid recovery of chloroplast mutations affecting ribulosebisphosphate carboxylase/oxygenase in *Chlamydomonas reinhardtii* // Proc. Natl. Acad. Sci. 1983. V. 80. № 20. P. 6293.
23. *Moroney J.V., Husic H.D. Tolbert N.E. et al.* Isolation and characterization of a mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* deficient in the CO_2 concentrating mechanism // Plant Physiol. 1989. V. 89. № 3. C. 897.
24. *Kuchitsu K., Miyachi S.* Polypeptide composition and enzyme activities of the pyrenoid and its regulation by CO_2 concentration in unicellular green algae // Can J. Bot. 1991. V. 69. № 5. P. 1062.
25. *Yagawa Y., Muto S., Miyachi S.* Carbonic anhydrase of unicellular red alga *Porphyridium cruentum* R-1. II. Distribution and role in photosynthesis // Plant Cell Physiol. 1987. V. 28. № 8. P. 1509.
26. *Holdsworth R.H.* The isolation and partial characterization of the pyrenoid protein of *Erimosphaera viridis* // J. of Cell Biology. 1971. V. 51. № 2. P. 499.
27. *Codd G.A.* Carboxysomes and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase // Advances in microbial physiology. L.: Acad Press, 1988. P. 115.
28. *Reinhold L., Zviman M., Kaplan A.* A quantitative model for inorganic carbon fluxes and photosynthesis in cyanobacteria // Plant Physiol. Biochem. 1989. V. 27. № 3. P. 945.
29. *Price G.D., Badger M.R.* Expression of Human carbonic anhydrase in the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942 created a high CO_2-requiring phynotype // Plant Physiol. 1989. V. 91. № 2. P. 505.
30. *Griffiths D.J.* The pyrenoid // Bot. Rev. 1970. V. 36. № 1. P. 29.
31. *Gibbs S.P.* The ultrastructure of the pyrenoids of algae, exclusive of the green algae // J. Ultrastructure Research. 1962. V. 7. № 1. P. 247.
32. *Vitry C., Olive J., Drapier D., Recouvreur M.* Posttranslational events leading to the assembly of photosystem II protein complex: a study using photosynthesis mutants from *Chlamydomonas reinnardtii* // J. of Cell Biology. 1989. V. 109. № 3. P. 991.
33. *Пронина Н.А., Клячко-Гурвич Г.Л., Ладыгин В.Г., Семененко В.Е.* Активность карбоангидразы у мутантов *Chlamydomonas reinhardtii* с различной организацией фотохимических систем хлоропластов // Физиология растений. 1990. Т. 37. Вып. 5. С. 899.

Поступила в редакцию
23.XII.1991

N.A. PRONINA, V.E. SEMENENKO

THE ROLE OF PYRENOID IN CONCENTRATION, GENERATION AND FIXATION OF CO_2 IN CHLOROPLASTS OF MICROALGAE

K.A.Timiriazev Institute of Plant Physiology
of Russian Academy of Sciences, Moscow

Possible mechanisms of inorganic carbon (IC) concentrating in the cells of microalgae are considered. A new hypothesis about the central role of pyrenoid containing RBPC(O) and carbonic anhydrase (CA) in the concentrating, generation and fixation of CO_2 in chloroplasts has been advanced. According to this hypothesis CO_2 generation in the pyrenoid is catalysed by CA located in lamellae crossing the pyrenoid and containing PSI. O_2 is generated in the chloroplast extrapyrenoid thylakoids where PSII is located. Starch sheaths put up resistance to CO_2 diffusion from the pyrenoid. The central element of the model is a cooperation between RBPC(O) and CA in the pyrenoid where CO_2 is generated and fixed as well as spatial organization of the processes of CO_2 and O_2 generation in the chloroplast what increases the CO_2/O_2 ratio at the sites of carboxylation and decreases the oxigenic function of RBPC(O). Possible approaches were considered to confirm or to reject the advanced model of photosynthesis in eukaryotes containing pyrenoid.