

На правах рукописи

Карелина Татьяна Александровна

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КИНЕТИЧЕСКИХ
РЕЖИМОВ ФОТОСИНТЕЗА И ПОИСК ПУТИ УВЕЛИЧЕНИЯ
КОЛИЧЕСТВА ПОГЛОЩАЕМОГО CO₂

Специальность 03.00.02 – биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва – 2008

Работа выполнена на кафедре биофизики физического факультета МГУ
имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель

доктор физико-математических наук,
профессор Александр Константинович Кукушкин

Официальные оппоненты:

доктор физико-математических наук,
профессор Владимир Александрович Карavaев
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник Николай Георгиевич Бухов

Ведущая организация

Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, г. Москва

Защита состоится «22» мая 2008 г. в _____ ч.

на заседании диссертационного совета Д 501.002.11 при Московском
государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва,
Ленинские горы, МГУ имени М.В.Ломоносова, физический факультет,
аудитория _____..

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке физического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова

Автореферат разослан «_____» _____ 2008 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 501.002.11

доктор физико-математических наук, доцент

Хомутов Г.Б.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время пространственное строение и химический состав фотосинтетического аппарата изучены достаточно подробно. Однако многие вопросы остаются невыясненными, например, не ясно, какие регуляторные процессы обеспечивают оптимальное функционирование сложной фотосинтетической системы позволяя ей подстраиваться под изменяющиеся условия внешней среды. Вместе с тем, именно от этих процессов зависит продуктивность фотосинтеза, а улучшение продуктивности фотосинтеза, возможно, позволило бы решить ряд продовольственных и экологических проблем.

Наиболее ярким проявлением регуляторных связей является немонотонная (колебательная) индукционная кинетика флуоресценции, поглощения CO_2 и других характеристик фотосинтетической системы, наблюдаемая при резком изменении условий. Одним из наиболее чувствительных экспериментальных методов изучения состояния фотосинтетической системы является регистрация индукции замедленной люминесценции. Так же, как и в кинетике выделения кислорода, поглощения CO_2 и быстрой флуоресценции, при резком изменении внешних условий наблюдались затухающие колебания замедленной люминесценции.

Еще одним интересным методом исследования регуляторных связей в фотосинтезе является изучение ответа фотосинтетической системы (флуоресценции, скорости поглощения CO_2 и количества P700^+) на освещение с интенсивностью, меняющейся по гармоническому закону с частотой ω . Было показано [1], что при таком освещении регуляторные связи могут усложнять форму зависимости флуоресценции хлорофилла от времени: в разложении полученной кинетической кривой на гармонические составляющие будут присутствовать компоненты с частотами 2ω и выше.

При изучении регуляции такой сложной системы для правильной интерпретации экспериментальных результатов может быть полезно построение математических моделей. Математическая модель описывает

изменение во времени различных компонент системы, взаимосвязь между ними и регуляторные процессы. Способность модели описать различные кинетические режимы с характерными временами, совпадающими с полученными экспериментально, является хорошей проверкой адекватности модели и понимания процессов, влияющих на форму кинетических зависимостей.

Математическая модель может также облегчить поиск пути увеличения эффективности фотосинтеза. В настоящее время путем различных изменений фотосинтетического аппарата удавалось увеличить квантовый выход фотосинтеза. Математическая модель способна помочь достаточно быстро отыскать комбинацию параметров, изменение которых позволит достичь наилучшего результата, и уменьшить объем необходимой для этого дорогостоящей экспериментальной работы. Попытки поиска пути оптимизации работы фотосинтетической системы с помощью модели уже предпринимались [2], однако при этом изучалось только влияние параметров модели на ассимиляцию CO_2 . Известно, что увеличение интенсивности света может привести к возрастанию количества восстановленных переносчиков электрон-транспортной цепи (к «перегрузке» ЭТЦ), что, в свою очередь, может привести к появлению активных форм кислорода, способных повредить фотосинтетический аппарат. Этот процесс называется фотоповреждением. Поэтому, исследуя влияние параметров на эффективность фотосинтеза, необходимо также учитывать их влияние на количество восстановленных переносчиков ЭТЦ. При этом интересно было бы исследовать влияние параметров модели на работу фотосинтетической системы, как в стационарных условиях, так и при переменном освещении.

Цель работы. Целью работы был поиск с помощью математической модели, способной описать различные кинетические режимы фотосинтеза, пути оптимизации работы фотосинтетической системы для увеличения эффективности фотосинтеза с учетом необходимости защиты от фотоповреждения.

В связи с этим были поставлены **задачи**

1. Описать с помощью существующей модели колебательный режим замедленной люминесценции на качественном уровне, но с соответствующими характерными временами (периодом колебаний), наблюдаемыми в эксперименте, проверить влияние параметров на характеристики колебательного режима с целью описания механизма возникновения колебаний.
2. Сравнить стационарные скорости различных этапов фотосинтеза со скоростями, известными из эксперимента и рассчитанными с помощью других моделей, а также проверить, описывает ли модель другие переходные режимы.
3. Описать с помощью этой модели экспериментальные данные по кинетике фотосинтеза при освещении с интенсивностью, изменяющейся по гармоническому закону.
4. Изучить влияние параметров модели на ассимиляцию CO_2 и количество восстановленных акцепторов ФС 2 при различных режимах освещения и найти комбинацию параметров, изменение которых обеспечит наибольшее увеличение эффективности фотосинтеза при минимальном увеличении степени восстановления ЭТЦ.

Научная новизна работы заключается в описании с помощью одной модели одновременно различных экспериментальных данных по переходным режимам фотосинтеза при изменении внешних условий. Впервые общая модель фотосинтеза, описывающая как первичные, так и темновые процессы, а также взаимодействие между ними, использовалась для исследования влияния кинетических параметров и внешних условий на характеристики работы фотосинтетической системы. При этом анализировалось не только изменение количества ассимилированного CO_2 , но и количество восстановленных переносчиков в электрон-транспортной цепи, что позволяет судить о степени увеличения риска фотоповреждения при изменении каких-либо параметров.

Практическая значимость заключается в том, что результаты работы могут быть использованы для увеличения эффективности работы фотосинтетической системы с целью повышения продуктивности фотосинтеза, причем с минимальной возможностью увеличения риска фотоповреждения.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на 6-ти научных конференциях, в том числе на Международных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2004» (Москва, 2004), «Ломоносов-2005» (Москва, 2005), «Ломоносов-2007» (Москва, 2007), Всероссийской конференции «Преобразование энергии света при фотосинтезе» (г. Пущино, 2005), V и VII Международных молодежных конференциях ИБХФ-РАН ВУЗы «Биохимическая физика», (Москва, 2005 и 2007) и Международной конференции “Photosynthesis in the post-genomic era” (Пущино, 2006).

Структура диссертации. Работа состоит из введения, трех глав, пяти приложений и списка цитируемой литературы. Диссертация включает 120 страниц текста, 39 рисунков и 6 таблиц. Список литературы содержит 135 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулирована цель работы.

Глава 1 содержит литературный обзор. В **разделе 1.1** описаны основные реакции фотосинтеза высших растений, включающие как первичные, так и темновые процессы. **Раздел 1.2** посвящен механизмам регуляции фотосинтеза, в частности, перечислены такие механизмы, как перемещение части светособирающего комплекса (ССК) от ФС 2 к ФС 1, нефотохимическое тушение и циклический электронный транспорт вокруг ФС 1, приводящий к увеличению скорости синтеза АТФ. В **разделах 1.3** и **1.4** описаны экспериментальные методы исследования регуляции фотосинтеза –

регистрация индукционных кривых флуоресценции, поглощения CO_2 и замедленной люминесценции.

Раздел 1.5 посвящен описанию экспериментального обнаружения колебательных режимов: колебаний при включении света и колебаний под воздействием света с интенсивностью, меняющейся по гармоническому закону.

Раздел 1.6 посвящен обсуждению существующих моделей фотосинтеза, с помощью которых предпринимались попытки описать колебательный режим. Проанализированы недостатки существующих моделей и возможные причины возникновения трудностей в описании колебательного режима.

Раздел 1.7 посвящен способам поиска пути повышения продуктивности фотосинтеза. Проанализированы как экспериментальные способы (генетическая модификация различных компонентов фотосинтетической системы), так и теоретические методы (исследование влияния параметров математической модели на теоретическую скорость ассимиляции CO_2).

В **разделе 1.8** критически проанализированы проблемы в описании кинетических режимов и поиске способов повышения продуктивности фотосинтеза с помощью существующих моделей и сформулированы цели и задачи работы.

В **Главе 2** приведено описание методов исследования. **Раздел 2.1** посвящен описанию модели, развитой ранее на кафедре биофизики и используемой для расчетов в настоящей работе. Модель включает первичные процессы (поглощение света пигментами фотосистем, разделение зарядов), реакции электрон-транспортной цепи и несколько реакций цикла Кальвина. Пункты **2.1.1-2.1.5** посвящены описанию процессов, учитываемых в модели. Схема модели приведена на рис. 1. В пункте **2.1.6** приведена система уравнений, используемая для расчетов. В **разделе 2.2** приведено описание методов, используемых для решения системы дифференциальных уравнений модели и программных средств, используемых для анализа результатов и некоторых расчетов.

Раздел 2.3 содержит описание метода анализа системы на устойчивость по Ляпунову, применявшегося для анализа влияния параметров на характеристики колебаний: частоту и коэффициент затухания. В этом же разделе перечислены программные средства, использованные для вычислений с помощью этого метода.

Глава 3 содержит результаты работы. **Раздел 3.1** посвящен теоретическому описанию различных кинетических режимов, наблюдавшихся ранее в экспериментах. В пункте **3.1.1** описан колебательный режим замедленной люминесценции (рис. 2). Этот режим был получен путем подбора параметров, их значения приведены в подписи к рис. 2. Ранее уже высказывалась гипотеза о возникновении колебаний: после включения света происходит резкое повышение концентрации восстановленных акцепторов ФС 1, однако из-за недостатка АТФ акцепторы расходуются медленно, это приводит к увеличению потока циклического

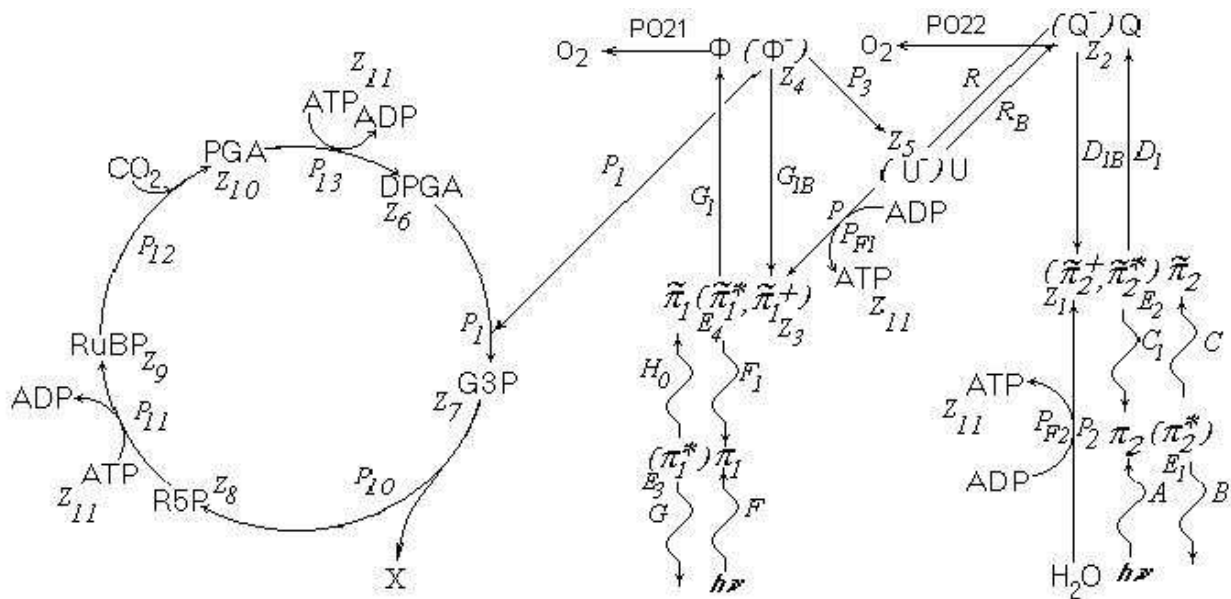


Рис. 1. Схема реакций фотосинтеза, учитываемых в модели. Здесь π_1, π_2 - пигменты антенны, π_1^*, π_2^* - пигменты антенны в возбужденном состоянии, $\tilde{\pi}_1, \tilde{\pi}_2$ - реакционные центры ФС 1 и 2, $\tilde{\pi}_1^*, \tilde{\pi}_2^*$ - реакционные центры ФС 1 и 2 в возбужденном состоянии, Q, U и Φ - электронные переносчики, DPGA - дифосфоглицерат, PGA - фосфоглицерат, Ru5P - рибулозо-5-фосфат, RuBP - рибулозобисфосфат, G3P - глицеральдегид-3-фосфат, АТФ - АТФ.

электронного транспорта вокруг ФС 1, что, в свою очередь вносит вклад в реакции ЭТЦ, которые сопряжены с синтезом АТФ, и следовательно, повышается концентрация АТФ. Повышение концентрации АТФ приводит к увеличению скорости работы цикла Кальвина и понижению концентрации акцепторов ФС 1 и уменьшению потока ЦЭТ и скорости синтеза АТФ, после чего циклы повторяются, пока система не достигнет стационара. Анализ временных зависимостей, полученных в данной работе подтвердил эту гипотезу.

Пункты **3.2-3.4** посвящены анализу характеристик работы фотосинтетической системы, полученных с помощью модели при выбранных значениях параметров. Для того чтобы проверить, насколько соответствуют действительности значения констант, выбранные для описания колебательного режима, в пункте **3.2** проведено сравнение стационарных скоростей некоторых процессов, рассчитанных с помощью

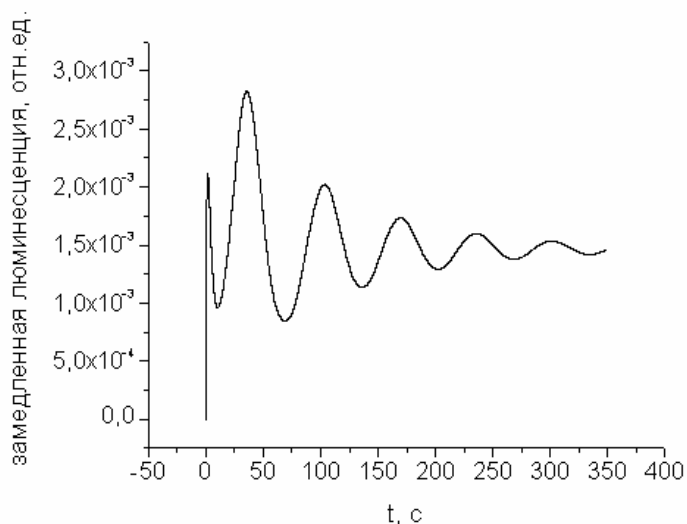


Рис. 2. Полученный с помощью модели колебательный режим замедленной люминесценции. Значения параметров: $A=4 \cdot 10^{-4}$, $B=1$, $F=0,04$, $G=1$, $C=1$, $C1=1$, $D=0$, $H_0=1$, $F_1=1$, $D_1=1$, $D_{1b}=0,04$, $G_1=1$, $G_{1b}=0$, $R=2 \cdot 10^{-3}$, $R_b=0,04$, $P=0,2$, $P_{F1}=0,007$, $P_3=0,1$, $P_1=0,01$, $P_2=4 \cdot 10^{-3}$, $P_{10}=2 \cdot 10^{-4}$, $P_{11}=10^{-5}$, $P_{12}=10^{-4}$, $P_{13}=10^{-4}$, $P_{O21}=0$, $P_{O22}=0$, $P_{F2}=0$, $P_{CO2}=1$, $ADT=25$. Начальные условия: $Z_8(0)=2$, $Z_{10}(0)=4$, $Z_{11}(0)=0,1$, остальные равны нулю.

используемой в работе модели и скоростей, рассчитанных с помощью других моделей. Анализ показал, что скорости процессов карбоксилирования РуБФ, фосфорилирования Ру5Ф и ФГА, синтеза АТФ и регенерации Ру5Ф совпадают со скоростями из других моделей с точностью до порядка. Имеются существенные отличия, однако и у других авторов наблюдаются расхождения в значениях скоростей до двух порядков. В пункте **3.1.3** приведено сравнение

стационарных концентраций некоторых компонентов фотосинтетической системы, рассчитанных с помощью нашей модели и рассчитанных с помощью других моделей, а также измеренных в экспериментах. Сравнение показало, что используемая в данной работе модель при выбранных для описания колебательного режима параметрах достаточно правдоподобно описывает работу фотосинтетической системы (концентрации метаболитов и переносчиков ЭТЦ, рассчитанные с помощью модели, совпадают с литературными данными с точностью до порядка). В пункте **3.1.4** приведено описание с помощью данной модели изменения концентраций некоторых метаболитов цикла Кальвина после выключения насыщающего света. Показано, что время достижения стационара совпадает в эксперименте и в модели и составляет около 40-50 с.

Пункт **3.1.5** посвящен моделированию колебаний под воздействием света с переменной интенсивностью. Для этого в программе была предусмотрена возможность изменения интенсивности света по закону:

$$A=A(t)=A_0+A_2\cdot\cos(\omega\cdot t) \quad (1)$$

$$F=F(t)=F_0+F_2\cdot\cos(\omega\cdot t) \quad (2)$$

Для получения нелинейного ответа флуоресценции оказалось необходимым учесть обратную регуляцию первичных процессов. В качестве механизма такой регуляции рассматривался процесс переноса подвижного ССК от ФС 2 к ФС 1. Известно, что на работу фермента киназы, осуществляющего фосфорилирование ССК, оказывает влияние восстановленный пластохинон. В пункте **3.1.5.1** было предложено описание регуляции первичных процессов с помощью учета непосредственного влияния подвижных переносчиков на поглощение света ФС 2. Параметр A , характеризующий поглощение света пигментами ФС 2, полагали зависящим от текущего значения Z_5 – концентрации восстановленной формы U подвижных переносчиков электронов между фотосистемами.

$$A(Z_5)=A\cdot(1-Ak_1\cdot Z_5(t)); \quad (3)$$

Для расчетов были использованы те же значения параметров, что и для получения колебательного режима. Исследовалась быстрая флуоресценция, как и в экспериментах [1]. Период модуляции примерно равен периоду собственных колебаний (60 с). Оказалось, что чем больше параметр Ak_1 , тем лучше выражены нелинейности во флуоресценции. Рассчитанный режим показан на рис. 3.

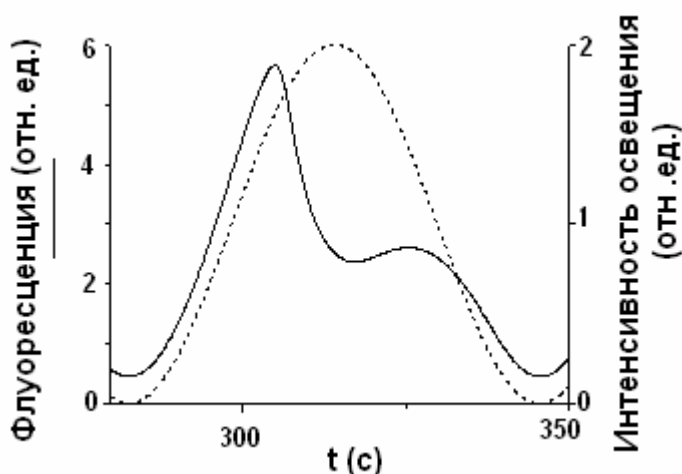


Рис. 3. Ответ системы на воздействие светом с интенсивностью, меняющейся по гармоническому закону (1-2). $A=2 \cdot 10^{-4}$, $A_2=1,9 \cdot 10^{-4}$, $F=0,02$, $F_2=0,019$, $Ak_1=20$, $\omega=0.1$ ($T=60$ с).

В пункте 3.1.5.2 учтено ингибирующее влияние тиоредоксина на работу киназы, осуществляющей фосфорилирование подвижного ССК. Для этого используется несколько иной подход в описании регуляции первичных процессов, предложенный другими авторами. При этом поглощение света ФС 2, описываемое параметром A , зависит от количества фосфорилированного ССК:

$$A(Z_{12})=A \cdot (1-Ak_1 \cdot Z_{12}(t)), \quad (4)$$

где переменная Z_{12} описывает долю фосфорилированного пигмент-белкового комплекса. Изменение переменной Z_{12} описывается с помощью уравнения

$$\frac{dZ_{12}}{dt} = k \cdot (k_0 \cdot Z_5 - Z_{12}) \quad (5)$$

Оказалось, что подбор параметров позволяет добиться совпадения описания нелинейности во флуоресценции с помощью данного метода и с помощью метода, предложенного в пункте 3.1.5.1. Для учета влияния тиоредоксина это

уравнение было изменено, в предположении, что концентрация тиоредоксина пропорциональна концентрации восстановленного акцептора ФС 1:

$$\frac{dZ_{12}}{dt} = k \cdot \left(\frac{k_0 \cdot Z_5}{1 + P_{14} \cdot Z_4} - Z_{12} \right) \quad (6)$$

Выражение в знаменателе описывает влияние тиоредоксина на работу киназы.

Анализ зависимости флуоресценции от времени показал, что при учете влияния тиоредоксина спад интенсивности флуоресценции после максимума происходит более плавно, чем показано на рис. 3, что говорит о сохранении достаточно большого количества восстановленных переносчиков ЭТЦ.

В пункте **3.1.5.3** приведено описание зависимости от времени при периодическом освещении других характеристик фотосинтетической системы: скорости поглощения CO_2 и сигнала поглощения $\Delta 820$, который характеризует количество восстановленных реакционных центров ФС 1 ($P700^+$). Для совпадения теоретического описания этих зависимостей с экспериментальными данными оказалось необходимым изменить некоторые параметры, используемые в модели. Полученные результаты для зависимости флуоресценции и поглощения CO_2 от времени и значения измененных параметров приведены на рис. 4. Теоретические зависимости качественно воспроизводят экспериментальные результаты, хотя в зависимости флуоресценции от времени второй максимум наступает раньше, чем в экспериментальных данных. Для зависимости $P700^+$ от времени была получена кривая, совпадающая по форме с экспериментальной, однако также несовпадающая с ней по фазе. Это может объясняться тем, что не совсем корректно описан механизм регуляции первичных процессов. В частности, для переноса подвижного ССК требуется определенное время, и это не учтено в модели. То, что допущена неточность описания именно механизма регуляции первичных процессов, подтверждается тем фактом, что в скорости поглощения CO_2 фазовых сдвигов не наблюдается. Анализ показал, что сама нелинейность ответа системы на освещение с периодической интенсивностью проявляется в принципе даже и без учета регуляции первичных процессов при $Ak1=0$ (рис. 4).

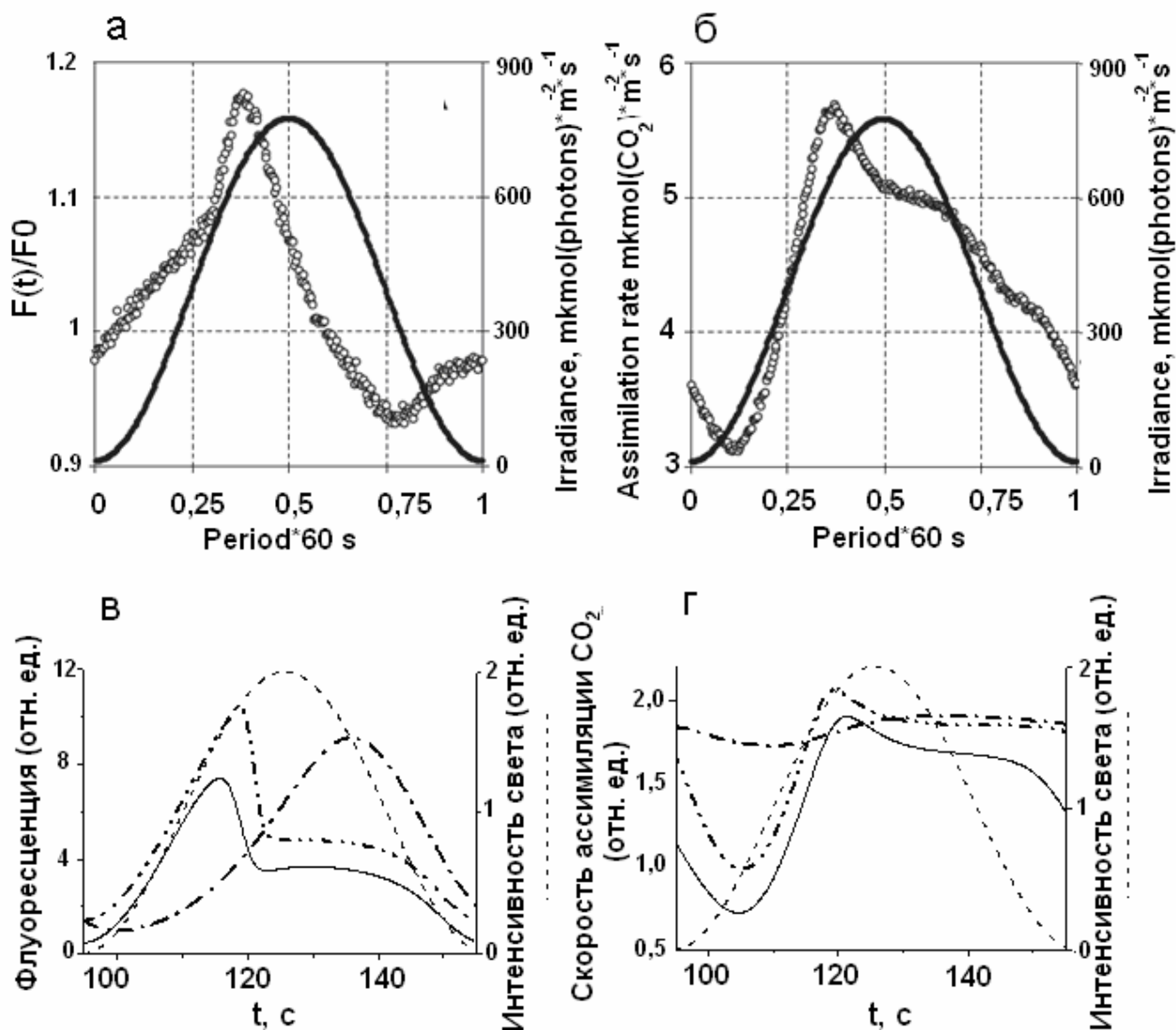


Рис. 4. Зависимости от времени флуоресценции (а,в) и поглощения CO_2 (б, г), полученные в эксперименте (а,б) [1] и рассчитанные с помощью модели (в, г). Штриховая линия – интенсивность освещения, остальные линии – зависимости, полученные при значениях параметров $A=6 \cdot 10^{-4}$, $A_2=5,5 \cdot 10^{-4}$, $F=2 \cdot 10^{-2}$, $F_2=1,8 \cdot 10^{-2}$, $P_{11}=7 \cdot 10^{-5}$; $P_{13}=5 \cdot 10^{-6}$; $P_{F2}=0,5$, $A_{k1}=35$. Штрихпунктирная – без регуляции первичных процессов ($A_{k1}=0$), штрихпунктирная с двумя точками – без циклического ЭТ ($P_3=0$).

Однако учет этой регуляции является необходимым для правдоподобного описания самой формы кривых. Таким образом, анализируя результаты моделирования, мы можем предложить следующий механизм регуляции фотосинтеза. Недостаток АТФ в цикле Кальвина замедляет линейный ЭТ из-за медленного расходования НАДФН, но при этом возрастает поток через циклический электронный транспорт. Оба эти процесса приводят к возрастанию концентрации восстановленных подвижных переносчиков.

Поскольку при этом замедляются скорости всех реакций ЭТЦ, появляется опасность фотоповреждения. Поэтому количество восстановленных подвижных переносчиков является регулятором первичных процессов. Этот механизм обратной регуляции обеспечивает уменьшение поглощения света или количества пигментов матрицы в возбужденном состоянии, что приводит к снижению количества восстановленных промежуточных переносчиков.

В разделе 3.2 с помощью теории Ляпунова анализируется влияние параметров модели на решения системы уравнений. Этот метод позволяет выделить параметры, которые непосредственно влияют на возможность существования колебаний и на характеристики колебаний (частоту и коэффициент затухания). Ранее уже были определены значения параметров, при которых модель описывает колебания, похожие на наблюдаемые экспериментально. В пункте 3.2.1 для проверки применимости метода Ляпунова были найдены решения характеристического уравнения при данных значениях параметров. При этом было получено две пары комплексно сопряженных решений векового уравнения: $\lambda_{1,2} = -0,000008 \pm 0,0001i$ и $\lambda_{3,4} = -0,00028 \pm 0,0001i$. Первая пара соответствует колебаниям с частотой $\omega = 0,0001 \text{ мс}^{-1}$ или $\omega = 0,1 \text{ с}^{-1}$ и коэффициентом затухания $0,008 \text{ с}^{-1}$, которые совпадают с экспериментальными данными. Другая пара соответствует колебаниям с таким же значением частоты, но с очень большим значением коэффициента затухания, поэтому на графиках эти колебания не видны. Это означает, что помимо наблюдаемых колебаний, существуют еще другие колебания, которые быстро затухают, но они могут также свидетельствовать о регуляторных процессах. Был построен Фурье-спектр колебаний, полученных в модели, который качественно совпадал со спектрами, полученными в экспериментах других авторов. В спектре присутствуют частоты меньше частоты 0,02 Гц, соответствующей периоду около 1 мин, наблюдаемому экспериментально.

Для изучения влияния параметров модели на частоту и коэффициент затухания колебаний значение каждого параметра изменялось в пределах двух-трех порядков в меньшую и большую сторону от значения, использованного

для получения колебательного режима (рис. 2). Для каждого нового значения параметра решалось характеристическое уравнение. Таким образом, были построены зависимости частот колебаний и коэффициентов затухания от этих параметров. В результате оказалось возможным условно разделить параметры на две группы. Первая была названа группой слабо-влияющих параметров, вторая - группой сильно-влияющих параметров.

В пункте **3.2.2** перечислены параметры, слабо-влияющие на колебания: P (константа скорости электронного транспорта), P_1 (константа скорости поступления восстановителя Φ^- в цикл Кальвина), P_{10} , P_{12} и P_{13} (константы скоростей реакций цикла Кальвина). Зависимости частот колебаний и коэффициентов затухания от этих параметров имеют вид кривых с насыщением, т.е. в коротком интервале изменения каждого из этих параметров частота и коэффициент затухания увеличиваются или уменьшаются, достигают экстремального значения, при дальнейшем изменении значения этого параметра в большую сторону они остаются неизменными. У каждого из этих параметров всегда есть только одна область существования колебаний (ОСК), т.е. область изменений этого параметра, где существуют колебания, и ОСК либо ограничена только снизу, либо вообще не ограничена для любых значений параметра больше нуля.

В пункте **3.2.3** перечислены параметры, названные сильно-влияющими: A и F (количество света, поглощаемого фотосистемами 2 и 1 соответственно), P_{11} (регенерация РуБФ), P_3 (константа скорости циклического электронного транспорта), P_{F1} (константа сопряжения электронного транспорта и синтеза АТФ). Кривые зависимостей частот колебаний и коэффициентов затухания от этих параметров имеют более сложный вид, и все они имеют разную форму. Для некоторых параметров имеется несколько ОСК.

Раздел 3.3 посвящен исследованию влияния параметров модели на теоретическую эффективность работы фотосинтетической системы. В этом разделе исследуется влияние параметров на такие характеристики работы системы, как стационарная скорость ассимиляции CO_2 , общее количество CO_2 ,

поглощенного за период достижения стационарного состояния и количество восстановленных переносчиков ЭТЦ (акцепторов ФС 2).

В пункте **3.3.1** описано изучение влияния нескольких выбранных параметров на ассимиляцию во время достижения стационара после включения постоянного света. При различных значениях параметров на достижение стационарного состояния требовалось разное время, поэтому для облегчения сравнения результатов вычислений был выбран промежуток 800 с, время, за которое, как правило, стационар достигался при любых значениях параметров. Таким образом, рассчитывалась стационарная скорость поглощения CO_2 и количество CO_2 , ассимилированного за время 800 с после включения света. При этом изменения проводились в небольшой области около значений параметров, выбранных для описания колебательного режима. В Таблице 1 приведены результаты расчетов. В нашей модели в предположении, что $P_{\text{CO}_2}=1$, т.е. при насыщающих концентрациях CO_2 , скорость ассимиляции CO_2 пропорциональна Z_9 . Поэтому исследовалась зависимость стационарных значений Z_9 от параметров. Оказалось, что только три параметра из исследуемых влияют на поглощение CO_2 : F (количество света, поглощаемого ФС 1), A (количество света, поглощаемого ФС 2), P_{12} (константа скорости ассимиляции CO_2). Уменьшение стационарной скорости ассимиляции при увеличении интенсивности света, поглощаемого ФС 2 (строка 1.3 Таблицы 1), по всей видимости, может быть вызвано перегрузкой ЭТЦ. Это означает, что если бы в фотосинтезе не было механизмов защиты ЭТЦ от перевосстановления, это могло бы привести не только к фотоповреждению, которое у нас в модели не учитывается, но и к уменьшению поглощения CO_2 . Учет регуляции первичных процессов в соответствии с формулой (3) устраняет эффект падения скорости ассимиляции, при значении параметра $Ak_1=40$ зависимость скорости ассимиляции от интенсивности света поглощаемого ФС 2 имеет вид кривой с насыщением.

Таблица 1 Обозначения: V_s – стационарная скорость поглощения CO_2 , Z_2 – концентрация восстановленных акцепторов ФС 2, A – количество CO_2 , ассимилированного за время 800с. Исходные значения параметров: $A=2 \cdot 10^{-4}$, $F=0,02$, $P=0,2$, $P_{F1}=7 \cdot 10^{-3}$, $P_3=0,1$, $P_{10}=2 \cdot 10^{-4}$, $P_{11}=10^{-5}$, $P_{12}=1 \cdot 10^{-4}$, $P_{13}=1 \cdot 10^{-4}$, остальные как в подписи к рис. 2. Для Z_2 указаны среднее и максимальное значения. Все величины указаны в относительных единицах. Значения параметров разделены косой чертой.

Изменяемые параметры и их значения		V_s	A	Z_2	
				Средн.	Мах.
Колеб. режим.	1.1) См. в подписи к таб.	0,9	71	0,027	0,051
P_{12}	1.2) $2 \cdot 10^{-4}$	1,1	176	0,087	0,147
A	1.3) $5 \cdot 10^{-4}$	0	130	0,64	0,94
	1.4) $4 \cdot 10^{-4}$	1,8	141	0,078	0,146
F	1.5) 0,04	0,9	70	0,07	0,104
	1.6) 0,001	0,5	37	0,772	0,901
A, P_{F1}	1.7) $4 \cdot 10^{-4} / 0,015$	1,6	142	0,033	0,099
A, F, P_{F1}	1.8) $4 \cdot 10^{-4} / 0,12 / 0,015$	2,2	175	0,11	0,15
При измененных параметрах $A=5 \cdot 10^{-4}$, $F=0,12$, $P_{F1}=0,015$					
P	2.1) 0,5	2,2	176	0,068	0,106
P, P_3	2.2) 0,5/0,2	2,2	176	0,064	0,099
P, P_3 , P_{11} , P_{12}	2.3) 0,5/0,2 / $2 \cdot 10^{-5} / 3 \cdot 10^{-4}$	0,75	178	0,031	0,051

Расчеты показали, что изменение только одного параметра, как правило, не приводит к увеличению скорости ассимиляции (за исключением параметров P_{12} , F и A), хотя и может способствовать разгрузке ЭТЦ. Увеличение интенсивности света в ФС 1 (F) и ФС 2 (A) приводит к увеличению количества ассимилированного CO_2 , однако одновременно приводит к увеличению количества восстановленных переносчиков в ЭТЦ. Максимального увеличения ассимиляции в этом случае можно добиться увеличением константы сопряжения электронного транспорта и синтеза АТФ (P_{F1} , строка 1.8 Таб. 1). Для уменьшения количества восстановленных акцепторов ФС 2 в этом случае необходимо увеличить скорости линейного и циклического электронного транспорта (P и P_3) и скорости хотя бы двух реакций цикла Кальвина (Таб. 1, строка 2.3).

Интересно, что увеличения эффективности фотосинтеза можно добиться изменением именно тех параметров, которые были отнесены к группе сильно-

влияющих на колебательный режим. Это говорит о том, что в колебательном режиме проявляется работа основных регуляторных механизмов системы, осуществляющих оптимизацию ее работы при изменении внешних условий.

В пункте **3.3.2** приведены результаты исследования влияния параметров, описывающих регуляцию первичных процессов, на характеристики работы фотосинтетической системы. Результаты расчетов для некоторых параметров приведены в Таблице 2. Расчеты показали, что эти процессы способствуют уменьшению количества восстановленных акцепторов ФС 2 при незначительном уменьшении количества ассимилированного CO_2 . Анализ влияния обратной связи показал, что добавление такой связи не уменьшает достигнутых результатов увеличения продуктивности, но дополнительно способствует уменьшению степени восстановления ЭТЦ (Таб. 2, строки 2.1-2.10). В таблице показаны результаты расчетов для различных значений параметров k и k_0 . Фактически параметр k характеризует скорость процессов фосфорилирования и дефосфорилирования, а параметр k_0 - соотношение между скоростями реакций фосфорилирования и дефосфорилирования. Видно, что уменьшение количества восстановленных акцепторов ФС 2 обеспечивается при больших значениях k_0 (Таб. 2, строки 1.3, 1.4, 2.3, 2.4). Уменьшение этого параметра по сравнению с параметром k приводит к тому, что количество восстановленных акцепторов практически не изменяется (2.4). Наименьшей степени восстановления ЭТЦ при минимальном уменьшении скорости ассимиляции можно добиться при низких значениях параметра k и высоких значениях k_0 (Таб. 2, строки 1.4, 2.6). Видно, что при изменении стационарной скорости ассимиляции примерно на 15% происходит уменьшение максимальной концентрации восстановленных переносчиков на 30 % (Таб. 2, строка 2.6). Учет ингибирования тиоредоксином с различными параметрами, описывающими его влияние, показал, что характеристики работы системы при этом не улучшаются (Таб. 2, строки 2.7-2.8).

Таблица 2. Исследование влияния параметров, описывающих регуляцию первичных процессов. Значения изменяемых параметров приведены в таблице, остальные как в подписи к Таблице 1.

Изменяемые параметры и их значения		V_s	A	Z_2	
				средн.	max.
Колеб. режим.	1.1) См. в подписи	0,9	71	0,027	0,051
Ak1	1.2) 40	0,7	52	0,02	0,037
Ak1, k, k ₀	1.3) 20/1/1	0,75	59,8	0,023	0,043
	1.4) 20/0,1/1	0,87	69,4	0,023	0,041
Ak1, k, k ₀ , P ₁₄	1.5) 20/1/1/1	0,77	61	0,023	0,044
	1.6) 40/1/1/1	0,68	53,4	0,02	0,04
	1.7) 40/1/1/10	0,78	61,4	0,023	0,045
Изменены $A=5 \cdot 10^{-4}$, $F=0,12$, $P_{F1}=0,015$, $P=0,5$, $P_3=0,2$, $P_{11}=2 \cdot 10^{-5}$, $P_{12}=3 \cdot 10^{-4}$					
Ak1	2.1) 0	0,75	178	0,031	0,051
	2.2) 20	0,6	163	0,029	0,042
Ak1, k, k ₀	2.3) 20/1/1	0,67	163,4	0,029	0,042
	2.4) 20/0,1/1	0,67	163,4	0,029	0,042
	2.5) 20/1/0,1	0,73	176,3	0,031	0,05
	2.6) 20/0,05/2	0,63	152	0,026	0,034
Ak1, k, k ₀ , P ₁₄	2.7) 20/1/1/1	0,68	164	0,029	0,045
	2.8) 20/0,05/2/10	0,68	162	0,028	0,048

В пункте **3.3.3** изучается влияние параметров модели на ассимиляцию при освещении с интенсивностью, изменяющейся по гармоническому закону. Были проведены исследования (Таблица 3), аналогичные описанным выше (пункт 3.5.1). Исследования проводились вблизи значений параметров, использованных для описания экспериментальных данных [2]. Режим, рассчитанный при этих значениях параметров, назывался «основным». Видно, что параметр P_{12} , характеризующий скорость карбоксилирования РуБФ, влияет на ассимиляцию, причем его увеличение ведет не только к улучшению ассимиляции, но и к уменьшению степени восстановления ЭТЦ (Таб. 3, строка 1.14). При этом параметр P_{11} , скорость фосфорилирования Ру5Ф, мало влияет как на ассимиляцию, так и на разгрузку цепи (Таб. 3, строка 1.6). Параметр P_{13} , скорость фосфорилирования глицерофосфата, который не влиял на ассимиляцию при постоянном освещении, влияет на нее при периодическом

освещении. Исследование влияния отдельных параметров проводилось без учета влияния регуляции первичных процессов ($Ak1=0$). Однако оказалось, что

Таблица 3. Обозначения A_p – количество CO_2 , ассимилированного за период 1 мин. Исходные значения параметров: $A=6 \cdot 10^{-4}$, $A_2=5,5 \cdot 10^{-4}$, $F=2 \cdot 10^{-2}$, $F_2=1,9 \cdot 10^{-4}$, $P_{F1}=0,007$, $P_{10}=2 \cdot 10^{-4}$, $P_{11}=5 \cdot 10^{-5}$, $P_{12}=10^{-4}$, $P_{13}=2 \cdot 10^{-6}$, $P_{F2}=0,5$, $Ak1=0$. Для параметров A и F указаны средние значения, амплитуда их изменений (A_2 и F_2) примерно 90-95% от среднего значения.

Изменяемые параметры и их значения		A_p	Z_2	
			средн.	max.
«Основной» режим	1.1) См. в подписи	10,5	0,689	0,92
A	1.2) 0,02	10,6	0,99	1
F	1.3) 0,1	10,5	0,68	0,92
P_{10}	1.4) $2 \cdot 10^{-4}$	11	0,660	0,908
P_{11}	1.5) $2 \cdot 10^{-4}$	10,71	0,677	0,916
P_{12}	1.6) $2 \cdot 10^{-4}$	13,5	0,482	0,798
P_{13}	1.7) $1 \cdot 10^{-5}$	13,26	0,487	0,817
$Ak1$	1.8) 45	8,9	0,027	0,046
Изменены параметры: $A=2 \cdot 10^{-2}$, $F=2$, $P_{F1}=0,015$, $Ak1=45$				
P_{10} / P_{12}	2.1) $3 \cdot 10^{-4} / 3 \cdot 10^{-4}$	2,5	0,047	0,055
P_{10} / P_{13}	2.2) $3 \cdot 10^{-4} / 2 \cdot 10^{-5}$	2,5	0,047	0,078
P_{12} / P_{13}	2.3) $3 \cdot 10^{-4} / 2 \cdot 10^{-5}$	30	0,08	0,095

при периодическом освещении участие этого механизма регуляции обеспечивает уменьшение количества восстановленных акцепторов в 20 раз при уменьшении скорости ассимиляции всего на 20% (Таб. 3, строка 1.8). Дальнейшие расчеты проводились при значении параметра $Ak1=45$. Неожиданным результатом является то, что при одновременном изменении констант двух скоростей реакций цикла Кальвина (синтез $Pu5Ф$ и карбоксилирование $PuБФ$, либо синтез $Pu5Ф$ и фосфорилирование глицерофосфата) количество ассимилированного CO_2 не возрастает, а наоборот, уменьшается (Таб. 3, строки 2.1-2.2). Наиболее интересным с практической точки зрения результатом является то, что увеличения ассимиляции CO_2 в три раза при увеличенной интенсивности света и скорости синтеза АТФ можно достигнуть одновременным увеличением скорости карбоксилирования и скорости фосфорилирования глицерофосфата (Таб. 3,

строка 2.3). Дополнительные увеличения скоростей других процессов не влияют ни на ассимиляцию, ни на степень восстановления ЭТЦ.

В пункте 3.3.4 были проведены исследования влияния процессов регуляции поглощения света ФС 2 на характеристики работы фотосинтетической системы при переменном освещении, аналогичные описанным в пункте 3.3.2. Результаты расчетов приведены в Таблице 4. Из таблицы видно, что добавление обратной связи позволяет существенно уменьшить количество восстановленных переносчиков при сохранении

Таблица 4. Влияние параметров описывающих регуляцию первичных процессов на характеристики работы фотосинтетической системы при освещении с периодически изменяющейся интенсивностью. Значения изменяемых параметров показаны в таблице, остальные как в подписи к Таблице 3.

Изменяемые параметры и их значения		A	Z ₂	
			средн.	max.
«Основной» режим.	1.1) См. в подписи	10,5	0,689	0,92
Ak1	1.2) 45	8,9	0,027	0,046
Ak1, k, k ₀	1.3) 20/1/1	9,3	0,043	0,084
	1.4) 20/0,1/1	9,3	0,043	0,083
	1.5) 20/1/2	9	0,029	0,049
Ak1, k, k ₀ , P ₁₄	1.6) 20/1/1/1	9,3	0,055	0,111
	1.7) 20/1/2/1	8,9	0,032	0,063
Изменены A=2·10 ⁻² , F=2, P _{F1} =0,015, P ₁₂ =3·10 ⁻⁴ , P ₁₃ =2·10 ⁻⁵				
Ak1	2.1) 0	30,6	0,954	0,993
	2.2) 45	28,2	0,085	0,100
Ak1, k, k ₀	2.3) 20/0,1/1	29	0,125	0,148
	2.4) 20/1/2	28,2	0,085	0,100
Ak1, k, k ₀ , P ₁₄	2.5) 20/1/1/1	29	0,196	0,257
	2.6) 20/1/2/1	28,7	0,113	0,137

средней скорости ассимиляции (Таб. 4, строки 1.2-1.7). Как и в случае обычного колебательного режима, существенное уменьшение количества восстановленных переносчиков достигается при достаточно больших значениях параметра k₀ (Таб. 4, строки 1.3-1.5). Оптимальный режим в данном случае обеспечивается при значениях параметров, указанных в строке (1.5) Таб. 4, т.е.

при достаточно большой скорости процессов фосфорилирования и дефосфорилирования и достаточно большом соотношении скоростей процессов фосфорилирования и дефосфорилирования. При ингибировании тиоредоксином уменьшение количества восстановленных переносчиков было не столь эффективно, как при отсутствии ингибирования (Таб. 4, строки 2.5, 2.6). Это означает, что при переменной интенсивности света ингибирование тиоредоксином ухудшает работу фотосинтетической системы и улучшить ее можно, уменьшив влияние тиоредоксина.

На основе результатов, полученных в данной работе были сделаны следующие

ВЫВОДЫ:

1. Анализ параметров, определяющих возможность существования колебательных решений (сильно-влияющих на колебания), подтвердил существующую гипотезу о возникновении колебаний: недостаточное количество АТФ для нормального функционирования цикла Кальвина приводит к увеличению потока через циклический электронный транспорт и ускорению синтеза АТФ, что приводит к уменьшению потока через ЦЭТ и повторению цикла.
2. Основными механизмами, регулирующими работу системы при изменяющейся интенсивности света, являются циклический электронный транспорт вокруг ФС 1 и регуляция первичных процессов редокс-состоянием переносчиков ЭТЦ. Обратная регуляция первичных процессов необходима как для защиты от фотоповреждения, так и для нормального функционирования системы при ярком освещении.
3. Оптимизация работы фотосинтетической системы может быть достигнута изменением параметров, отнесенных к группе сильно-влияющих на колебания: интенсивность света, константа сопряжения электронного транспорта и синтеза АТФ, потребление АТФ в цикле Кальвина. Это означает, что именно от этих параметров зависит как работа системы в стационарных условиях, так и

кинетика при переходе к новому состоянию при изменении внешних условий. Колебательный режим является проявлением этой регуляции.

4. При освещении с гармонически модулированной интенсивностью обратная регуляция первичных процессов обеспечивает сильное уменьшение количества восстановленных акцепторов практически не приводя к уменьшению скорости ассимиляции CO_2 , однако ингибирование реакции фосфорилирования ССК тиоредоксином уменьшает эффективность этой регуляции.

Литература

1. Nedbal, L., Brezina, V., Adamec F., Stys, D., Oja, V., Laisk, A., Govindjee, Negative feedback regulation is responsible for the non-linear modulation of photosynthetic activity in plants and cyanobacteria exposed to a dynamic light environment. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, v. 1607, p. 5 – 17.
2. Zhu X.G., de Sturler, E., Long, S.P., Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: a numerical simulation using an evolutionary algorithm. *Plant Physiol.*, 2007, v. 145, p. 513-526.

Основное содержание диссертационной работы отражено в следующих публикациях:

1. Карелина Т. А., Белов А.А., Кукушкин А.К., Математическая модель и анализ причин колебаний замедленной люминесценции высших растений. *Вестник Московского Университета, сер. Физика. Астрономия*, 2005, вып. 5, 31-34.
2. Карелина Т. А., Белов А.А., Кукушкин А.К., Математическое моделирование колебаний замедленной люминесценции высших растений и анализ скоростей реакций, рассчитанных с помощью модели. *Биофизика*, 2005, т.50, № 6, с. 1105-1111.

3. Нгуен Т. Т. Ф., Карелина Т. А., Кукушкин А. К., Изучение регуляции фотосинтеза с помощью анализа влияния кинетических параметров его математической модели на характеристики колебательного режима и скорость фиксации CO_2 . Биофизика, 2007, т. 52, № 5, с. 861-868.
4. Карелина Т. А., Моделирование колебательного режима замедленной люминесценции высших растений. Тезисы докладов международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2004», секция физика, Москва, с. 91-93.
5. Карелина Т. А., Анализ скоростей реакций в модели колебательного режима замедленной люминесценции высших растений. Тезисы докладов международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2005», секция физика, Москва, с. 58-59.
6. Карелина Т. А., Математическое моделирование различных периодических режимов в фотосинтетической системе листьев высших растений. Тезисы докладов всероссийской конференции «Преобразование энергии света при фотосинтезе», 2005 г., г. Пущино, с.22-23.
7. Карелина Т. А., Математическое моделирование ответа фотосинтетической системы на периодическое внешнее воздействие. Тезисы докладов молодежной конференции «Биохимическая физика», Москва, ИБХФ РАН, 2005 г., с. 99-100.
8. Karelina T., Modelling of the nonlinear answer of the photosynthetic system to harmonically modulated irradiance. Abstracts of the International conference "Photosynthesis in the post-genomic era", 2006, Puschino, p. 276.
9. Нгуен Т. Т. Ф., Карелина Т. А. Влияние параметров математической модели фотосинтеза на характеристики колебаний и скорость фиксации CO_2 . Тезисы докладов международной конференции студентов,

аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2007», секция физика, Москва, с. 32-33.

10. Карелина Т. А. Изучение параметров, влияющих на среднюю скорость поглощения CO_2 при фотосинтезе при различных режимах освещения, с помощью математической модели. Тезисы докладов молодежной конференции «Биохимическая физика», Москва, 2007 г. ИБХФ РАН, с. 141-147.