

© Е. М. Чекунова

Санкт-Петербургский
государственный университет

✿ **Хлорофиллы (ХЛ)** — уникальные тетрапирролы, играющие ключевую роль не только в жизни фотосинтезирующих организмов, но и всей биосферы. Их биосинтез связан с морфогенезом растительной клетки и реакциями фотосинтеза — запасанием и передачей энергии света. Для изучения путей биосинтеза и деградации ХЛ широко используются пигментные мутанты растений и фотосинтезирующих микроорганизмов. Применение методов генетики и геномики позволило не только идентифицировать гены, контролирующие ферменты метаболизма ХЛ, но и изучать механизмы их регуляции. В обзоре представлены история и современное состояние исследований генетической детерминации и эволюции процессов хлорофиллообразования.

✿ **Ключевые слова:** хлорофиллы; генетический контроль; метаболизм тетрапирролов.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ МЕТАБОЛИЗМА ХЛОРОФИЛЛОВ

Список нестандартных сокращений:

БХЛ — бактериохлорофиллы;
МХ — магний-протопорфирин IX-хелатаза;
Mg-ПП — магний-протопорфирин IX;
Mg-ППМЭ — монометилловый эфир магний-протопорфирина IX;
ОРС — открытая рамка считывания;
ПБК — пигмент-белковые комплексы;
ПБК2 — ПБК фотосистемы II;
ПП — протопорфирин IX;
Пд — протохлорофиллид;
сПОР — светозависимая Пд-оксидоредуктаза;
тПОР — светонезависимая Пд-оксидоредуктаза;
ФГК — фотосинтетический генный кластер;
ХД — хлорофиллид;
ХЛ — хлорофиллы.

ХЛОРОФИЛЛЫ

В основе строения основных пигментов фотосинтеза — хлорофиллов (ХЛ) две составляющие: Mg-порфириновый скелет с различными заместителями и «хвост» — diterпеновый спирт фитол, придающий молекуле способность встраиваться в липидный слой биологических мембран (рис. 1). Из фотосинтезирующих организмов выделено более 50 форм ХЛ. Небольшие различия в химическом строении приводят к существенным изменениям в спектральных свойствах этих пигментов, позволяя расширить диапазон светового излучения, используемого при фотосинтезе (табл. 1). ХЛ_a и ХЛ_b — это пигменты растений и зеленых водорослей. У бурых и диатомовых водорослей, а также динофлагеллят, вместо ХЛ_b функционирует ХЛ_c, а у багрянков и некоторых цианобактерий — ХЛ_d. ХЛ_f, недавно обнаруженный в строматолитах (ископаемых остатках цианобактерий), способен поглощать инфракрасное излучение до 720 нм (Chen et al., 2010).

Эубактерии, осуществляющие бескислородный фотосинтез (пурпурные и зеленые бактерии, гелиобактерии), содержат особые формы ХЛ — бактериохлорофиллы (БХЛ). Идентифицировано 6 основных видов БХЛ: *a*, *b*, *c*, *d*, *e* и *g*. Наличие БХЛ_a позволяет бактериям поглощать свет с длиной волны до 890 нм, а БХЛ_b сдвигает максимум поглощения в длинноволновую область инфракрасного излучения (табл. 1). Основные пигменты зеленых бактерий — это БХЛ *c*, *d* или *e*. БХЛ_g с максимумом поглощения 790 нм обнаружен у гелиобактерий (Brockmann, 1983).

Ежегодно на Земле синтезируется (и подвергается деградации) около 10⁹ тонн ХЛ, большая часть из которых формируется в океане. Растительный и бактериальный фотосинтез, в котором ХЛ участвуют в качестве светосборщиков и фотохимически-активных молекул, служит основным поставщиком органического материала для гетеротрофов, включая животных и человека. ХЛ функционируют в составе пигмент-белковых комплексов (ПБК) фотосинтетических мембран хлоропластов или хроматофоров.

Поступила в редакцию 28.02.2013
Принята к публикации 20.06.2013

Таблица 1

Светопоглощение. Характеристики хлорофиллов и бактериохлорофиллов

Пигмент		*Химическая природа радикала R4	Природный источник	Максимум поглощения в клетке (нм)
Хлорофилл	a	Фитол	Все аэробные организмы	680–685
	b	Фитол	Зеленые водоросли и растения	650–660
	c1-c3	Фитол	Бурые, диатомовые водоросли, динофлаггеляты	ок. 640
	d	Фитол	Багрянки, цианобактерии	710
	f	Фитол	Цианобактерии	706–720
Бактериохлорофилл	a	Фитол или ГГ	Пурпурные бактерии	830–890
	b	Фитол или ГГ	Пурпурные бактерии	1020–1030
	c	Фитол, фарнезол и др.	Зеленые и бурые бактерии	750–760
	d	Фарнезол	Зеленые и бурые бактерии	720–740
	e	—	Зеленые и бурые бактерии	710–720
	g	—	Гелиобактерии	770–790

*Фитол — C₂₀H₃₉OH; фарнезол — C₁₅H₂₅OH; ГГ (геранил-гераниол) — C₂₀H₃₃OH

ИСТОРИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ. ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ

Начало генетике пигментов растений было положено опытами Грегора Менделя по изучению наследования окраски семян и проростков гороха (Mendel, 1885). Этот «менделевский» ген удалось найти более 140 лет спустя — им оказался ген *SGR* (*stay green*), кодирующий один из белков системы деградации ХЛ (Armstead et al., 2007).

В середине 20 века Самуэль Граник впервые показал, что гем и ХЛ имеют общий путь биосинтеза (Granick, 1950). Полученные им бесхлорофильные мутанты хлореллы накапливали протопорфирин IX (ПП) — биосинтетический предшественник гема.

Спустя 18 лет, в лаборатории А. Сесермана (Säsrman et al., 1968) установили, что мутации, вызывающие дыхательную недостаточность у *E. coli*, нарушают гены ферментов биосинтеза гема, начиная от универсального предшественника всех тетрапирролов — 5-аминолеву-

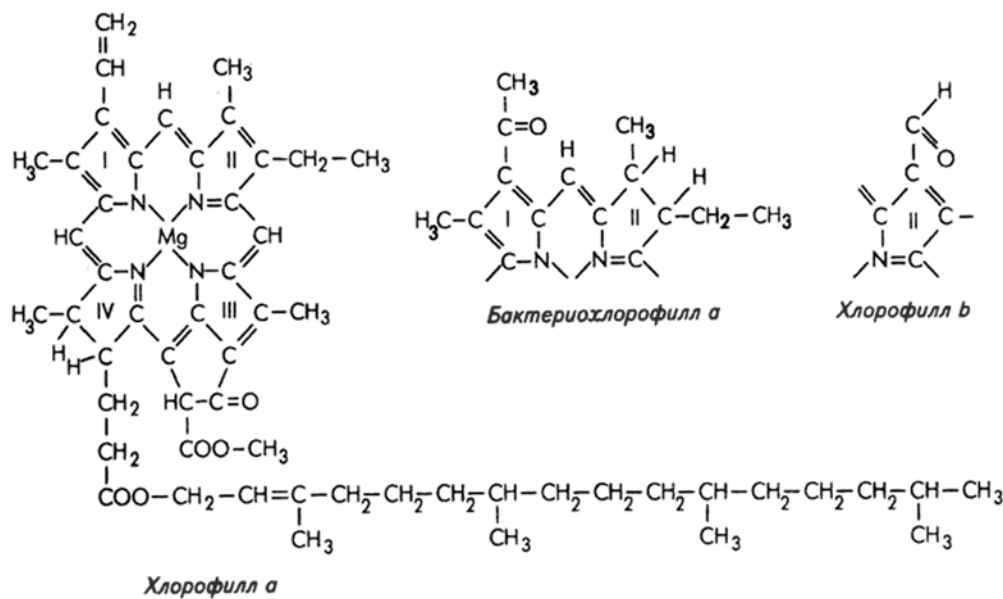


Рис. 1. Структурные формулы хлорофиллов

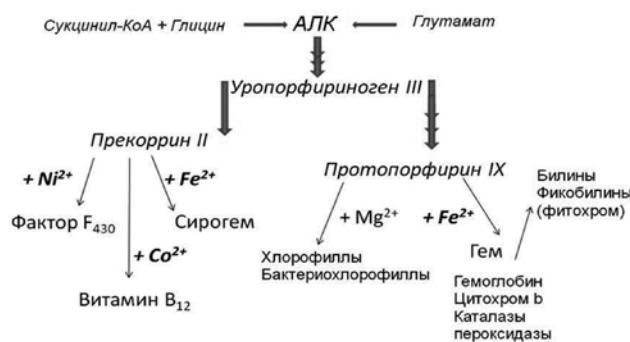


Рис. 2. Схема биосинтеза природных тетрапирролов

линовой кислоты (АЛК) до ПП — последнего общего предшественника ХЛ и гема (рис. 2). Мутантные штаммы *E. coli* с дефектами отдельных шагов биосинтеза тетрапирролов в дальнейшем использовали для поиска гомологичных генов у других видов.

Важным событием в генетике фотосинтеза стало обнаружение в геноме пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter (R.) capsulatus* фотосинтетического генного кластера (ФГК) — участка хромосомы размером около 45 тпн, содержащего близко-сцепленные гены структурных белков аппарата фотосинтеза и всех ферментов биосинтеза каротиноидов и БХЛ_a (Zsebo and Hearst, 1984). Секвенирование ФГК и эксперименты по направленной инактивации открытых рамок считывания (ОРС) с последующей проверкой мутантного фенотипа позволили впервые получить нуклеотидные последовательности генов, контролирующих реакции биосинтеза ХЛ. Позднее, их ортологи были найдены в геномах растений и водорослей.

Для клонирования генов, кодирующих все ферменты биосинтеза ХЛ у высших растений (табл. 2), потребовалось около 20 лет. В 1989 году была опубликована первая нуклеотидная последовательность гена *POR* ячменя (Schulz et al., 1989), а через 17 лет удалось прочитать последний в этом ряду ген арабидопсиса *DVR*, который кодирует фермент, превращающий дивинильные формы ХЛ_a в моновинильные (Nagata et al., 2005).

Несмотря на хорошую изученность ферментативного аппарата (Миронов, 1998; Шестаков, 1998; Tanaka, 2007), ряд вопросов в генетике биосинтеза ХЛ остаются открытыми до сих пор. Некоторые этапы биосинтеза у водорослей и растений требуют наличия кислорода (табл. 2). Вместе с тем, многие бактерии синтезируют БХЛ в отсутствие O_2 . Такие анаэробные ферменты и кодирующие их гены найдены далеко не во всех известных случаях. Мало исследованы и механизмы формирования ХЛ в темноте. У покрытосеменных растений это светозависимый процесс (Беляева, Литвин, 2007), поскольку превращение протохлорофиллида (Пд) в хлорофиллид (ХД) осуществляет хорошо изученный фотоэнзим НАДФ: протохлорофиллидоксидоредуктаза (сПОР). Способность большинства фотосинтетиков (в том числе голосеменных, мхов, водорослей и фото-

трофных бактерий) зеленеть и в темноте обеспечивает альтернативный светонезависимый ферментный комплекс тПОР, кодируемый у эукариот хлоропластными генами. При этом у зеленой водоросли хламидомонады известны мутации (*yellow1-10* и *lts3*) ядерных генов, нарушающие светонезависимый биосинтез ХЛ (Timko, 1998; Шалыго и др., 1990). Идентификация этих генов позволит обнаружить еще неизвестные факторы, участвующие в темновых процессах формирования ХЛ. В настоящее время активно ведется и поиск генетических детерминантов, контролирующих регуляцию метаболизма пигментов и связанных с ним процессов биогенеза хлоропластов (Masuda and Fujita, 2008). Значительный вклад в решение этой проблемы внесли исследования мутантов с нарушенной регуляцией синтеза ХЛ таких модельных объектов генетики фотосинтеза, как арабидопсис (*Arabidopsis thalianum*), зеленая водоросль хламидомонада *Chlamydomonas (C.) reinhardtii* и бактерии *R. capsulatus* и *Synechocystis sp. PCC*. С накоплением экспериментальных данных становится все более очевидным, что ферменты и интермедиаты биосинтеза ХЛ являются участниками регуляторных процессов, обеспечивающих системный контроль, — сложный аппарат факторов и сигналов, необходимых для оптимальной работы генетических механизмов растительной клетки в меняющихся условиях ее существования.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ФЕРМЕНТОВ БИОСИНТЕЗА ХЛОРОФИЛЛОВ

Генетические исследования позволили не только найти гены ферментов метаболизма природных тетрапирролов: ХЛ и гема, но и охарактеризовать их структуру и свойства. У фотосинтезирующих эукариот формирование ХЛ и каротиноидов проходит в хлоропласте. Подавляющее большинство ферментов их биосинтеза кодируются ядерными генами и синтезируются в цитоплазме как предшественники, имеющие N-концевые хлоропластные транзитные пептиды, которые обеспечивают их транспорт через мембраны пластид. В пути биосинтеза молекул ХЛ можно выделить 3 основных этапа:

1. синтез 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) — первого предшественника всех тетрапирролов;
2. превращение АЛК в протопорфирин IX (ПП) — последний общий предшественник гема и хлорофиллов;
3. специфические реакции синтеза ХЛ.

Последовательно рассмотрим каждый из них.

1. Синтез АЛК

Известны два способа образования АЛК, которые носят названия C_4 и C_5 пути. Все эукариоты, не имеющие хлоропластов, и α -протеобактерии (включая фототрофные бактерии рода *Rhodobacter*) используют C_4 — путь Шемина, который состоит в конденсации глицина и сукцинил-КоА ферментом АЛК-синтетазой

Таблица 2

Генетический контроль ферментов биосинтеза хлорофиллов

№	Фермент	Гены			Обозначение фермента
		<i>A. thaliana</i>	Бактерии	<i>Chlamy</i>	
1	Глутамил-тРНК-синтетаза	<i>GTS</i>	<i>gltX</i>	<i>GTS</i>	GluRS, EC 6.1.1.17
2	Глутамил-тРНК-редуктаза	<i>HEMA1</i> <i>HEMA2</i> <i>HEMA3</i>	<i>HemA</i>	<i>GTR</i>	GluTR, EC 1.2.1.70
3	Глутамат-1-полуальдегидамино-трансфераза	<i>GSA1</i> <i>GSA2</i>	<i>HemL</i>	<i>GSA</i>	GSA-AT, EC 5.4.3.8
4	АЛК-дегидратаза (порфобилиногенсинтетаза)	<i>ALAD1</i> <i>ALAD2</i>	<i>HemB</i>	<i>ALAD</i>	PBGS, EC 4.2.1.24
5	Порфобилиногендеаминаза	<i>PBGD</i>	<i>HemC</i>	<i>PBGD</i>	PBGD, EC 4.1.3.8
6	Уропорфириноген III-синтетаза	<i>UROS</i>	<i>HemD</i>	<i>UROS</i>	UROS, EC 4.2.1.75
7	Уропорфириноген III-декарбоксилаза	<i>UROD1</i> <i>UROD2</i>	<i>HemE</i>	<i>UROD1</i> <i>UROD2</i> <i>UROD3</i>	UROD, EC 4.1.1.37
8*	Копропорфириноген III-оксидаза	<i>CPO1</i> <i>CPO2</i>	<i>HemF</i> <i>HemN</i>	<i>CPX1</i>	CPOX, EC 1.3.3.3
9*	Протопорфириноген IX-оксидаза	<i>PPO1</i> <i>PPO2</i>	<i>HemG</i> <i>HemY</i>	<i>PPX</i> (<i>PPO</i>)	PPOX, EC 1.3.3.4
10	Mg-ПП-хелатаза субъединица H	<i>CHLH</i>	<i>BchH</i>	<i>CHLH</i>	MX, EC 6.6.1.1
	Mg-ПП-хелатаза субъединица D	<i>CHLD</i>	<i>BchD</i>	<i>CHLD</i>	
	Mg-ПП-хелатаза субъединица I	<i>CHLI1</i> <i>CHLI2</i>	<i>BchI</i>	<i>CHLI1</i> <i>CHLI2</i> <i>CHLI3</i>	
11	S-аденозил-L-метионин: Mg-ПП-метилтрансфераза	<i>CHLM</i>	<i>BchM</i>	<i>CHLM</i>	Mg-PPMT, EC 2.1.1.11
12*	Циклаза Mg-ПП-монометилового эфира	<i>CRD1</i> (<i>CHL27</i>)	<i>AcsF</i> <i>BchE</i>	<i>CTH1</i> <i>CRD1</i>	Mg-PPME, EC 1.14.13.81
13	3,8-дивинилпротохлорофиллид-8-винилредуктаза	<i>DVR</i>	<i>BchJ</i>	<i>DVR</i>	DVR, EC 1.3.1.75
14	Светозависимая НАДФ:протохлорофиллидокси- доредуктаза (сПОР)	<i>PORA</i> <i>PORB</i> <i>PORC</i>	<i>BchY</i> <i>BchZ</i>	<i>LPOR</i>	LPOR, EC 1.3.1.33.
15	Темновая протохлорофиллид- оксидоредуктаза (тПОР)		<i>BchL</i> <i>BchB</i> <i>BchN</i>	<i>ChlL</i> , <i>ChlB</i> <i>ChlN</i>	DPOR
16	Бактериохлорофилл/хлорофилл а-синтетаза	<i>CHLG</i>	<i>BchG</i>	<i>CHLG</i>	CHLS, EC 2.5.1.62
17	Хлорофиллид/хлорофилл а-оксигеназа	<i>CAO</i>		<i>CAO</i>	CAO, EC 1.13.12.14

* Ферментативные реакции, проходящие в **аэробных** и анаэробных условиях. *Chlamy* — зеленая водоросль *C. reinhardtii*

(Astner et. al., 2005). В клетках нефотосинтезирующих эукариот АЛК образуется в митохондриях и служит для биосинтеза гема и цитохромов. Формирование АЛК у ХЛ-содержащих организмов (за исключением α -протеобактерий) идет по C_5 -пути из 5-углеродного предшественника — глутаминовой кислоты. Он включает три энзиматические реакции, в которых участвуют 4 функционально-активные молекулы, локализованные в строме пластид: 3 фермента и глутаминовая транспортная РНК (тРНК^{Glu}). Оба пути (C_4 и C_5) фун-

кционируют у зеленых водорослей: *Scenedesmus obliquus* и *Euglena gracilis* (Foley et al., 1982).

На первом этапе C_5 -биосинтеза фермент глутамил-тРНК-синтетаза (*glutamyl-tRNA synthase*, *GluRS*) присоединяет тРНК^{Glu} к глутамату. Затем следует превращение глутамил-тРНК^{Glu} в глутамат-1-полуальдегид с освобождением тРНК^{Glu} ферментом глутамил-тРНК-редуктазой (*glutamyl-tRNA^{Glu} reductase*, *GluTR*) в присутствии NADPH и Mg^{2+} . Далее, глутамат-1-полуальдеги-

даминотрансфераза (*glutamate-1-semialdehyde aminotransferase*, GSA-AT) с кофактором пиридоксальфосфатом осуществляют транс-аминирование глутамат-1-полуальдегида за счет переноса C4 аминогруппы в положение C5 с образованием АЛК. Ферменты C5-пути оказались настолько сходными для всех, изученных к настоящему времени видов растений, водорослей и бактерий, что реакционные компоненты из разных биологических источников, объединенные *in vitro*, способны синтезировать АЛК.

Активируя глутамат, тРНК^{Gly} запускает биосинтез тетрапирролов (Huang et al., 1984). Её критическая роль в формировании ХЛ была показана при изучении бесхлорофильного оранжевого мутанта эвглены, у которого причиной отсутствия пигмента оказалась точечная мутация — замена (C-56-U) в Т-петле тРНК^{GLU} (Stange-Thomann et al., 1994). Гены тРНК^{Gly} у всех фотосинтезирующих эукариот консервативны и локализованы в хлоропластной ДНК (хлДНК). Поиски тРНК, специфичных для синтеза тетрапирролов, к настоящему времени не увенчались успехом, и представление о том, что одни и те же молекулы участвуют в образовании ХЛ и синтезе белков, остается актуальным. Исключением из этого правила стала бактерия *Acidithiobacillus ferrooxidans*, у которой один из трех генов тРНК^{Gly} кодирует молекулу, не имеющую сродства к ферменту GluTR (Levicán et al., 2005). В хлоропласте тРНК^{Gly} узнается тремя белками: GluRS, GluTR и фактором элонгации EF-Tu, и, по-видимому, служит предметом конкуритования синтезов белков и тетрапирролов, координируя тем самым оба этих процесса при формировании ПБК фотосинтетических мембран. Установлено ее участие в регуляции транскрипции генов хлоропласта (Hanaoka et al., 2005), которую ведут две РНК-полимеразы: NEP (*nuclear encoding RNA polymerase*) и PEP (*plastid encoding RNA polymerase*), кодируемые, соответственно, геномами ядра и хлоропласта. В процессе индуцируемого светом синтеза хлоропластных мембран тРНК^{Gly} связывается с NEP, ингибируя ее активность, и тем самым осуществляет переключение на PEP, которая преимущественно транскрибирует гены, контролирурующие фотосинтез.

GluRS как и остальные аминоксил-тРНК-синтетазы, участвует в синтезе белков. Первый специфичный для синтеза тетрапирролов фермент — это GluTR. История клонирования кодирующих его генов началась с экспериментов по трансформации мутанта *E. coli hemA*, аутокотрофного по АЛК, геномной библиотекой *E. coli*. В результате были получены прототрофные трансформанты, у которых фрагмент ДНК, встраивание которого вело к компенсации эффекта мутации *hemA* — восстановлению синтеза АЛК, содержал ген, кодирующий GluTR. Он получил название *HemA* (Li et al., 1989). Этим методом геномной комплементации, — по способности компенсировать мутантный фенотип штамма *E. coli hemA*

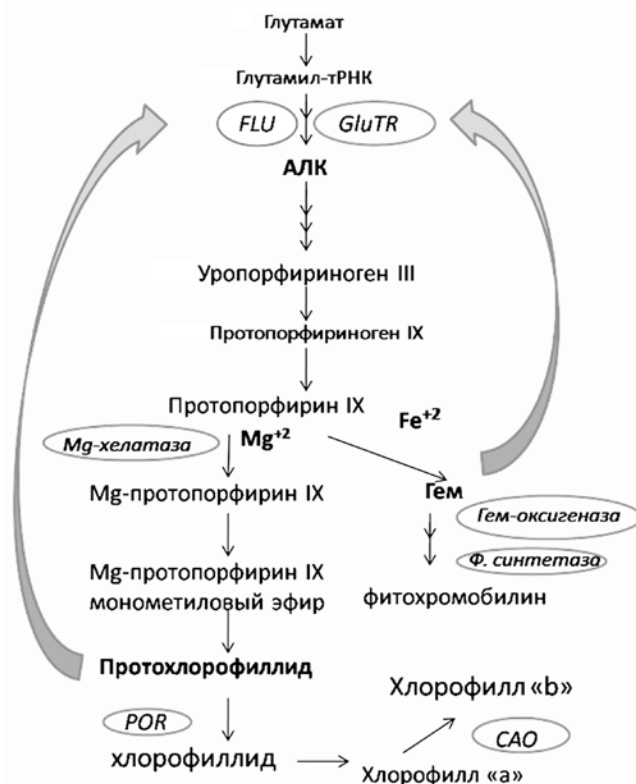


Рис. 3. Механизмы регуляции биосинтеза хлорофиллов. Биосинтез АЛК посттрансляционно регулируется сигналами (стрелки) от двух ветвей тетрапиррольного метаболизма — гемом и Пд. Гем, накапливаясь в избытке, репрессирует активность фермента глутамил-тРНК-редуктазы (GluTR); свободный Пд через белок FLU также репрессирует GluTR. В овалах — ключевые ферменты биосинтеза: GluTR, Пд-оксидоредуктаза (POR), хлорофиллид/хлорофилл а-оксигеназа (CAO)

(Pontoppidan and Kannangara, 1994), гены, гомологичные *HemA*, были найдены у целого ряда растений (арабидопсиса, ячменя, огурцов и др.). GluTR — ключевой фермент в регуляции биосинтеза ХЛ (рис. 3). Его активность ингибируется гемом и Пд через регуляторные белки (Srivastava et al., 2005). Экспрессию генов, кодирующих GluTR, контролируют свет и растительные гормоны (McCormac et al., 2001).

Фермент GSA-AT впервые был выделен из стромы хлоропластов ячменя (Grimm et al., 1989). Вслед за установлением первичной структуры, по последовательности аминокислот этого белка были сконструированы праймеры для ПЦР-амплификации фрагмента кДНК кодирующего его гена, который послужил зондом для скрининга библиотеки кДНК. Итогом работы стало получение полной нуклеотидной последовательности гена GSA, которую далее использовали для поиска ортологичных генов у *E. coli* и цианобактерии *Synechococcus PCC 6311* (Grimm et al., 1991). К аутокотрофности по АЛК у *E. coli* приводят мутации в двух генах: уже упомянутом

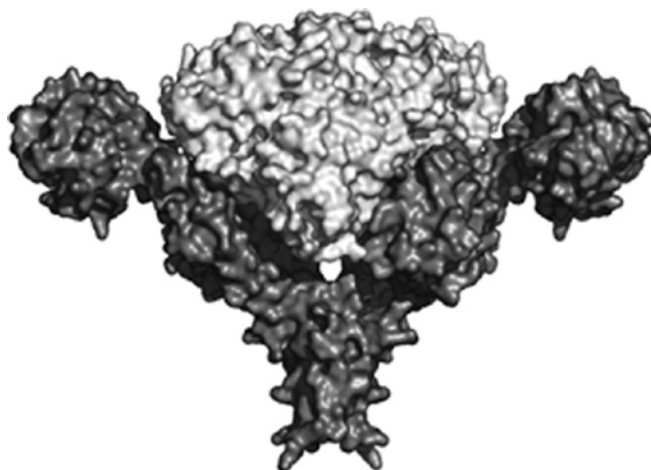


Рис. 4. Комплекс ферментов: глутамил-тРНК-редуктазы GluTR (темно-серый цвет) и глутамат-1-полуальдегид аминотрансферазы — GSA-AT (светло-серый цвет). Модель создана на основе рентгеноструктурного анализа белка GluTR из *M. kandleri* и белка GSA-AM из *Synechococcus* (по: Lüer C. et al., 2005)

HemA, кодирующем GluTR, и *HemL*, первоначально названным *PopC* (Wulff, 1967). Геномная комплементация мутанта *popC* показала, что дефектный у него ген *HemL* кодирует фермент *GSA-AT* (Ilag et al., 1991). В дальнейшем, его ортологи были изолированы у многих объектов (Timko, 1998).

Белок GluTR представляет собой V-образный димер, и его пространственная структура предполагает способность к образованию стабильного комплекса с молекулой GSA-AT (рис. 4). Модель их совместного функционирования подтверждают результаты экспериментов *in vitro* — рекомбинантные белки обоих ферментов *C. reinhardtii* образуют физический и функциональный комплекс (Nogaj, Beale, 2005).

2. Синтез протопорфирина IX из АЛК

При конденсации восьми молекул АЛК образуется первый порфирин порфобилиноген, который затем, в четыре энзиматических шага, превращается в ПП. Все имеющиеся данные указывают на абсолютную универсальность этих биосинтетических реакций как у прокариот и у эукариот. На этом этапе порфирины становятся гидрофобными и фотореактивными, что делает их опасными для растительной клетки. ПП и его производные — сильные фотосенсибилизаторы, — соединения, способные под действием света генерировать активные формы кислорода: синглетный кислород и (или) перекисные радикалы. Они, окисляя липиды, разрушают мембраны хлоропласта (Шалыго, 2004).

2.1. От АЛК к уропорфириногену III

Конденсацию двух молекул АЛК с образованием пиррольного кольца порфобилиногена осуществляет фермент порфобилиногенсинтетаза, называемый АЛК-дегидратазой (*ALA-dehydratase*, *ALAD*).

Реакция проходит в присутствии двухвалентных катионов цинка или магния. У высших растений и водорослей фермент активируется Mg^{2+} , тогда как у животных и цианобактерий — Zn^{2+} . Далее, порфобилиногендеаминаза (*porphobilinogen deaminase*, *PBGD*) ведет полимеризацию 4 молекул порфобилиногена с образованием нестабильного линейного тетрапиррола гидроксиметилбилина, — субстрата уропорфириноген III-синтетазы (*uroporphyrinogen (co)synthase*, *UROS*), формирующей макроцикл уропорфириногена III. Все эти ферменты локализованы в строме хлоропласта и имеют слабое сродство с мембранами.

Первые работы по клонированию генов, кодирующих *ALAD*, *PBGD* и *UROS*, были выполнены на мутантах *E. coli K12*, неспособных синтезировать гем. Их отбирали по признаку дыхательной недостаточности (гем входит в состав цитохромов), с последующей проверкой ауксотрофности по АЛК и промежуточным субстратам биосинтеза гема (Alefounder et al., 1988). Гены *E. coli: hemB*, *hemC*, *HemD*, кодирующие вышеперечисленные ферменты, были найдены в результате экспериментов по трансдукции геномной библиотекой таких мутантов, образующих мелкие колонии, и оценке уровня соответствующей ферментативной активности у трансдуктантов, формирующих колонии нормального размера. Вскоре гены, кодирующие *PBGD*, были клонированы и у ХЛ-содержащих организмов: эвглены (Sharif et al., 1989), шпината и др. (Timko, 1998). Мутации в этом гене у арабидопсиса ведут к нарушениям вегетативного роста и репродуктивных функций растений (Quesada et al., 2013). У *C. reinhardtii* был клонирован только ген *Alad* АЛК-дегидратазы (Matters, Beale, 1995). Кодирующие *UROS* гены клонированы у цианобактерии *Anacystis nidulans* (Jones et al., 1994) и ряда нефотосинтезирующих организмов. В ядерных геномах *C. reinhardtii* и арабидопсиса обнаружены их ортологи.

2.2. Путь от уропорфириногена III (УРО III) к протопорфиру IX (ПП)

Превращения УРО III происходят или за счет его последовательного метилирования либо декарбоксилирования. В ходе метилирования синтезируются фактор F430 и корриноиды (производные витамина B_{12}). Второй путь ведет к образованию гема и ХЛ (рис. 2).

Молекулы ПП образуются из УРО III в результате трех ферментативных реакций. Фермент уропорфириноген III-декарбоксилаза (*uroporphyrinogen III decarboxylase*, *UROD*) конвертирует УРО III в копропорфириноген III. Затем копропорфириноген III-оксидаза (*coproporphyrinogen III oxidase*, *CPOX*) последовательно декарбоксилирует два остатка пропионовой кислоты боковых цепей колец I и II (при C_3 , а затем при C_8) до винильных групп с образованием бесцветного протопорфириногена IX.

Третий фермент — протопорфириноген IX-оксидаза (*protoporphyrinogen IX oxidase*, PPOX) окисляет его до красного пигмента ПП. При наличии молекулярного кислорода это окисление может происходить химически.

UROD из клеток млекопитающих — предмет активного изучения медицинской генетики. Нарушения его функциональной активности в результате мутаций в гене *UROD*, ведут к развитию тяжелых заболеваний — порфирий, наследуемых по аутосомно-доминантному типу (Brancaloni et al., 2007). Наряду с бесхлорофильными организмами, у которых фермент кодирует ген *hemE*, ортологичные ему гены были клонированы и секвенированы у *Synechococcus PCC7942* (Kiel et al., 1992), табака и ячменя (Mock et al., 1995).

Фермент CPOX у большинства фотосинтетиков активен только в присутствии кислорода. Способность некоторых анаэробных бактерий синтезировать гем и ХЛ, указывала на существование иных механизмов образования протопорфириногена IX. Изучение механизма окислительного декарбоксилирования у *E. coli* и *S. typhimurium* показало, что за аэробную и анаэробную реакции отвечают разные ферменты, кодируемые негомологичными генами *hemF* и *hemN* соответственно (Xu, Elliott, 1993; 1994). В геноме арабидопсиса есть последовательность, гомологичная бактериальному гену *hemN* анаэробного фермента, но не получено доказательств ее функциональной активности. У *C. reinhardtii* найден только ген аэробного фермента *CpxI*, гомологичный *hemF* (Hill and Merchant, 1995). Гены, кодирующие UROD и CPOX, клонированы и секвенированы у ряда растений, начиная с сои (Madsen et al., 1993) и табака (Kruse et al., 1995).

Два изоэнзима PPOX (хлоропластный и митохондриальный) первоначально были обнаружены в листьях ячменя (Jacobs, 1987), а гены, кодирующие этот фермент, впервые были клонированы у бактерий: *E. coli* (Sasarmann et al., 1993) и *Bacillus (B.) subtilis* (Hansson, Hederstedt, 1994). Они получили названия *hemG* и *hemY*, соответственно. Это разные гены, контролирующие две ферментные системы. Впервые у растений нуклеотидная последовательность гена *PPOX* протопорфириноген IX-оксидазы была прочитана после секвенирования клона из к ДНК-библиотеки арабидопсиса, который компенсировал эффект мутации ауксотрофности *hemG* по гему у *E. coli* (Narita et al., 1996). Тем же методом геномной комплементации были найдены 2 гена *PPOX1* и *PPOX2* табака *Nicotiana tabacum*, кодирующие ферменты хлоропласта и митохондрий, соответственно (Lermontova et al., 1997). Для поиска этого гена у *C. reinhardtii* была использована иная стратегия, — когда мутанты по интересующему гену получают как штаммы, устойчивые к ингибиторам кодируемого им фермента. PPOX является мишенью для габакулина и ацифлюорфена — фототоксичных гербицидов из груп-

пы дифениловых эфиров. При обработке гербицидами в растительной клетке накапливается его субстрат — протопорфириноген IX, который, окисляясь химически, превращается в фотосенсибилизатор ПП. Был получен устойчивый к ацифлюорфену мутант Rs3, у которого доминантная мутация в ядерном гене нарушала взаимодействие фермента с гербицидом. Фрагмент геномной ДНК размером 10 тпн, содержащий ген устойчивости *Rs3*, был клонирован и секвенирован. *Rs3* оказался геном *PPX*, кодирующим PPOX *C. reinhardtii*, точковая мутация G → A в котором определяет устойчивость к ацифлюорфену в результате замены V-389-M в аминокислотной последовательности белка (Randolph-Anderson et al., 1998).

ПП — последний общий предшественник в биосинтезе гема и ХЛ становится субстратом для двух хелатаз, встраивающих в его молекулу катионы железа (Fe^{2+}) или магния (Mg^{2+}). Несмотря на сходные функции и один и тот же субстрат, Mg-ПП-хелатаза (MX) и Fe-хелатаза — разные по структуре и свойствам ферменты. В условиях *in vitro* включение Fe^{2+} происходит самопроизвольно и не требует энергии АТФ. Fe-хелатаза представляет собой полипептид длиной от 308 (у *B. subtilis*) до 466 (у арабидопсиса) аминокислотных остатков, кодируемый геном *HemH*. У фотосинтетиков фермент локализован в пластидах и в митохондриях, но основной синтез гема происходит в пластидах (Masuda et al., 2003). Напротив, встраивание Mg^{2+} в порфириновое ядро является сложной АТФ-зависимой реакцией и осуществляется только в хлоропласте (Walker, Willows, 1997).

3. Специфические реакции образования хлорофиллов

3.1. Ранние этапы биосинтеза ХЛ

К ним относят реакции, ведущие к формированию протохлорофиллида (Пд) из ПП. Они не требуют света и проходят одинаково у всех фотосинтезирующих организмов как про- так, и эукариот.

Первый специфический фермент биосинтеза ХЛ — Mg-ПП-хелатаза (MX) встраивает магний в молекулы ПП. Это гетеромультимерный комплекс, состоящий из трех субъединиц: I, D и H, кодируемых генами: *CHLI*, *CHLD* и *CHLH* соответственно. Энзиматическая реакция начинается с формирования Mg^{2+} - и АТФ-зависимого комплекса субъединиц I и D, который затем взаимодействует с субъединицей H, связывающей ПП. Продукт реакции — Mg-ПП. Метилирование остатка пропионовой кислоты в положении 6 макроцикла Mg-ПП, ведет к образованию его монометилового эфира. Реакцию осуществляет фермент S-аденозил-L-метионин: Mg-протопорфирин IX-метилтрансфераза (*Mg-protoporphyrin IX methyltransferase*, Mg-PPMT), используя S-аденозил-L-метионин, как донор метильных групп. Циклизация монометилового эфира Mg-ПП (Mg-ППМЭ)

с образованием дивинилпротохлорофиллида — трехступенчатая реакция, которую катализирует окислительная циклаза Mg-протопорфирин IX-мометильного эфира (Mg-protoporphyrin IX monomethyl ester cyclase, Mg-PPME).

Белки CHLI и CHLD имеют в своем составе N-концевые Mg-АТФ-связывающие модули AAA+ (*ATPases Associated with diverse cellular Activities*), при объединении формирующие три димерных структуры, конформация которых зависит от присутствия АТФ или АДФ. Молекула D-белка содержит пролин-богатый участок и C-концевой домен интегрин I, через который происходит объединение субъединиц I и D с образованием комплекса АТФ-I-D (Lundqvist, 2010). Субъединица H образует комплекс с субстратом, связывая ПП своими N и C-концевыми участками. В отсутствие ПП белок подвергается деградации (Sirijovski et al., 2008). Работа фермента зависит не только от наличия АТФ, но и от целостности мембран хлоропластов — функциональный комплекс MX ассоциирован с мембранами через регуляторный белок GUN4 (Adhikari, 2011). Этот фермент сходен с белками, вовлеченными в биосинтез двух других классов металлопорфиринов: корриноидов и фактора F₄₃₀. Все три субъединицы MX ортологичны белкам Нихелатазы (Beale, 1999).

Помимо выполнения ферментативных функций MX участвует в распределении молекул ПП по двум биосинтетическим «ветвям». При снижении ее активности, незадействованный ферментом ПП становится субстратом для биосинтеза гема, который, накапливаясь в избытке, репрессирует активность GluTR — первого фермента пути биосинтеза ХЛ. Так на метаболическом уровне происходит регулирование уровня синтеза молекул ХЛ (рис. 3).

Первые данные о генах, кодирующих MX, появились в связи с обнаружением ФГК в геномах бактерий *R. capsulatus* и *R. sphaeroides*. Он включает около 30 ОРС, которые были клонированы в составе плазмид и использованы для сайт-специфического мутагенеза. Блокирование трех ОРС приводило к появлению мутантов, накапливающих ПП (Bollivar et al., 1994). Эти три гена получили названия *bchD*, *bchH* и *bchI*, а кодируемые ими белки — BchD, BchH и BchI оказались субъединицами MX, поскольку в экспериментах *in vitro* демонстрировали ферментативную активность в присутствии АТФ и катионов магния (Gibson et al., 1995). Гены, кодирующие MX высших растений, были найдены при изучении бесхлорофильных инсерционных мутантов. У Т-ДНК-мутанта Ch42 (cs) арабидопсиса, инактивированным оказался ортолог гена *bchI* малой (I) субъединицы *Rhodobacter* (Koncz et al., 1990), а у мутанта *Antirrhinum majus* (львиный зев), полученного в результате Tam3-транспозонного мутагенеза, блокированный ген *olive* кодировал белок CHLH большой субъединицы MX (Hudson et al., 1993). Генетические

исследования бесхлорофильных оранжевых мутантов зеленой водоросли *C. reinhardtii* позволили идентифицировать 2 гена, блокирование которых ведет к накоплению ПП в темноте, — *CHLH* и *LTS3* (Чекунова и Квитко, 1986; Wang et al., 1974). Мутации в гене *CHLH* вызывали гибель клеток при освещении, а *lts3*-мутанты сохраняли способность зеленеть на свету. Клонирование гена *CHLH* показало, что он кодирует большую субъединицу MX, а мутации *chl1* и *brs-1* являются вставками (+1) в экзонах 9 и 10 этого гена (Chekunova et al., 2001). Фактор, кодируемый геном *LTS3*, оказался регулятором транскрипции генов, кодирующих белки MX, — в темноте он активирует их экспрессию (Чекунова, Савельева, 2010). Если гены *CHLH* и *CHLD* у арабидопсиса и *C. reinhardtii* однокопийны, то малую субъединицу CHLI у них, соответственно, кодируют два и три гена: *CHLI* (1–2) и *CHLI* (1–3), по-видимому, появившиеся в результате дупликации (Archeliov et al., 2007). Субъединица CHLH, а также субстрат и продукт ее функционирования — ПП и Mg-ПП, задействованы в пути передачи сигналов из хлоропласта в ядро за счет взаимодействия со связывающим ПП белком GUN4 (Sobotka et al., 2008). Неспособность к образованию таких комплексов у большинства известных мутантов по гену *CHLH* арабидопсиса: *cch* (P-642-L), *gun5* (A-990-L) и *brs-1* хламидомонады ведет к блокированию этого сигнального пути (Masuda, Fujita, 2008). Фитогормон абсцизовая кислота (АБК) подавляет метаболизм фотосинтезирующей клетки, обеспечивая адаптацию растений к неблагоприятным условиям среды. Поиски рецепторов АБК у арабидопсиса привели к выделению белка, названного ABAR (*abscisic acid receptor*), который оказался молекулой CHLH (Shen et al., 2006). Эффекта связывания АБК с H-субъединицей MX ячменя не было установлено (Müller, Hansson, 2009), и участие этого белка в гормональной регуляции еще предстоит выяснить. Малая субъединица MX — CHLI оказалась способной связываться с тиоредоксинами, участвующими в редокс-регуляции белков хлоропласта (Ikegami et al., 2007). Недавно появились данные о взаимодействии CHLH и сигма фактора SigE, связывание которых у *Synechocystis* ингибирует транскрипцию SigE-зависимых генов (Osanaï et al., 2009). По-видимому, CHLH — ключевой компонент в пути биосинтеза ХЛ. Помимо выполнения ферментативных функций, он участвует в передаче сигналов от хлоропласта к ядру, задействован в транскрипционной регуляции и является звеном в путях гормонального и редокс-контроля.

Ген *bchM*, кодирующий Mg-PPMT, впервые был найден в геноме *R. capsulatus* при инсерционном анализе ФГК, — его продукт в экстрактах *E. coli* метилировал Mg-ПП (Gibson et al., 1995). Ортолог этого гена — *chlM* вскоре обнаружили у *Synechocystis* PCC 6803 методом функциональной комплементации мутанта *bchM* *R. capsulatus* (Smith et al., 1996). Сравнительно недавно ген *CHLM*, кодирующий этот фермент у арабидопсиса,

был найден как гомолог гена *chlM* *Synechocystis* sp., — инсерционный мутант по этому гену накапливал Mg-ПП и белок CHLH и демонстрировал высокий уровень репрессии ядерных генов, участвующих в фотосинтезе (Pontier et al., 2007). Сниженный уровень экспрессии генов коровых белков обеих фотосистем и светособирающего комплекса установлен и для бесхлорофильных мутантов по гену *CHLM* *C. reinhardtii*, которые в темноте накапливали субстрат фермента — Mg-ПП и гибли на свету (Meinecke et al., 2010). Также как и МХ, фермент Mg-PPMT в клетке имеет «двойную» локализацию: в оболочке хлоропласта и в мембранах тилакоидов в соотношении, близком к 1:30 (Block et al., 2002). Накапливаются данные, свидетельствующие о тесном физическом взаимодействии этих ферментов (Alawady et al., 2005). При определении трехмерной структуры CHLH было показано, что продукт каталитической реакции — Mg-ПП подвергается метилированию, оставаясь связанным с CHLH (Sirijovski et al., 2008).

Mg-PPME у растений и водорослей активен только в присутствии кислорода и при сохранении целостности хлоропластных мембран. У фототрофных бактерий его кодирует ген анаэробного фермента *bchE* (Yang, Bauer, 1990). При мутационном анализе ФГК пурпурной бактерии *Rubrivivax gelatinosus* был получен мутант *acsF*, который накапливал Mg-ППМЭ в условиях аэробного роста, а при анаэробном выращивании не отличался от дикого типа по уровню ХЛ (Pinta et al., 2002). Напротив, мутации в гене *bchE* приводили к такому фенотипу только в анаэробных условиях или при низком содержании O_2 . Двойной мутант *acsF/bchE* накапливал Mg-ППМЭ при всех условиях, демонстрируя, что за аэробную и анаэробную циклизацию отвечают разные гены. Нуклеотидные последовательности этих двух генов оказались различны, также как и характер их экспрессии: транскрипция гена *acsF* была чувствительной к кислороду, а *bchE* — не зависела от O_2 (Ouchane et al., 2004). Так были получены генетические доказательства существования двух биосинтетических путей циклизации Mg-ППМЭ: аэробного и анаэробного. Ортологи «анаэробного гена» *bchE* не найдены у зеленых водорослей и высших растений. Последовательности, гомологичные гену *AcsF* обнаружены у многих организмов, включая пурпурные бактерии, цианобактерии (за исключением строгого анаэроба *Chlorobium tepidum*), зеленые водоросли и высшие растения. В геноме *C. reinhardtii* есть два ортолога гена *AcsF*: *Crd1* и *Cth1* (Moseley et al., 2000), а у арабидопсиса только один — *CHL27* (Tottey et al., 2003). Первичная структура продукта гена *AcsF* позволяет отнести фермент к классу металлосодержащих монооксигеназ, к которым также относятся аэробные копропорфириногеноксидаза (*HemF*) и рибонуклеотидредуктаза (*NrdB*) *E. coli*.

У большинства фотосинтетиков ХЛ_а представляет собой гетерогенную смесь моно- и дивинильных форм молекул, финальная композиция которых зависит от вида,

условий роста и стадии развития организма (Rebeiz et al., 1994). Конверсию 3,8-дивинил-тетрапирролов до 3-монovinилтетрапирролов осуществляет фермент 3,8-дивинилпротохлорофиллид-8-винил редуктаза, кодируемый геном *DVR* (Nagata et al., 2005).

3.2. Заключительные стадии синтеза ХЛ

Они включают восстановление протохлорофиллида (Пд) до хлорофиллида (ХД) и этерификацию его фитолом с образованием ХЛ.

Превращение Пд в ХД катализируют две различные Пд-оксидоредуктазы: светозависимая сПОР и функционирующий в темноте комплекс тПОР. У голосеменных, мхов, лишайников, водорослей и эубактерий, оба этих фермента определяют способность зеленеть как на свету, так и в темноте. Эволюционно более молодые покрытосеменные растения утратили тПОР, и при росте в темноте они формируют этиолированные ростки (желтые, накапливающие Пд). Свет активирует сПОР, запуская процесс зеленения — синтез ХД и далее ХЛ. Хотя оба фермента выполняют одну функцию — редукцию двойной связи в IV пиррольном кольце макроцикла, они различаются структурно и по механизму действия. Последний этап формирования молекулы ХЛ — это этерификация фитолом — присоединение фитольного «хвоста» к остатку пропионовой кислоты в позиции C17.

Ген *POR*, кодирующий фотознзим сПОР, впервые был клонирован у ячменя (Schulz et al., 1989). Авторам удалось выделить фермент из листьев растений в количестве, достаточном для создания антител, которые далее использовали для изоляции гена *POR* из кДНК экспрессирующей библиотеки методом иммунодетекции. Позднее этот ген был найден по гомологии у различных растений: пшеницы, овса, гороха, арабидопсиса, сосны и др. (Reinbothe, 1996). История его клонирования у *C. reinhardtii* связана с мутантами класса *yellow* (желтый в темноте, зеленый на свету). Фенотип такого температурочувствительного мутанта *y-1-4*, неспособного зеленеть на свету при рестриктивной температуре, оказался результатом одной мутации *pc-1* — сдвигу рамки считывания в ядерном гене *POR1*, кодирующем сПОР (Li, Timko, 1996). В геноме арабидопсиса найдено несколько паралогов этого гена: *PORA*, *PORB*, *PORC* (Oosawa et al., 2000), также как и у ячменя (Holtorf, Apel, 1996), и некоторых голосеменных (Skinner, Timko, 1999), а у цианобактерий и хламидомонады он уникален.

С. Граник (Granick, 1959) первым обнаружил, что добавление экзогенной АЛК к растущим в темноте этиолированным проросткам, вызывает накопление предшественников ХЛ (от ПП до Пд). Позднее было установлено, что механизм, в норме препятствующий накоплению этих фототоксичных соединений, состоит в обратном ингибировании синтеза АЛК протохлоро-

филлидом (рис. 3), и обнаружен белок FLU, который через взаимодействие с ферментом GluTR ингибирует синтез АЛК (Meskauskiene et al., 2001). Мутанты арабидопсиса с нарушенной регуляцией хлорофиллообразования накапливали в темноте избыточное количество Пд и имели повышенную активность синтезирующих АЛК ферментов. Они были названы *flu* (*fluorescent*), из-за ярко-красной флюоресценции Пд при облучении этиолированных проростков синим светом ($\lambda_{400-450\text{ нм}}$), и несли аллельные мутации в ядерном гене *FLU*. Для его изоляции использовали стратегию позиционного клонирования и установили, что этот ген кодирует белок размером 316 аминокислот. Вскоре два белка, гомологичные FLU, были найдены и у *C. reinhardtii*. Эти белки FLP (*Flu-Like Protein*) протяженностью 373 и 386 аминокислот — результат альтернативного сплайсинга транскриптов ядерного гена *FLP* (Falcatore et al., 2005). Иммунодетекция показала, что они локализованы в мембранах хлоропласта и способны специфически связывать фермент GluTR, ингибируя синтез АЛК. Экспрессия гена *FLP* позитивно регулируется светом, а в условиях темнового роста — интермедиатами биосинтеза хлорофилла: ПП, Mg-ПП и Пд. У описанного еще в 1974 году мутанта ячменя *tigrina-d*, накапливающего Пд в темноте (Nielsen, 1974), затронутый мутацией ген, оказался ортологом гена *FLU* арабидопсиса (Lee et al., 2003).

Обнаружено три гена, обеспечивающих превращение Пд в темноте. У *Rcapsulatus* они были обозначены как: *bchB*, *bchL* и *bchN*, а их ортологи, позднее найденные в геномах хлоропластов эукариот, получили названия: *chlB*, *chlL* и *chlN*. Эти гены кодируют три субъединицы (*B*, *L*, *N*) фермента тПОР, аминокислотные последовательности которых сходны с субъединицами: *NifK*, *NifH*, *NifD* нитрогеназы соответственно (Armstrong, 1998).

Недавно у *R capsulatus* был найден еще один, подобный нитрогеназам фермент, участвующий в биосинтезе БХЛа — ХДа-оксигеназа (*chlorophyllide oxidoreductase*, COR). Три гена: *BchX*, *BchY*, *BchZ* из ФГК бактерии кодируют его субъединицы (Nomata et al., 2006).

Фермент, осуществляющий присоединение фитольного «хвоста» к молекуле ХД, был выделен из *R. capsulatus* и назван бактериохлорофилл а-синтетазой. Найден был и кодирующий его ген *BchG* (Bollivar et al., 1994). Впоследствии в геномах *C. reinhardtii* и высших растений были обнаружены его ортологи — *CHLG* (Garcia-Gil et al., 2003).

Фитол — мононенасыщенный спирт ($C_{20}H_{39}OH$) — синтезируется из геранилгеранил-дифосфата (ГГ-ДФ), который подвергается редукции ферментом геранилгеранилредуктазой с образованием фитил-дифосфата (фитил-ДФ). Он кодируется генами: *bchP/CHLP* (у бактерий и эукариот соответственно) и участвует также в биосинтезе каротиноидов. ХЛ-синтаза в качестве субстрата может использовать оба изопрена: фитил-ДФ и ГГ-ДФ.

На тилакоидных мембранах хлоропластов световая энергия адсорбируется светособирающими ПБК двух фотосистем. Типичный апопротеин ПБК2 связывает 17 молекул пигментов, из которых 3 — каротиноиды (ксантофилы) и 14 молекул хлорофиллов (8 — ХЛа и 6 — ХЛб).

ХЛб — дополнительный пигмент растений, водорослей и прохлорофит, доля которого составляет 15–50 % от общего содержания ХЛ. В процессе его биосинтеза происходит последовательное двухступенчатое окисление метильной группы в положении 7 макроцикла до формильной. Реакцию катализирует фермент хлорофиллид/хлорофилл а-оксигеназа (*chlorophyllide/chlorophyll a oxygenase*, CAO) в присутствии кислорода. Субстратом для него могут служить как ХДа, так и ХЛа.

Мутанты без хлорофилла «б» впервые были получены на арабидопсисе (Hirono, Redei, 1963). Позднее их нашли у многих других высших растений, включая ячмень, кукурузу и рис. Генетический анализ таких мутантов ячменя показал, что к утрате ХЛб ведут мутации из одной группы комплементации, свидетельствуя, что синтез ХЛб контролируется одним генетическим локусом (Simpson et al., 1985). Первый мутант хламидомонады без ХЛб был описан в 1976 году (Ладыгин В. Г., 1976), а гибридологический анализ подобных мутантов показал, что отсутствие ХЛб обусловлено рецессивными мутациями в ядерном гене *Cbn1* (Мирная и др., 1990). После молекулярной идентификации с помощью инсерционных мутантов *C. reinhardtii*, не способных синтезировать ХЛб, ген получил название CAO (*chlorophyll «a» oxygenase*) — по кодируемому ферменту хлорофиллид/хлорофилл а-оксигеназе (Tanaka et al., 1998). В дальнейшем его нуклеотидную последовательность использовали для поиска гомологичных генов у других объектов. Синтез ХЛб в растительной клетке регулируется на уровне транскрипции гена CAO и посттрансляционно, — избыточное его накопление запускает механизм протеолитической дестабилизации фермента хлоропластной протеазой CLP (Tanaka, 2007).

КАТАБОЛИЗМ МОЛЕКУЛ ХЛОРОФИЛЛОВ

Деградацию ХЛ наблюдают как потерю зеленой окраски (пожелтение) в разные периоды жизни растений: во время старения, созревания плодов и/или при гибели листьев от внешних факторов, включая экстремальные температуры и воздействия патогенов. Быстрое разрушение свободных ХЛ — адаптивное свойство, которое предотвращает фотодинамические повреждения, способствуя выживанию клетки. Ежегодно на планете подвергается распаду около 1,2 миллиардов тонн ХЛ (Hendry et al., 1987). В изучении механизмов этого процесса решающую роль сыграли мутанты с нарушенным

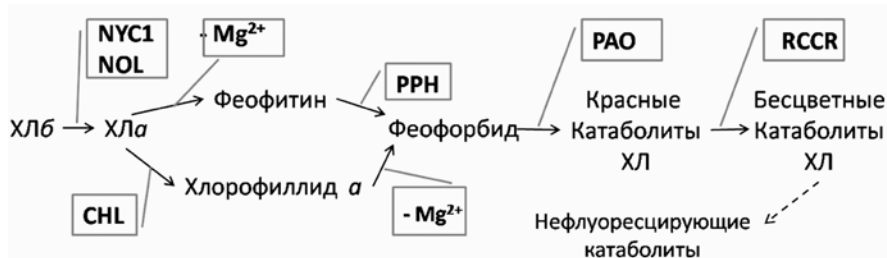


Рис. 5. Пути деградации молекул хлорофиллов (ХЛ). В рамках указаны ферменты: хлорофиллаза (CHL), магний-дехелатаза ($-Mg^{2+}$), феофитиназа (PPH), феофорбид а-оксигеназа (PAO), редуктаза красных катаболитов ХЛ (RCCR), хлорофилл б-дегидрогеназа/редуктаза (NYC1), и хлорофилл б-редуктаза (NOL)

катаболизмом пигмента, исследования которых позволили обнаружить ферменты деградации ХЛ (рис. 5) и кодирующие их гены (Hörtensteiner, 1999; 2006).

ХЛ разрушается до водорастворимых бесцветных форм, которые накапливаются в вакуолях. Продукты его распада были установлены хроматографически при сравнительных исследованиях пигментного состава желтеющих в темноте (в процессе старения) нормальных растений и мутантов *stay green*, сохраняющих в этих условиях зеленую окраску. Среди множества продуктов деградации ^{14}C -меченных ХЛ были обнаружены три формы, которые накапливались в листьях мутантов: фитолы, красные водорастворимые тетрапирролы и бесцветные катаболиты ХЛ, представленные двумя группами — флуоресцирующие и нефлуоресцирующие (Matile et al., 1996).

Образование окрашенных катаболитов ХЛ

Деградация ХЛ начинается с потери «фитольного хвоста» и центрального атома магния, в результате чего образуются светло-зеленые пигменты феофорбиды. Хлорофиллаза (*chlorophyllase*, CHL) — один из первых ферментов, выделенных из растений (Willstätter, Stoll, 1913), отщепляет фитол от молекул ХЛ и феофитина — ХЛ, лишенных магния. К концу XX века этот белок был изучен методами биохимии, и кодирующие хлорофиллазу гены арабидопсиса (*AtCLH1*) и лимона (*CHLASE1*) были идентифицированы на основе первичной структуры этого белка (Tsuchiya, et al., 1999; Jakob-Wilk et al., 1999). Позднее была найдена еще одна хлорофиллаза арабидопсиса — CLH2, и показано, что мутанты, лишенные обоих ферментов, способны к деградации ХЛ (Schen et al., 2007). Эти данные заставили вновь начать поиск фермента хлоропласта, необходимого для катаболизма ХЛ во время старения листьев. Такой белок — феофитиназа (*pheophytin pheophorbide hydrolase*, PPH), был найден благодаря методам биоинформатики и обратной генетики (Schelbert et al., 2009). Зная функции фермента, авторы нашли в протеоме арабидопсиса 462 α/β -гидролаз, из которых 30 имели хлоропластную локализацию. Среди кодирующих их генов только три активно экспрессировались в период старения, и инсерционное (Т-ДНК) блокирование одного из них вело к мутантному

(*stay green*) фенотипу. Оказалось, что этот разрушенный вставкой ген — *PPH*, кодирует фермент, способный отщеплять фитол от феофитина — не содержащих магний молекул ХЛ. Обнаружение феофитиназы позволило предположить, что деградация ХЛ начинается с потери магния, а образовавшийся при этом феофитин теряет фитол, превращаясь в феофорбид, под действием фермента PPH (рис. 5).

Изъятие магния из порфиринового кольца осуществляет магний-дехелатаза. К настоящему времени этот фермент не выделен, хотя накоплены данные об его активности и локализации (Suzuki et al., 2005).

Образование неокрашенных катаболитов ХЛ

Потеря зеленой окраски листьев в процессе деградации ХЛ связана с «раскрытием» порфиринового кольца феофорбиды между пиррольными кольцами I и II ферментом феофорбид а-оксигеназой (*pheophorbide A oxygenase*, PAO) с образованием красных катаболитов ХЛ, которые далее разрушаются редуктазой красных катаболитов ХЛ (*red chlorophyll catabolite reductase*, RCCR). Мутанты по этим этапам, как правило, имеют фенотип *stay green*. Причиной подобного фенотипа у мутанта риса (*Oryza sativa japonica*) стала рецессивная мутация в гене, соответственно названном *SGR* — *stay green* (Cha et al., 2002). Вскоре были найдены его ортологи: у овсяницы луговой (*Festuca pratensis*) — *Senescence-induced-deficiency*, арабидопсиса — *Non yellowing*, у томатов — *Green fresh* и перцев — *Chlorophyll retainer* (Armstead et al., 2006; Barry et al., 2008). Причиной менделевского признака зеленой окраски семян гороха также оказалась мутация в гене *SRG* (Armstead et al., 2007; Sato et al., 2007). С использованием стратегии позиционного клонирования было установлено, что белок риса *SGR* не является, как ожидалось, ферментом PAO, а регулирует катаболизм ХЛ, разрушая хлорофилл-связывающие белки ПБК2 (Aubry et al., 2008).

PAO — зависящая от кислорода и ферредоксина монооксигеназа, наиболее активная в период старения листьев, была найдена при анализе мутантов: *acd1* (*accelerated cell death*) арабидопсиса и *lls1* (*lethal leaf spot*) кукурузы (Gray et al., 1997; Pružinská et al., 2003). В условиях вызванного темнотой старения их листья со-

хранили зеленую окраску, а на свету покрывались некротическими пятнами из-за накопления фотохимически-активного феофорбида «а». Обнаружение еще одного типа мутантов риса, сохраняющих зеленую окраску при помещении в темноту: *nuc1* и *nol1-3*, их картирование и поиск генов, затронутых мутациями, привели авторов к заключению, что гены: *NYC1* (*non-yellow coloring*) и *NOL* (*Nyc1-like*) кодируют короткоцепочечную хлорофилл б-дегидрогеназу/редуктазу и хлорофилл б-редуктазу соответственно. Эти пластидные ферменты взаимодействуют *in vivo* и, по-видимому, обеспечивают превращение ХЛб в 7-гидроксиметил-ХЛа (Kusaba et al., 2009).

Генетические исследования процессов деградации ХЛ, начавшиеся в самом конце XX столетия, сейчас находятся на той стадии, когда все ферменты этого пути найдены. Предстоит выяснение механизмов их регуляции в разные периоды жизненного цикла растений, при адаптации их к экстремальным внешним условиям и защите от патогенов. Фундаментальные работы в этой области имеют и очевидные прикладные аспекты — они открывают возможности путем генетических манипуляций замедлять или ускорять созревание плодов и сохранять зеленой окраску листьев во время длительного хранения растений.

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ МЕТАБОЛИЗМА ХЛОРОФИЛЛОВ

Эволюция генов, контролирующих ферменты метаболизма ХЛ, по-видимому, шла по пути приспособления к изменяющимся условиям внешней среды и решения «внутренних проблем», главной из которых стала защита от фотодинамического действия свободных порфиринов. В соответствии с теорией Беркнера и Маршалла (Berkner, Marshall, 1965), не утратившей своей актуальности по сей день, формы существования биоты и ее эволюция определяются состоянием атмосферы. По данным палеонтологии, зарождение жизни произошло в археозое (около 4,0 миллиардов лет назад), и первыми обитателями Земли были анаэробные гетеротрофы, которые существовали в условиях бескислородной восстановительной атмосферы под слоем воды 10–50 м, защищавшем их от губительного действия жесткого ультрафиолетового излучения (Иорданский, 2001). Около 3,4–3,2 миллиардов лет назад некоторые из них приобрели способность к анаэробному фотосинтезу, осуществляемому одной фотосистемой I. Донором электрона при таком фотосинтезе обычно служит сероводород, а продуктами выделения — сера или сульфат. Для утилизации световой энергии древние фототрофы использовали родопсин, сохранившийся у современных галофитов, и более эффективные тетрапирролы БХЛ — при хлорофильном фотосинтезе на один поглощенный квант через мембрану переносится не один ион H^+ , как при родопсиновом фотосинтезе, а два (Скулачев, 1997). Фи-

логенетический анализ магниевой ветви биосинтеза тетрапирролов позволил установить, что наиболее древние фототрофы — это пурпурные бактерии (Xiong, Bauer, 2002). «Изобретателями» оксигенного фотосинтеза стали цианобактерии, которые 2,6 миллиардов лет назад научились использовать воду в качестве доноров электронов. Фотохимическое разложение воды в процессе их жизнедеятельности сопровождалось выделением кислорода (Battistuzzi, 2004), и наиболее эффективным средством нейтрализации токсичного молекулярного кислорода стало кислородное дыхание. Интересно, что центральный блок системы аэробного дыхания — цепь переноса электронов — сформировалась у цианобактерий (и у ряда других, в том числе пурпурных бактерий) на основе электронно-транспортной цепи фотосинтеза. Сначала, по-видимому, осуществлялось простое «сжигание» органики с единственной целью обезвредить кислород. Лишь в дальнейшем была открыта возможность синтезировать АТФ в этом процессе. С увеличением концентрации абиогенного кислорода в атмосфере до так называемой «точки Пастера», когда его содержание достигло 1 % от современного уровня, у биоты появилась возможность использовать в энергетических целях аэробную диссимиляцию (дыхание), которое в 14 раз эффективнее анаэробного брожения.

В истории Земли известны два периода резкого повышения концентрации O_2 в атмосфере. Первая «кислородная катастрофа» (точка Постера), произошла примерно 2,4–2,2 млрд лет назад благодаря оксигенному фотосинтезу цианобактерий. К этому времени абиогенный кислород сформировал озоновый слой, защищающий Землю от солнечного ультрафиолета, что позволило обитателям планеты расширить пространство своего обитания — подняться в верхние слои океана. В этот период возникают гены, кодирующие аэробные ферменты: *HemF*, *HemG*, *AcsF*. Второй «кислородный взрыв», около 800–542 млн лет назад вызвал, по-видимому, «позднекембрийский взрыв формообразования» (Frei, 2009).

Фотосинтезирующие эукариоты появились на планете 1,5–1,2 млрд лет назад в результате вторичного эндосимбиоза с цианобактериями. Наиболее вероятными предками пластид считают азотфиксирующие цианобактерии *Nostoc sp.* и *Anabaena variabilis* (Deusch et al., 2008). Преобразование ХЛ-содержащих бактерий в хлоропласты сопровождалось переносом большинства их генов, контролирующих реакции фотосинтеза и биосинтез тетрапирролов в ядро (Bock R., Timmis J. N., 2008). При этом, по-видимому, произошла утрата генов цианобактерий: *bchE* и *bchX*, *Y*, *Z*, ортологов которых нет в геномах эукариот. К приобретениям этого времени можно отнести появление аэробных ферментов биосинтеза ХЛб — дополнительного светособирающего пигмента.

Следующий важный этап эволюции растений — возникновение многоклеточности. Ее датируют появлением харовых водорослей (*Charophyta*)

450–410 млн лет назад. Выход растений на сушу ок. 420 млн лет назад изменил формы их взаимодействия с окружающей средой. Концентрация углерода в атмосфере того периода (ок. 3000 ppm) значительно превышала его сегодняшний уровень (ок. 400 ppm), что стимулировало развитие механизмов фиксации углерода (Beerling, Berner, 2005). С этим периодом также связывают появление механизма сбрасывания таллома, установленного для примитивного дерева *Archaeopteris*, существовавшего уже 359–349 млн лет назад (Raven, 1986). Концентрация углерода оставалась высокой вплоть до позднего девона (40–50 млн лет назад), а затем резко снизилась, что привело к замене микрофиллии макрофиллией (появлением крупных листовых пластин). Покрытосеменные появились в юрском периоде (150 млн лет назад), и спустя 120 млн лет заняли лидирующее положение в глобальной флоре. Их хлоропластные геномы утратили гены *chlL*, *B*, *N*, кодирующие тПОР (темновую Пд-оксидоредуктазу) — последнего в ряду ферментов, ведущих свое происхождение от анаэробных нитрогеназ цианобактерий, но приобрели способность к старению — деградации ХЛ и преобразованию хлоропластов в этиопласт, называемых в этих случаях герантопластом. Полагают, что эволюция генов катаболизма ХЛ началась с появлением эукариот — кодируемые ими ферменты были необходимы для обеспечения перехода от фото- к гетеротрофным условиям (Thomas et al., 2009).

Увеличение содержания кислорода в атмосфере вынуждало фотосинтезирующие организмы искать защитные механизмы метаболической и сигнальной регуляции, позволяющие предотвратить накопление в их клетках свободных фотореактивных молекул порфиринов. В хлоропластах ХЛ оказались связаны с белками и каротиноидами, а на метаболическом уровне эту защитную функцию стал выполнять механизм обратного ингибирования первого предшественника тетрапирролов — АЛК конечными продуктами светонезависимого биосинтеза — Пд и гемом (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтез тетрапирролов у растений и водорослей происходит в пластидах, откуда они транспортируются к месту своей локализации: ХЛ остаются в хлоропластах, гемы и сирогемы работают во всех клеточных компартментах, а фитохромы — в цитоплазме и ядре. Метаболизм фотосинтезирующей клетки зависит от функциональной активности всех тетрапирролов, биосинтез которых необходимо регулировать (Юрина и др., 2012). Механизмы такой регуляции координируют множество процессов, включая утилизацию световой энергии, поддержание оптимального баланса содержания гемов и ХЛ, предотвращение накопления молекул свободных порфиринов, баланс биосинтезов белков и пигментов (ХЛ функционируют в составе ПБК).

Реализация генетических процессов, контролирующих метаболизм ХЛ, находится под системным контролем целого ряда факторов (свет, кислород, содержание сахаров и т.д.), определяющих физиологическое состояние хлоропластов, в которых осуществляется фотосинтез. Исследования мутантов с нарушенной регуляцией показало, что физиологический статус хлоропласта регулирует экспрессию «фотосинтетических» генов ядра через сигнальную систему, в работе которой, помимо белков, участвуют тетрапирролы ПП и Mg-ПП. Вероятно, ключевая роль здесь принадлежит МХ, хотя молекулярные механизмы этих процессов еще не выяснены.

По данным массового анализа экспрессии, основными мишенями транскрипционной регуляции у арабидопсиса являются гены: *HEMA1*, *CHLH*, *CHL27*, *CAO*, *GUN4* и *CHLP*. Они ко-экспрессируются под действием света и циркадных ритмов (Masuda T., Fujita Y., 2008). В контроле метаболизма ХЛ задействован механизм обратного ингибирования (feed back) активности комплекса ферментов, синтезирующих АЛК (рис. 3). Молекулярные механизмы, координирующие работу МХ и синтез АЛК, еще не исследованы. Генетические процессы световой, ретроградной, гормональной и метаболической регуляции, редокс-контроля и апоптоза в фотосинтезирующей клетке тесно связаны и образуют единую сеть, контролирующую метаболизм пигментов хлоропласта. В последние годы удалось обнаружить несколько ее элементов, но большинство факторов этой регуляторной машины, обеспечивающих транскрипционный и посттрансляционный контроль, найти еще предстоит.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляева О.Б., Литвин Ф.Ф., 2007. Фотоактивные пигмент-ферментные комплексы предшественника хлорофилла в листьях растений // Успехи биологической химии. Т. 47. С. 189–232.
2. Иорданский Н.Н., 2001. Эволюция жизни. М.: Академия. С. 425.
3. Ладыгин В.Г., 1976. Получение и отбор мутантов одноклеточных водорослей с нарушениями цепи фотосинтетического переноса электронов // Физиология растений. Т. 23. Вып. 5. С. 877–884.
4. Мирная О.Н., Фомина-Ещенко Ю.Г., Чунаев А.С., 1990. Локализация мутации *cbn1* в первой группе сцепления ядерных генов *Chlamydomonas reinhardtii* // Генетика. Т. 26. С. 958–960.
5. Миронов А.Ф., 1998. Биосинтез природных тетрапирролов // СОЖ. № 7. С. 35–42.
6. Шестаков С.В., 1998. Молекулярная генетика фотосинтеза // СОЖ. № 9. С. 22–27.
7. Скулачев В.П., 1997. Эволюция биологических механизмов запасаения энергии // СОЖ. № 5. С. 11–19.
8. Чекунова Е.М., Квитко К.В., 1986. Генетическое изучение мутантов хламидомонады, накапливающих

- протопорфирин IX // Исследования по генетике. № 10. С. 104–112.
9. Чекунова Е.М., Савельева Н.В., 2010. Ген *LTS3* контролирует светонезависимый биосинтез хлорофилла у зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* // Экологическая генетика. Том VIII. № 2. С. 35–44.
 10. Шалыго Н.В., Чекунова Е.М., Чунаев А.С., Аверина Н.Г., 1990. Анализ состава порфиринов в мутантах *Chlamydomonas reinhardtii* // Изв. АН БССР. Сер. Биол. наук. № 4. С. 53–57.
 11. Шалыго Н.В., 2004. Биосинтез хлорофилла и фотодинамические процессы в растениях // Минск: ИООО «Право и экономика», 156 с.
 12. Юрина Н.П., Осипенкова О.В., Одинцова М.С., 2012. Тетрапирролы высших растений: биосинтез, его регуляция и их роль в передаче ретроградных сигналов // Физиология растений. Т. 59. С. 3–16.
 13. Adhikari N.D., Froehlich J.E., Strand D.D. et al., 2011. GUN4-Porphyrin Complexes Bind the ChlH/GUN5 Subunit of Mg-Chelatase and Promote Chlorophyll Biosynthesis in Arabidopsis // Plant Cell. Vol. 23(4). P. 1449–1455
 14. Alawady A., Reski R., Yaronskaya E., Grimm B., 2005. Cloning and expression of the tobacco CHLM sequence encoding Mg protoporphyrin IX methyltransferase and its interaction with Mg chelatase // Plant Mol. Biol. Vol. 57(5). P. 679–691.
 15. Alefounder P.R., Abell C., Battersby A.R., 1988. The sequence of *hemC*, *hemD* and two additional *E. coli* genes // Nucleic acid Res. Vol. 16(20). P. 9871.
 16. Apchelinov A.A., Soldatova O.P., Ezhova T.A. et al., 2007. The analysis of the *Chl1* 1 and *Chl1* 2 genes using acifluorfen-resistant mutant of *Arabidopsis thaliana* // Planta. Vol. 225(4). P. 935–943.
 17. Armstead I., Donnison I., Aubry S. et al., 2006. From crop to model to crop: identifying the genetic basis of the staygreen mutation in the Lolium/Festuca forage and amenity grasses // New Phytol. Vol. 172. P. 592–597.
 18. Armstead I., Donnison I., Aubry S. et al., 2007. Cross-species identification of Mendel's locus // Science. Vol. 315. N 5. P. 73
 19. Armstrong G.A., 1998. Greening in the dark: light-independent chlorophyll biosynthesis from anoxygenic photosynthetic bacteria to gymnosperms // J. Photochemistry and Photobiology B: Biology. Vol. 43. P. 87–100.
 20. Astner I., Schulze J.O., van den Heuvel J. et al., 2005. Crystal structure of 5-aminolevulinate synthase, the first enzyme of heme biosynthesis, and its link to XLSA in humans // EMBO. Vol. 24. P. 3166–3177.
 21. Aubry S., Mani J. and Hörtensteiner S., 2008. Stay-green protein, defective in Mendel's green cotyledon mutant, acts independent and upstream of pheophorbide a oxygenase in the chlorophyll catabolic pathway // Plant Mol. Biol. Vol. 67. P. 243–256.
 22. Barry C.S., McQuinn R.P., Chung et al., 2008. Amino acid substitutions in homologs of the STAY-GREEN protein are responsible for the green-flesh and chlorophyll retainer mutations of tomato and pepper // Plant Physiol. V. 147. P. 179–187.
 23. Battistuzzi F.U., Feijao A., Hedges S.B., 2004. A genomic timescale of prokaryote evolution: insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land // BMC Evol Biol. Vol. 4. P. 44.
 24. Beale S.I., 1999. Enzymes of chlorophyll biosynthesis // Photosynthesis research. Vol. 60. P. 43–73.
 25. Beerling D.J., Berner R.A., 2005. Feedbacks and the coevolution of plants and atmospheric CO₂ // Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. Vol. 102. P. 1302–1305.
 26. Berkner L.V., Marshall L.C., 1965. On the origin and rise of oxygen in the Earth's atmosphere // J. Atmosph Sci. Vol. 22. P. 225–261.
 27. Block M.A., Tewari A.K., Albrieux C. et al., 2002. The plant S-adenosyl-L-methionine: Mg-protoporphyrin IX methyltransferase is located in both envelope and thylakoid chloroplast membranes // Eur. J. Biochemistry. Vol. 269(1). P. 240–248.
 28. Bollivar D.W., Suzuki J.Y., Beatty T. et al., 1994. Direct mutational analysis of bacteriochlorophyll a biosynthesis in *Rhodobacter capsulatus* // J. Molecular Biology. Vol. 237. P. 622–640.
 29. Brancaleoni V., Dipierro E., Ausenda S. et al., 2007. Novel human pathological mutations. Gene symbol: UROD. Disease: porphyria, cutaneous // Hum. Genet. Vol. 122(3–4). P. 415.
 30. Brockmann H. and Lipinski A., 1983. Bacteriochlorophyll g. A new bacteriochlorophyll from *Heliobacterium chlorum* // Arch. of Microbiology. Vol. 136. P. 17–19.
 31. Cha K.W., Lee Y.J., Koh H.J., et al., 2002. Isolation, characterization, and mapping of the stay green mutant in rice // Theor. Appl Genet. Vol. 104. P. 526–532.
 32. Chekunova E., Papenbrock J., Voronetskaya V. et al., 2001. Molecular characterization of *Chlamydomonas reinhardtii* mutants defective in H subunit of Magnesium chelatase // Mol. Genet. Genomics. Vol. 266. P. 363–373.
 33. Chen M., Schliep M., Willows R. D. et al., 2010. A Red-Shifted Chlorophyll // Science. Vol. 329. P. 1318–1319.
 34. Deusch O., Landan G., Roettger M. et al., 2008. Genes of cyanobacterial origin in plant nuclear genomes point to a heterocyst-forming plastid ancestor // Mol Biol Evol. Vol. 25(4) P. 748–761.
 35. Falcioratore A., Merendino L., Barneche F. et al., 2005. The FLP proteins act as regulators of chlorophyll synthesis in response to light and plastid signals in *Chlamydomonas* // Genes Dev. Vol. 19(1). P. 176–187.
 36. Frei R., Gaucher C., Poulton S.W., Canfield D.E., 2009. Fluctuations in Precambrian atmospheric oxygenation recorded by chromium isotopes // Nature. Vol. 461. P. 250–253.

37. Foley T, Dzelzkalns V, Beale S.I., 1982. Delta-Aminolevulinic acid synthase of *Euglena gracilis*: Regulation of Activity // Plant Physiology. Vol. 70. P. 219–226.
38. Garcia-Gil L., Gich F.B., Fuentes-Garcia X., 2003. A comparative study of bchG from green photosynthetic bacteria // Arch. Microbiology. Vol. 179(2). P. 108–115.
39. Gibson L.C., Willows R.D., Kannangara C.G. et al., 1995. Magnesium-protoporphyrin chelatase of *Rhodobacter sphaeroides*: reconstitution of activity by combining the products of the bchH, -I, and -D genes expressed in *Escherichia coli* // PNAS USA. Vol. 92(6). P. 1941–1944.
40. Granick S., 1950. The structural and functional relationships between heme and chlorophyll // Harvey lectures. Vol. 44. P. 220–245.
41. Granick S., 1959. Magnesium porphyrin formed by barley seedlings treated with 5-aminolevulinic acid // Plant Physiology. 1959. Suppl. 34, xviii.
42. Gray J., Close P.S., Briggs S.P., Johal G.S., 1997. A novel suppressor of cell death in plants encoded by the *Lls1* gene of maize // Cell. Vol. 89. P. 25–31.
43. Grimm B., Bull A., Welinder K.G. et al., 1989. Purification and partial amino acid sequence of the glutamate 1-semialdehyde aminotransferase of barley and *Synechococcus* // Carlsberg Res Commun. Vol. 54(2). P. 67–79.
44. Grimm B., Bull A., Brey V., 1991. Structural genes of glutamate 1-semialdehyde aminotransferase for porphyrin synthesis in a cyanobacterium and *Escherichia coli* // Mol. Gen. Genetics. Vol. 225. P. 1–10.
45. Hadson A., Carpenter R., Doyle S., Coen E.S., 1993. Olive: a key gene require for chlorophyll biosynthesis in *Antirrhinum majus* // EMBO J. Vol. 12. P. 3711–3709.
46. Hanaoka M., Kanamaru K., Fujiwara M., et al., 2005. Glutamyl-tRNA mediates a switch in RNA polymerase use during chloroplast biogenesis // EMBO J. Vol. 6(6). P. 545–552.
47. Hansson M., Hederstedt L., 1994. Bacillus subtilis HemY is a peripheral membrane protein essential for protoheme IX synthesis which can oxidize coproporphyrinogen III and protoporphyrinogen IX // J. Bacteriology. Vol. 176(19). P. 5962–5970.
48. Hendry G.A.F., Houghton J.D., Brown S.B., 1987. The degradation of chlorophyll: a biological enigma // New Phytology. Vol. 107. P. 255–302.
49. Hill K.L. and Merchant S., 1995. Coordinate expression of coproporphyrinogen oxidase and cytochrome c6 in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in response to changes in copper availability // EMBO J. Vol. 14(5). P. 857–865.
50. Hirono Y., Redei G.P., 1963. Multiple allelic control of chlorophyll b level in *Arabidopsis thaliana* // Nature. Vol. 197, P. 1324–1325.
51. Holtorf H, Apel K., 1996. The regulation of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductases A and B in green barley plants kept under a diurnal light/dark cycle // Planta. Vol. 199. P. 289–295.
52. Hörtensteiner S., 1999. Chlorophyll breakdown in higher plants and algae // Cell. Mol. Life Sci. Vol. 56. P. 330–347.
53. Hörtensteiner S., 2006. Chlorophyll degradation during senescence // Annu. Rev. Plant Biol. Vol. 57. P. 55–77.
54. Huang D.-D., Wang W.-Y., Gough S.P., Kannangara C.G., 1984. 5-Aminolevulinic acid-synthesizing enzymes need an RNA moiety for activity // Science. Vol. 225. P. 1482–1484.
55. Ikegami A., Yoshimura N., Motohashi K. et al., 2007. The CHL1 subunit of *Arabidopsis thaliana* magnesium chelatase is a target protein of the chloroplast thioredoxin // J. Biol. Chem. Vol. 282. P. 19282–19291.
56. Ilag L.L., Jahn D., Eggertsson G., Söll D., 1991. The *Escherichia coli* HemL gene encodes glutamate 1-semialdehyde aminotransferase // J. Bacteriology. Vol. 173. P. 3408–3413.
57. Jacobs J.M. and Jacobs N.J., 1987. Oxidation of protoporphyrinogen to protoporphyrin, a step in chlorophyll and haem biosynthesis. Purification and partial characterization of the enzyme from barley organelles // Biochem J. Vol. 244(1). P. 219–224.
58. Jakob-Wilk D., Holland D., Goldschmidt E.E. et al., 1999. Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the Chlase1 gene from ethylene-treated Citrus fruit and its regulation during development // Plant J. Vol. 20. P. 653–661.
59. Jones M.C., Jenkins J.M., Smith A.G., Howe C.J., 1994. Cloning and characterisation of genes for tetrapyrrole biosynthesis from cyanobacterium *Anacystis nidulans* R2 // Plant Mol. Biology. Vol. 24(3). P. 435–448.
60. Kiel J.A., Ten Berge A.M., Venema G., 1992. Nucleotide sequence of the *Synechococcus* sp. PCC7942 *hemE* gene encoding the homologue of mammalian uroporphyrinogen decarboxylase // DNA Sequencing Mapping. Vol. 2(6). P. 415–418.
61. Kleine T., Voigt C., Leister D., 2009. Plastid signalling to the nucleus: messengers still lost in the mists? // Trends Genet. Vol. 25. P. 185–192.
62. Koncz C., Mayerhofer R., Koncz-Kalman Z. et al., 1990. Isolation of a gene encoding a novel chloroplast protein by T-DNA tagging in *Arabidopsis thaliana* // EMBO J. Vol. 9. P. 1337–1346.
63. Kruse E., Mock H.P., Grimm B., 1995. Coproporphyrinogen III oxidase from barley and tobacco — sequence analysis and initial expression studies // Planta. Vol. 196(4). P. 796–803.
64. Kusaba, M., Ito, H., Morita, R. et al., 2007. Rice Non-yellow coloring1 is involved in light-harvesting complex II and grana degradation during leaf senescence // Plant Cell. Vol. 19. P. 1362–1375.
65. Lee K.P., Kim C., Lee D. W., Apel K., 2003. TIGRINA d, required for regulating the biosynthesis of tetrapyrroles in

- barley, is an ortholog of the FLU gene of *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. Vol. 553(1–2). P. 119–124.
66. Lermontova I., Kruse E., Mock H.-P., Grimm B., 1997. Cloning and characterization of a plastidal and a mitochondrial isoform of tobacco protoporphyrinogen IX oxidase // PNAS, USA. Vol. 94. P. 8895–8900.
 67. Levicán G., Katz A., Valenzuela P. et al., 2005. A tRNA (Glu) that uncouples protein and tetrapyrrole biosynthesis // FEBS Letters. Vol. 579(28). P. 6383–6387.
 68. Li G.-M., Russell C. S., Cosloy S. D., 1989. Cloning and structure of the hemA gene of *Escherichia coli* K-12 // Gene. Vol. 82. P. 209–217.
 69. Li J., Timko M. P., 1996. The pc-1 phenotype of *Chlamydomonas reinhardtii* results from a deletion mutation in the nuclear gene for NADPH protochlorophyllide oxidoreductase // Plant. Mol. Biol. Vol. 30. P. 15–37.
 70. Lüer C., Schauer S., Möbius K., et al., 2005. Complex formation between Glutamyl-tRNA Reductase and Glutamate-1-semialdehyde 2,1-Aminomutase in *Escherichia coli* during the Initial Reactions of Porphyrin Biosynthesis // The J. of Biological Chemistry. Vol. 280(19). P. 18568–18572.
 71. Lundqvist J., Elmlund H., Wulff R. P. et al., 2010. ATP-induced conformational dynamics in the AAA+ motor unit of magnesium chelatase // Structure. Vol. 18. P. 354–365.
 72. Madsen O., Sandal L., Sandal N. N., Varcker K. A., 1993. A soybean coproporphyrinogen oxidase gene is highly expressed in root nodules // Plant Molecular Biology. Vol. 23(1). P. 35–43.
 73. Masuda T., Suzuki T., Shimada H. et al., 2003. Subcellular localization of two types of ferrochelatase in cucumber // Planta. Vol. 217(4). P. 602–609.
 74. Masuda T., Fujita Y., 2008. Regulation and evolution of chlorophyll metabolism // Photochem Photobiol Science. Vol. 7. P. 1131–1149.
 75. Matile P., Hörtensteiner S., Thomas H., Kräutler B., 1996. Chlorophyll breakdown in senescent leaves // Plant Physiol. Vol. 112. P. 1403–1409.
 76. Matters G. L., Beale S. I., 1995. Structure and expression of the *Chlamydomonas reinhardtii* alad gene encoding the chlorophyll biosynthetic enzyme, delta-aminolevulinic acid dehydratase (prophobilinogen synthase) // Plant Mol Biol. Vol. 27(3). P. 607–617.
 77. McCormac A. C., Fischer A., Kumar A. M. et al., 2001. Regulation of HEMA1 expression by phytochrome and a plastid signal during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. Vol. 25(5). P. 549–561.
 78. Meinecke L., Alawady A., Schroda M. et al., 2010. Chlorophyll-deficient mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* that accumulate magnesium protoporphyrin IX // Plant Mol. Biol. Vol. 72(6). P. 643–658.
 79. Mendel G., 1886. Versuche ueber Pflanzen-Hybriden. Transactions of Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brunn (1885), IV, P. 3–270 (Extracts republished. BMJ 1965; P. 367–374.
 80. Meskauskiene R., Nater M., Goslings D. et al., 2001. FLU: a negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* // PNAS, USA. Vol. 98(22). P. 12826–31.
 81. Mock H. P., Trainotti L., Kruse E., Grimm B., 1995. Isolation, sequencing and expression of cDNA sequences encoding uroporphyrinogen decarboxylase from tobacco and barley // Plant. Mol. Biol. Vol. 28(2). P. 245–256.
 82. Moseley J., Quinn J., Eriksson M., Merchant S., 2000. The Crd1 gene encodes a putative di-iron enzyme required for photosystem I accumulation in copper deficiency and hypoxia in *Chlamydomonas reinhardtii* // EMBO J. Vol. 19(10). P. 2139–2151.
 83. Müller A. H., Hansson M., 2009. The barley magnesium chelatase 150-kd subunit is not an abscisic acid receptor // Plant Physiol. Vol. 150(1). P. 157–166.
 84. Nagata N., Tanaka R., Satoh S., Tanaka A., 2005. Identification of a vinyl reductase gene for chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana* and implications for the evolution of *Prochlorococcus species* // Plant Cell. Vol. 17(1). P. 233–240.
 85. Narita S., Tanaka R., Ito T. et al., 1996. Molecular cloning and characterization of a cDNA that encodes protoporphyrinogen oxidase of *Arabidopsis thaliana* // Gene. Vol. 182(1–2). P. 169–175.
 86. Nielsen O. F., 1974. Photoconversion and regeneration of active protochlorophyll (ide) in mutants defective in the regulation of chlorophyll synthesis // Arch Biochem Biophys. Vol. 160. P. 430–439.
 87. Nogaj L. A., Beale S. I. 2005. Physical and kinetic interactions between glutamyl-tRNA reductase and glutamate-1-semialdehyde aminotransferase of *Chlamydomonas reinhardtii* // J. Biol. Chemistry. Vol. 280(26). P. 24301–24307.
 88. Nomata J, Mizoguchi T, Tamiaki H, Fujita Y. A second nitrogenase-like enzyme for bacteriochlorophyll biosynthesis: reconstitution of chlorophyllide a reductase with purified X-protein (BchX) and YZ-protein (BchY-BchZ) from *Rhodobacter capsulatus* // J. Biol. Chemistry. 2006. Vol. 281(21). P. 15021–15028.
 89. Oosawa N., Masuda T., Awai K. et al., 2000. Identification and light-induced expression of a novel gene of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase isoform in *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. Vol. 474(2–3). P. 133–136.
 90. Osanai T., Imashimizu M., Seki A. et al., 2009. ChlH, the H subunit of the Mg-chelatase, is an anti-sigma factor for SigE in *Synechocystis sp.* PCC 6803 // PNAS, USA. Vol. 106(16). P. 6860–6865.
 91. Ouchane S., Steunov AS., Picaud M., Astier C., 2004. Aerobic and anaerobic Mg-protoporphyrin monomethyl ester cyclases in purple bacteria: a strategy adopted to bypass the repressive oxygen control system // J. Biol. Chemistry. Vol. 279(8). P. 6385–6394.

92. Pinta V., Picaud M., Reiss-Husson F., Astier C., 2002. Rubrivivax gelatinosus acsF (previously orf358) codes for a conserved, putative binuclear-iron-cluster-containing protein involved in aerobic oxidative cyclization of Mg-protoporphyrin IX monomethylester // J. Bacteriology. Vol. 184 (3). P. 746–753.
93. Pontier D., Albrieux C., Joyard J. et al., 2007. Knock-out of the magnesium Protoporphyrin IX methyltransferase gene in *Arabidopsis*: effects on chloroplast development and on chloroplast-to nucleus signaling. // J. Biol. Chemistry. Vol. 284. P. 2297–2304.
94. Pontoppidan B., Kannangara C. G., 1994. Purification and partial characterization of barley glutamyl-tRNA (Glu) reductase, the enzyme that directs glutamate to chlorophyll biosynthesis // Eur J. Biochem. Vol. 225 (2). P. 529–37.
95. Pruzinská A., Anders I., Aubry S., Schenk N., Taper-noux-Lüthi E., Müller T., Kräutler B., Hörtensteiner S., 2007. *In vivo* participation of red chlorophyll catabolite reductase in chlorophyll breakdown // Plant Cell. Vol. 1. P. 369–387.
96. Quesada V., Sarmiento-Mañús R., González-Bayón R. et al., 2013. Porphobilinogen deaminase deficiency alters vegetative and reproductive development and causes lesions in *Arabidopsis* // Plos ONE 8(1): e53378. Doi:10.1371/journal.pone.0053378.
97. Randolph-Anderson B. L., Sato R., Johnson A. M. et al., 1998. Isolation and characterization of a mutant protoporphyrinogen oxidase gene from *Chlamydomonas reinhardtii* conferring resistance to porphyric herbicides // Plant. Mol. Biol. Vol. 38. P. 839–859.
98. Raven J. A., 1986. Evolution of plant life forms // On the economy of plant form and function / Givnish T. J., editor, New York: Cambridge University Press. P. 421–492.
99. Rebeiz C. A., Parham R., Fasoula D. A., Ioannides I. M., 1994. Chlorophyll a biosynthetic heterogeneity // “The biosynthesis the tetrapyrrole pigments”, Ciba Foundation Symposium / eds.: Chadwick D. J. and Ackrill K. Vol. 180. P. 177–189.
100. Reinbothe S., Reinbothe Ch. 1996. Regulation of chlorophyll biosynthesis in angiosperms // Plant Physiology. Vol. 111. P. 1–7.
101. Săsarman A., Surdeniu M., Szegli G. et al., 1968. Hemin-deficient mutants of *Escherichia coli* K-12. // J. of Bacteriology. Vol. 96, N 2. P. 570–572.
102. Săsarman A., Letowski J., Czaika G. et al., 1993. Nucleotide sequence of the hemG gene involved in the protoporphyrinogen oxidase activity of *Escherichia coli* K12 // Can. J. Microbiology. Vol. 39 (12). P. 1155–1161.
103. Sato, Y., Morita R., Nishimura M. et al., 2007. Mendel's green cotyledon gene encodes a positive regulator of the chlorophyll-degrading pathway // PNAS, USA. Vol. 104. P. 14 169–14 174.
104. Schelbert S., Aubry S., Burla B. et al., 2009. Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis* // Plant Cell. Vol. 21. P. 767–785.
105. Schen N., Schelbert S., Kanwischer M. et al., 2007. The chlorophyllases AtCLH1 and AtCLH2 are not essential for senescence-related chlorophyll breakdown in *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. Vol. 581. P. 5517–5525.
106. Schulz R., Steinmüller K., Klaas M. et al., 1989. Nucleotide sequence of a cDNA coding for the NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase (PCR) of barley (*Hordeum vulgare* L.) and its expression in *Escherichia coli* // Molecular and General Genetics. Vol. 217. P. 355–361.
107. Sharif A. L., Smith A. G., Abell C., 1989. Isolation and characterisation of a cDNA clone for a chlorophyll synthesis enzyme from *Euglena gracilis*. The chloroplast enzyme hydroxymethylbilane synthase (porphobilinogen deaminase) is synthesised with a very long transit peptide in *Euglena* // Eur. J. Biochem. Vol. 184 (2) P. 353–359.
108. Shen Y. Y., Wang X. F., Wu F. Q. et al., 2006. The Mg-chelatase H subunit is an abscisic acid receptor // Nature. Vol. 443. P. 823–826.
109. Simpson D., Machold O., Hoyer-Hansen G., von Wettstein D. 1985. Chlorina mutants of barley (*Hordeum vulgare* L.) // Carlsberg Research Communication. Vol. 50. P. 223–238.
110. Sirijovski N., Lundqvist J., Rosenbäck M. et al., 2008. Substrate-binding model of the chlorophyll biosynthetic magnesium chelatase BchH subunit // J. Biol. Chem. Vol. 283 (17). P. 11 652–11 660.
111. Skinner J. S., Timko M. P., 1999. Differential expression of genes encoding the light-dependent and light-independent enzymes for protochlorophyllide reduction during development in loblolly pine // Plant Mol. Biology. Vol. 39 (3). P. 577–592.
112. Smith C. A., Suzuki J. Y., Bauer C. E., 1996. Cloning and characterization of the chlorophyll biosynthesis gene chlM from *Synechocystis* PCC 6803 by complementation of a bacteriochlorophyll biosynthesis mutant of *Rhodobacter capsulatus* // Plant Mol. Biology. Vol. 30 (6). P. 1307–1314.
113. Sobotka R., Dühring U., Komenda J. et al., 2008. Importance of the cyanobacterial Gun4 protein for chlorophyll metabolism and assembly of photosynthetic complexes // J Biol Chem. Vol. 283 (38). P. 25 794–25 802.
114. Srivastava A., Lake V., Nogai L. A. et al., 2005. The *Chlamydomonas reinhardtii* gtr gene encoding the tetrapyrrole biosynthetic enzyme glutamyl-trna reductase: structure of the gene and properties of the expressed enzyme // Plant Mol. Biology. Vol. 58 (5). P. 643–658.

115. Stange-Thomann N., Thomann H. U., Lloyd A. J. et al., 1994. A point mutation in *Euglena gracilis* chloroplast tRNA (Glu) uncouples protein and chlorophyll biosynthesis // PNAS, USA. Vol. 91. P. 7947–7951.
116. Suzuki T., Kunieda T., Murai F. et al., 2005. Mg-dechelation activity in radish cotyledons with artificial and native substrates, Mg-chlorophyllin a and chlorophyllide a // Plant Physiology and Biochemistry. Vol. 5. P. 459–64.
117. Tanaka A., Ito H., Tanaka R. et al., 1998. Chlorophyll a oxygenase (CAO) is involved in chlorophyll b formation from chlorophyll a // PNAS, USA. Vol. 95(21). P. 12719–12723.
118. Tanaka R., Tanaka A., 2007. Tetrapyrrole biosynthesis in higher plants // Annu. Rev. Plant Biology. Vol. 58. P. 321–346.
119. Thomas H., Huang L., Young M., Ougham H., 2009. Evolution of plant senescence // BMC Evol Biol., 9:163 (doi:10.1186/1471–2148–9-163).
120. Timko M. P., 1998. Pigment Biosynthesis: chlorophylls, heme and carotenoids. // The Molecular biology of chloroplasts and mitochondria in Chlamydomonas / eds: J-D. Rochaix, M. Goldschmidt-Clermont and S. Merchant, Kluwer Academic Publishers. P. 377–414.
121. Tottey, S., Block, M. A., Allen et al., 2003. Arabidopsis CHL27, located in both envelope and thylakoid membranes, is required for the synthesis of protochlorophyllide // PNAS USA. Vol. 100. P. 16119–16124.
122. Tsuchiy, T., Ohta H., Okawa K. et al., 1999. Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: Finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate // PNAS, USA. Vol. 96. P. 15362–15367.
123. Walker C. J., Willows R. D., 1997. Mechanism and regulation of Mg-chelatase // Biochem J. Vol. 327. P. 321–33.
124. Wang W., Boynton J. E., Gillham N. W., 1974. Genetic control of chlorophyll biosynthesis in Chlamydomonas. Analysis of mutants of two loci mediating the conversion of protoporphyrin-IX to magnesium protoporphyrin // J. Cell Biol. Vol. 63(3). P. 806–823.
125. Willstätter, R. and Stoll A., 1913. Die Wirkungen der chlorophyllase // Untersuchungen ueber chlorophyll. Berlin: Springer. P. 172–187.
126. Wulff D. L., 1967. δ -aminolevulinic acid-requiring mutant from *Escherichia coli* // J. Bacteriology. Vol. 93. P. 1473–1474.
127. Xiong J., Bauer C. E., 2002. Complex evolution of photosynthesis // Annual Review of Plant Biology. Vol. 53. P. 503–521.
128. Xu K., Elliott T., 1993. An oxygen-dependent coproporphyrinogen oxidase encoded by the hemF gene of *Salmonella typhimurium* // J. Bacteriology. Vol. 175(16). P. 4990–4999.
129. Xu K. and Elliott T., 1994. Cloning, DNA sequence, and complementation analysis of the *Salmonella typhimurium hemN* gene encoding a putative oxygen-independent coproporphyrinogen III oxidase. // J. Bacteriology. Vol. 176(11). P. 3196–3203.
130. Yang Z., Bauer C. E., 1990. *Rhodobacter capsulatus* genes involved in early steps of bacteriochlorophyll biosynthesis // J. Bacteriology. Vol. 172. P. 5001–5010.
131. Zsebo K. M., Hearst J. E., 1984. Genetic-physical mapping of a photosynthetic gene cluster from *R. capsulata* // Cell. Vol. 37. P. 937–947.

GENETIC CONTROL OF CHLOROPHYLL METABOLISM

Chekunova E. M.

✳ **SUMMARY:** Chlorophylls (Chl) are unique tetrapyrrole molecules, essential not only for photosynthesizing organisms but for the whole Biosphere. Chlorophyll biosynthesis is closely connected with plant cell morphogenesis and photosynthetic reactions - storage and transferring of light energy. Pigment mutants of plant and microorganisms are successfully used for investigation of Chl biosynthesis and degradation pathways. The genetic approaches appeared to be very productive for identification of the genes, encoding the enzymes of Chl metabolism and for elucidation of the mechanisms there regulating. History, recent findings and evolution of genetic determination of Chl formation processes are presented in this review.

✳ **KEY WORDS:** *Chlamydomonas reinhardtii*; chlorophylls; genetics of tetrapyrrole biosynthesis

✳ REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Belyaeva O. B., Litvin F. F. 2007. *Fotoaktivnye pigment-fermentnye komplekсы predshestvennika khlorofilla v list'yakh rasteniy* [Photoactive pigment-enzyme complexes of chlorophyll precursor in plant leaves] // Biochemistry-Moscow, V. 72, pp. 1458–1477.
2. Iordansky N. N. *Evolutsiya zhizni* [Evolution of life]. Moscow: Akademiya, 2001. 425 p.
3. Ladygin, V. G. *Poluchenie i otbor mutantov odnokletochnykh vodorosley s narusheniyami tsepi fotosinteticheskogo perenos elektronov* [Production and selection of mutants of unicellular algae with disturbances in the chain of photosynthetic electron transport] // Russian J. Plant Physiology, 1976 (Sept/Oct), 23(5), p. 877–884.
4. Mirnaya O. N., Fomina-Eshenko U. G., Chunaev A. S. *Lokalizatsiya mutatsii cbn1 v pervoy gruppe stepleniya yadernykh genov Chlamydomonas reinhardtii* [Localization of the cbn-1 mutation in the linkage group I of nuclear genes of Chlamydomonas reinhardtii] // Russian J. of Genetics, 1990, 26, pp. 958–960.

5. Mironov A.F. *Biosintez prirodnikh tetrapirrollov* [Biosynthesis of tetrapyrrolic pigments] // Soros Educational Journal (Biology) 7, pp. 35–42.
6. Shestakov S.V. *Molekulyarnaya genetika fotosinteza* [Molecular genetics of photosynthesis] // Soros Educational Journal (Biology), 1998, 9, pp. 22–27.
7. Skulachev V.P. *Evolutsiya biologicheskikh mekhanizmov zapasaniya energii* [Evolution of biological mechanisms of energy conservation] // Soros Educational Journal (Biology). 1997, N 5, pp. 11–19.
8. Chekunova E. M., Kvitko K. V. *Geneticheskoye izucheniye mutantov Chlamydomonas, nakaplivaushih protoporphyrin IX* [Genetic study of Chlamydomonas mutants accumulated protoporphyrin IX]. Leningrad University Press., 1986. Issledovaniya po genetike, N 10, pp. 104–112, (Russ. edit).
9. Chekunova E. M., Savelieva N. V. *Gen LTS3 kontroliрует svetonezavisimyy biosintez khlorofilla u zelenoy vodorosli Chlamydomonas reinhardtii* [The gene LTS3 controls light independent chlorophyll biosynthesis in green algae Chlamydomonas reinhardtii] // Ecological genetics, 2010, V. 8(2), pp. 35–44.
10. Shalygo N.V., Chekunova E.M., Chunaev A.S., Averina N.G. *Analiz sostava porfirinov v mutantakh Chlamydomonas reinhardtii* [Analysis of content of porphyrins in Chlamydomonas reinhardtii mutants] // Izvestiya Acad. of Science BSSR, ser. Biology, 1990, N 4, pp. 53–57.
11. Shalygo N.V. *Biosyntez khlorofylla i fotodinamicheskie proshchessu v rasteiyyah* [Biosynthesis of chlorophyll and photodynamic process in plants] Minsk, 2004. 156 p.
12. Yurina N. P., Osipenkova O. V., and Odintsova M. S. *Tetrapirrolly vysshikh rasteniy: biosintez, ego regulyatsiya i ikh rol' v peredache retrogradnykh signalov* [Higher Plant Tetrapyrrols: Their Biosynthesis and Its Regulation, Tetrapyrrol Role in Transmission of Retrograde Signals] // Russian journal of plant physiology, 2012, vol. 59 (1), pp. 3–16.
13. Adhikari N.D., Froehlich J.E., Strand D.D. et al., 2011. GUN4-Porphyrin Complexes Bind the ChlH/GUN5 Subunit of Mg-Chelatase and Promote Chlorophyll Biosynthesis in Arabidopsis // Plant Cell. Vol. 23(4). P. 1449–145
14. Alawady A, Reski R, Yaronskaya E, Grimm B., 2005. Cloning and expression of the tobacco CHLM sequence encoding Mg protoporphyrin IX methyltransferase and its interaction with Mg chelatase // Plant Mol. Biol. Vol. 57(5). P. 679–691.
15. Alefounder P.R., Abell C., Battersby A.R., 1988. The sequence of *hemC*, *hemD* and two additional *E. coli* genes // Nucleic acid Res. Vol. 16(20). P. 9871.
16. Apchelinov A.A., Soldatova O.P., Ezhova T.A. et al., 2007. The analysis of the *Chl1 1* and *Chl1 2* genes using acifluorfen-resistant mutant of *Arabidopsis thaliana* // Planta. Vol. 225(4). P. 935–943.
17. Armstead I., Donnison I., Aubry S. et al., 2006. From crop to model to crop: identifying the genetic basis of the staygreen mutation in the Lolium/Festuca forage and amenity grasses // New Phytol. Vol. 172. P. 592–597.
18. Armstead I., Donnison I., Aubry S. et al., 2007. Cross-species identification of Mendel's locus // Science. Vol. 315. N 5. P. 73
19. Armstrong G.A., 1998. Greening in the dark: light-independent chlorophyll biosynthesis from anoxygenic photosynthetic bacteria to gymnosperms // J. Photochemistry and Photobiology B: Biology. Vol. 43. P. 87–100.
20. Astner I., Schulze J.O., van den Heuvel J. et al., 2005. Crystal structure of 5-aminolevulinate synthase, the first enzyme of heme biosynthesis, and its link to XLSA in humans // EMBO. Vol. 24. P. 3166–3177.
21. Aubry S., Mani J. and Hörtensteiner S., 2008. Stay-green protein, defective in Mendel's green cotyledon mutant, acts independent and upstream of pheophorbide a oxygenase in the chlorophyll catabolic pathway // Plant Mol. Biol. Vol. 67. P. 243–256.
22. Barry C.S., McQuinn R.P., Chung et al., 2008. Amino acid substitutions in homologs of the STAY-GREEN protein are responsible for the green-flesh and chlorophyll retainer mutations of tomato and pepper // Plant Physiol. V. 147. P. 179–187.
23. Battistuzzi F. U., Feijao A., Hedges S.B., 2004. A genomic timescale of prokaryote evolution: insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land // BMC Evol Biol. Vol. 4. P. 44.
24. Beale S.I., 1999. Enzymes of chlorophyll biosynthesis // Photosynthesis research. Vol. 60. P. 43–73.
25. Beerling D.J., Berner R.A., 2005. Feedbacks and the coevolution of plants and atmospheric CO₂ // Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. Vol. 102. P. 1302–1305.
26. Berkner L. V., Marshall L. C., 1965. On the origin and rise of oxygen in the Earth's atmosphere // J. Atmosph Sci. Vol. 22. P. 225–261.
27. Block M.A., Tewari A.K., Albrieux C. et al., 2002. The plant S-adenosyl-L-methionine: Mg-protoporphyrin IX methyltransferase is located in both envelope and thylakoid chloroplast membranes // Eur. J. Biochemistry. Vol. 269(1). P. 240–248.
28. Bollivar D.W., Suzuki J.Y., Beatty T. et al., 1994. Direct mutational analysis of bacteriochlorophyll a biosynthesis in *Rhodobacter capsulatus* // J. Molecular Biology. Vol. 237. P. 622–640.
29. Brancaloni V., Dipierro E., Ausenda S. et al., 2007. Novel human pathological mutations. Gene symbol: UROD. Disease: porphyria, cutaneous // Hum. Genet. Vol. 122(3–4). P. 415.
30. Brockmann H. and Lipinski A., 1983. Bacteriochlorophyll g. A new bacteriochlorophyll from *Heliobacterium*

- chlorum* // Arch. of Microbiology. Vol. 136. P. 17–19.
31. Cha K.W., Lee Y.J., Koh H.J., et al., 2002. Isolation, characterization, and mapping of the stay green mutant in rice // Theor. Appl Genet. Vol. 104. P. 526–532.
 32. Chekunova E., Papenbrock J., Voronetskaya V. et al., 2001. Molecular characterization of *Chlamydomonas reinhardtii* mutants defective in H subunit of Magnesium chelatase // Mol. Genet. Genomics. Vol. 266. P. 363–373.
 33. Chen M., Schliep M., Willows R. D. et al., 2010. A Red-Shifted Chlorophyll // Science. Vol. 329. P. 1318–1319.
 34. Deusch O., Landan G., Roettger M. et al., 2008. Genes of cyanobacterial origin in plant nuclear genomes point to a heterocyst-forming plastid ancestor // Mol Biol Evol. Vol. 25(4) P. 748–761.
 35. Falciatore A., Merendino L., Barneche F. et al., 2005. The FLP proteins act as regulators of chlorophyll synthesis in response to light and plastid signals in *Chlamydomonas* // Genes Dev. Vol. 19(1). P. 176–187.
 36. Frei R., Gaucher C., Poulton S.W., Canfield D.E., 2009. Fluctuations in Precambrian atmospheric oxygenation recorded by chromium isotopes // Nature. Vol. 461. P. 250–253.
 37. Foley T., Dzelzkalns V., Beale S.I., 1982. Delta-Aminolevulinic acid synthase of *Euglena gracilis*: Regulation of Activity // Plant Physiology. Vol. 70. P. 219–226.
 38. Garcia-Gil L., Gich F.B., Fuentes-Garcia X., 2003. A comparative study of bchG from green photosynthetic bacteria // Arch. Microbiology. Vol. 179(2). P. 108–115.
 39. Gibson L.C., Willows R.D., Kannangara C.G. et al., 1995. Magnesium-protoporphyrin chelatase of *Rhodobacter sphaeroides*: reconstitution of activity by combining the products of the bchH, -I, and -D genes expressed in *Escherichia coli* // PNAS USA. Vol. 92(6). P. 1941–1944.
 40. Granick S., 1950. The structural and functional relationships between heme and chlorophyll // Harvey lectures. Vol. 44. P. 220–245.
 41. Granick S., 1959. Magnesium porphyrin formed by barley seedlings treated with 5-aminolevulinic acid // Plant Physiology. 1959. Suppl. 34, xviii.
 42. Gray J., Close P.S., Briggs S.P., Johal G.S., 1997. A novel suppressor of cell death in plants encoded by the *Lls1* gene of maize // Cell. Vol. 89. P. 25–31.
 43. Grimm B., Bull A., Welinder K.G. et al., 1989. Purification and partial amino acid sequence of the glutamate 1-semialdehyde aminotransferase of barley and *Synechococcus* // Carlsberg Res Commun. Vol. 54(2). P. 67–79.
 44. Grimm B., Bull A., Breu V., 1991. Structural genes of glutamate 1-semialdehyde aminotransferase for porphyrin synthesis in a cyanobacterium and *Escherichia coli* // Mol. Gen. Genetics. Vol. 225. P. 1–10.
 45. Hadson A., Carpenter R., Doyle S., Coen E.S., 1993. Olive: a key gene require for chlorophyll biosynthesis in *Antirrhinum majus* // EMBO J. Vol. 12. P. 3711–3709.
 46. Hanaoka M., Kanamaru K., Fujiwara M., et al., 2005. Glutamyl-tRNA mediates a switch in RNA polymerase use during chloroplast biogenesis // EMBO J. Vol. 6(6). P. 545–552.
 47. Hansson M., Hederstedt L., 1994. Bacillus subtilis HemY is a peripheral membrane protein essential for protoheme IX synthesis which can oxidize coproporphyrinogen III and protoporphyrinogen IX // J. Bacteriology. Vol. 176(19). P. 5962–5970.
 48. Hendry G.A.F., Houghton J.D., Brown S.B., 1987. The degradation of chlorophyll: a biological enigma // New Phytology. Vol. 107. P. 255–302.
 49. Hill K.L. and Merchant S., 1995. Coordinate expression of coproporphyrinogen oxidase and cytochrome c6 in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in response to changes in copper availability // EMBO J. Vol. 14(5). P. 857–865.
 50. Hirono Y., Redei G.P., 1963. Multiple allelic control of chlorophyll b level in *Arabidopsis thaliana* // Nature. Vol. 197, P. 1324–1325.
 51. Holtorf H., Apel K., 1996. The regulation of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductases A and B in green barley plants kept under a diurnal light/dark cycle // Planta. Vol. 199. P. 289–295.
 52. Hörtensteiner S., 1999. Chlorophyll breakdown in higher plants and algae // Cell. Mol. Life Sci. Vol. 56. P. 330–347.
 53. Hörtensteiner S., 2006. Chlorophyll degradation during senescence // Annu. Rev. Plant Biol. Vol. 57. P. 55–77.
 54. Huang D.-D., Wang W.-Y., Gough S.P., Kannangara C.G., 1984. 5-Aminolevulinic acid-synthesizing enzymes need an RNA moiety for activity // Science. Vol. 225. P. 1482–1484.
 55. Ikegami A., Yoshimura N., Motohashi K. et al., 2007. The CHLI1 subunit of *Arabidopsis thaliana* magnesium chelatase is a target protein of the chloroplast thioredoxin // J. Biol. Chem. Vol. 282. P. 19282–19291.
 56. Ilag L.L., Jahn D., Eggertsson G., Söll D., 1991. The *Escherichia coli* HemL gene encodes glutamate 1-semialdehyde aminotransferase // J. Bacteriology. Vol. 173. P. 3408–3413.
 57. Jacobs J.M. and Jacobs N.J., 1987. Oxidation of protoporphyrinogen to protoporphyrin, a step in chlorophyll and haem biosynthesis. Purification and partial characterization of the enzyme from barley organelles // Biochem J. Vol. 244(1). P. 219–224.
 58. Jakob-Wilk D., Holland D., Goldschmidt E.E. et al., 1999. Chlorophyll breakdown by chlorophyllase: isolation and functional expression of the Chlase1 gene from ethylene-treated Citrus fruit and its regulation during development // Plant J. Vol. 20. P. 653–661.
 59. Jones M.C., Jenkins J.M., Smith A.G., Howe C.J., 1994. Cloning and characterisation of genes for tetrapyrrole biosynthesis from cyanobacterium *Anacystis nidulans* R2 // Plant Mol. Biology. Vol. 24(3). P. 435–448.

60. Kiel J.A., Ten Berge A.M., Venema G., 1992. Nucleotide sequence of the *Synechococcus* sp. PCC7942 *hemE* gene encoding the homologue of mammalian uroporphyrinogen decarboxylase // DNA Sequencing Mapping. Vol. 2(6). P. 415–418.
61. Kleine T., Voigt C., Leister D., 2009. Plastid signalling to the nucleus: messengers still lost in the mists? // Trends Genet. Vol. 25. P. 185–192.
62. Koncz C., Mayerhofer R., Koncz-Kalman Z. et al., 1990. Isolation of a gene encoding a novel chloroplast protein by T-DNA tagging in *Arabidopsis thaliana* // EMBO J. Vol. 9. P. 1337–1346.
63. Kruse E., Mock H.P., Grimm B., 1995. Coproporphyrinogen III oxidase from barley and tobacco — sequence analysis and initial expression studies // Planta. Vol. 196(4). P. 796–803.
64. Kusaba, M., Ito, H., Morita, R. et al., 2007. Rice Non-yellow coloring1 is involved in light-harvesting complex II and grana degradation during leaf senescence // Plant Cell. Vol. 19. P. 1362–1375.
65. Lee K.P., Kim C., Lee D.W., Apel K., 2003. TIGRINA d, required for regulating the biosynthesis of tetrapyrroles in barley, is an ortholog of the FLU gene of *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. Vol. 553(1–2). P. 119–124.
66. Lermontova I., Kruse E., Mock H.-P., Grimm B., 1997. Cloning and characterization of a plastidal and a mitochondrial isoform of tobacco protoporphyrinogen IX oxidase // PNAS, USA. Vol. 94. P. 8895–8900.
67. Levicán G., Katz A., Valenzuela P. et al., 2005. A tRNA (Glu) that uncouples protein and tetrapyrrole biosynthesis // FEBS Letters. Vol. 579(28). P. 6383–6387.
68. Li G.-M., Russell C.S., Cosloy S.D., 1989. Cloning and structure of the hemA gene of *Escherichia coli* K-12 // Gene. Vol. 82. P. 209–217.
69. Li J., Timko M.P., 1996. The pc-1 phenotype of *Chlamydomonas reinhardtii* results from a deletion mutation in the nuclear gene for NADPH protochlorophyllide oxidoreductase // Plant. Mol. Biol. Vol. 30. P. 15–37.
70. Lürer C., Schauer S., Möbius K., et al., 2005. Complex formation between Glutamyl-tRNA Reductase and Glutamate-1-semialdehyde 2,1-Aminomutase in *Escherichia coli* during the Initial Reactions of Porphyrin Biosynthesis // The J. of Biological Chemistry. Vol. 280(19). P. 18568–18572.
71. Lundqvist J., Elmlund H., Wulff R.P. et al., 2010. ATP-induced conformational dynamics in the AAA+ motor unit of magnesium chelatase // Structure. Vol. 18. P. 354–365.
72. Madsen O., Sandal L., Sandal N.N., Varcker K.A., 1993. A soybean coproporphyrinogen oxidase gene is highly expressed in root nodules // Plant Molecular Biology. Vol. 23(1). P. 35–43.
73. Masuda T., Suzuki T., Shimada H. et al., 2003. Subcellular localization of two types of ferrochelatase in cucumber // Planta. Vol. 217(4). P. 602–609.
74. Masuda T., Fujita Y., 2008. Regulation and evolution of chlorophyll metabolism // Photochem Photobiol Science. Vol. 7. P. 1131–1149.
75. Matile P., Hörtensteiner S., Thomas H., Kräutler B., 1996. Chlorophyll breakdown in senescent leaves // Plant Physiol. Vol. 112. P. 1403–1409.
76. Matters G.L., Beale S.I., 1995. Structure and expression of the *Chlamydomonas reinhardtii* *alad* gene encoding the chlorophyll biosynthetic enzyme, delta-aminolevulinic acid dehydratase (porphobilinogen synthase) // Plant Mol Biol. Vol. 27(3). P. 607–617.
77. McCormac A.C., Fischer A., Kumar A.M. et al., 2001. Regulation of HEMA1 expression by phytochrome and a plastid signal during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. Vol. 25(5). P. 549–561.
78. Meinecke L., Alawady A., Schroda M. et al., 2010. Chlorophyll-deficient mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* that accumulate magnesium protoporphyrin IX // Plant Mol. Biol. Vol. 72(6). P. 643–658.
79. Mendel G., 1886. Versuche ueber Pflanzen-Hybriden. Transactions of Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brunn (1885), IV, P. 3–270 (Extracts republished. BMJ 1965; P. 367–374.
80. Meskauskiene R., Nater M., Goslings D. et al., 2001. FLU: a negative regulator of chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* // PNAS, USA. Vol. 98(22). P. 12826–31.
81. Mock H.P., Trainotti L., Kruse E., Grimm B., 1995. Isolation, sequencing and expression of cDNA sequences encoding uroporphyrinogen decarboxylase from tobacco and barley // Plant. Mol. Biol. Vol. 28(2). P. 245–256.
82. Moseley J., Quinn J., Eriksson M., Merchant S., 2000. The Crd1 gene encodes a putative di-iron enzyme required for photosystem I accumulation in copper deficiency and hypoxia in *Chlamydomonas reinhardtii* // EMBO J. Vol. 19(10). P. 2139–2151.
83. Müller A.H., Hansson M., 2009. The barley magnesium chelatase 150-kd subunit is not an abscisic acid receptor // Plant Physiol. Vol. 150(1). P. 157–166.
84. Nagata N., Tanaka R., Satoh S., Tanaka A., 2005. Identification of a vinyl reductase gene for chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana* and implications for the evolution of *Prochlorococcus species* // Plant Cell. Vol. 17(1). P. 233–240.
85. Narita S., Tanaka R., Ito T. et al., 1996. Molecular cloning and characterization of a cDNA that encodes protoporphyrinogen oxidase of *Arabidopsis thaliana* // Gene. Vol. 182(1–2). P. 169–175.
86. Nielsen O.F., 1974. Photoconversion and regeneration of active protochlorophyll (ide) in mutants defective in the regulation of chlorophyll synthesis // Arch Biochem Biophys. Vol. 160. P. 430–439.
87. Nogaj L.A., Beale S.I. 2005. Physical and kinetic interactions between glutamyl-tRNA reductase

- and glutamate-1-semialdehyde aminotransferase of *Chlamydomonas reinhardtii* // J. Biol. Chemistry. Vol. 280(26). P. 24 301–24 307.
88. Nomata J, Mizoguchi T, Tamiaki H, Fujita Y. A second nitrogenase-like enzyme for bacteriochlorophyll biosynthesis: reconstitution of chlorophyllide a reductase with purified X-protein (BchX) and YZ-protein (BchY-BchZ) from *Rhodobacter capsulatus* // J. Biol. Chemistry. 2006. Vol. 281(21). P. 15 021–15 028.
 89. Oosawa N., Masuda T., Awai K. et al., 2000. Identification and light-induced expression of a novel gene of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase isoform in *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. Vol. 474(2–3). P. 133–136.
 90. Osanai T., Imashimizu M., Seki A. et al., 2009. ChlH, the H subunit of the Mg-chelatase, is an anti-sigma factor for SigE in *Synechocystis* sp. PCC 6803 // PNAS, USA. Vol. 106(16). P. 6860–6865.
 91. Ouchane S., Steunov AS., Picaud M., Astier C., 2004. Aerobic and anaerobic Mg-protoporphyrin monomethyl ester cyclases in purple bacteria: a strategy adopted to bypass the repressive oxygen control system // J. Biol. Chemistry. Vol. 279(8). P. 6385–6394.
 92. Pinta V., Picaud M., Reiss-Husson F., Astier C., 2002. Rubrivivax gelatinosus acsF (previously orf358) codes for a conserved, putative binuclear-iron-cluster-containing protein involved in aerobic oxidative cyclization of Mg-protoporphyrin IX monomethylester // J. Bacteriology. Vol. 184(3). P. 746–753.
 93. Pontier D., Albrieux C., Joyard J. et al., 2007. Knock-out of the magnesium Protoporphyrin IX methyltransferase gene in *Arabidopsis*: effects on chloroplast development and on chloroplast-to nucleus signaling. // J. Biol. Chemistry. Vol. 284. P. 2297–2304.
 94. Pontoppidan B., Kannangara C.G., 1994. Purification and partial characterization of barley glutamyl-tRNA (Glu) reductase, the enzyme that directs glutamate to chlorophyll biosynthesis // Eur J. Biochem. Vol. 225(2). P. 529–37.
 95. Pruzinská A., Anders I., Aubry S., Schenk N., Taper-noux-Lüthi E., Müller T., Kräutler B., Hörtensteiner S., 2007. *In vivo* participation of red chlorophyll catabolite reductase in chlorophyll breakdown // Plant Cell. Vol. 1. P. 369–387.
 96. Quesada V., Sarmiento-Mañús R., González-Bayón R. et al., 2013. Porphobilinogen deaminase deficiency alters vegetative and reproductive development and causes lesions in *Arabidopsis* // Plos ONE 8(1): e53378. Doi:10.1371/journal.pone.0053378.
 97. Randolph-Anderson B. L., Sato R., Johnson A. M. et al., 1998. Isolation and characterization of a mutant protoporphyrinogen oxidase gene from *Chlamydomonas reinhardtii* conferring resistance to porphyrin herbicides // Plant. Mol. Biol. Vol. 38. P. 839–859.
 98. Raven J.A., 1986. Evolution of plant life forms // On the economy of plant form and function / Givnish T.J., editor, New York: Cambridge University Press. P. 421–492.
 99. Rebeiz C.A., Parham R., Fasoula D.A., Ioannides I.M., 1994. Chlorophyll a biosynthetic heterogeneity // “The biosynthesis the tetrapyrrole pigments”, Ciba Foundation Symposium / eds.: Chadwick D.J. and Ackrill K. Vol. 180. P. 177–189.
 100. Reinbothe S., Reinbothe Ch. 1996. Regulation of chlorophyll biosynthesis in angiosperms // Plant Physiology. Vol. 111. P. 1–7.
 101. Săsărman A., Surdeniu M., Szegli G. et al., 1968. Hemin-deficient mutants of *Escherichia coli* K-12. // J. of Bacteriology. Vol. 96, N 2. P. 570–572.
 102. Săsărman A., Letowski J., Czaika G. et al., 1993. Nucleotide sequence of the hemG gene involved in the protoporphyrinogen oxidase activity of *Escherichia coli* K12 // Can.J. Microbiology. Vol. 39 (12). P. 1155–1161.
 103. Sato, Y., Morita R., Nishimura M. et al., 2007. Mendel's green cotyledon gene encodes a positive regulator of the chlorophyll-degrading pathway // PNAS, USA. Vol. 104. P. 14 169–14 174.
 104. Schelbert S., Aubry S., Burla B. et al., 2009. Pheophytin pheophorbide hydrolase (pheophytinase) is involved in chlorophyll breakdown during leaf senescence in *Arabidopsis* // Plant Cell. Vol. 21. P. 767–785.
 105. Schen N., Schelbert S., Kanwischer M. et al., 2007. The chlorophyllases AtCLH1 and AtCLH2 are not essential for senescence-related chlorophyll breakdown in *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. Vol. 581. P. 5517–5525.
 106. Schulz R., Steinmüller K., Klaas M. et al., 1989. Nucleotide sequence of a cDNA coding for the NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase (PCR) of barley (*Hordeum vulgare* L.) and its expression in *Escherichia coli* // Molecular and General Genetics. Vol. 217. P. 355–361.
 107. Sharif A.L., Smith A.G., Abell C., 1989. Isolation and characterisation of a cDNA clone for a chlorophyll synthesis enzyme from *Euglena gracilis*. The chloroplast enzyme hydroxymethylbilane synthase (porphobilinogen deaminase) is synthesised with a very long transit peptide in *Euglena* // Eur. J. Biochem. Vol. 184(2) P. 353–359.
 108. Shen Y.Y., Wang X.F., Wu F.Q. et al., 2006. The Mg-chelatase H subunit is an abscisic acid receptor // Nature. Vol. 443. P. 823–826.
 109. Simpson D., Machold O., Hoyer-Hansen G., von Wettstein D. 1985. Chlorina mutants of barley (*Hordeum vulgare* L.) // Carlsberg Research Communication. Vol. 50. P. 223–238.
 110. Sirijovski N., Lundqvist J., Rosenbäck M. et al., 2008. Substrate-binding model of the chlorophyll biosynthetic magnesium chelatase BchH subunit // J. Biol. Chem. Vol. 283(17). P. 11 652–11 660.

111. Skinner J.S., Timko M.P., 1999. Differential expression of genes encoding the light-dependent and light-independent enzymes for protochlorophyllide reduction during development in loblolly pine // *Plant Mol. Biology*. Vol. 39(3). P. 577–592.
112. Smith C.A., Suzuki J.Y., Bauer C.E., 1996. Cloning and characterization of the chlorophyll biosynthesis gene chlM from *Synechocystis* PCC 6803 by complementation of a bacteriochlorophyll biosynthesis mutant of *Rhodobacter capsulatus* // *Plant Mol. Biology*. Vol. 30(6). P. 1307–1314.
113. Sobotka R., Dühring U., Komenda J. et al., 2008. Importance of the cyanobacterial Gun4 protein for chlorophyll metabolism and assembly of photosynthetic complexes // *J Biol Chem*. Vol. 283(38). P. 25794–25802.
114. Srivastava A., Lake V., Nogai L.A. et al., 2005. The *Chlamydomonas reinhardtii* gtr gene encoding the tetrapyrrole biosynthetic enzyme glutamyl-trna reductase: structure of the gene and properties of the expressed enzyme // *Plant Mol. Biology*. Vol. 58(5). P. 643–658.
115. Stange-Thomann N., Thomann H. U., Lloyd A. J. et al., 1994. A point mutation in *Euglena gracilis* chloroplast tRNA (Glu) uncouples protein and chlorophyll biosynthesis // *PNAS, USA*. Vol. 91. P. 7947–7951.
116. Suzuki T., Kunieda T., Murai F. et al., 2005. Mg-dechelation activity in radish cotyledons with artificial and native substrates, Mg-chlorophyllin a and chlorophyllide a // *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 5. P. 459–64.
117. Tanaka A., Ito H., Tanaka R. et al., 1998. Chlorophyll a oxygenase (CAO) is involved in chlorophyll b formation from chlorophyll a // *PNAS, USA*. Vol. 95(21). P. 12719–12723.
118. Tanaka R., Tanaka A., 2007. Tetrapyrrole biosynthesis in higher plants // *Annu. Rev. Plant Biology*. Vol. 58. P. 321–346.
119. Thomas H., Huang L., Young M., Ougham H., 2009. Evolution of plant senescence // *BMC Evol Biol.*, 9:163 (doi:10.1186/1471–2148–9-163).
120. Timko M.P., 1998. Pigment Biosynthesis: chlorophylls, heme and carotenoids. // *The Molecular biology of chloroplasts and mitochondria in Chlamydomonas* / eds: J-D. Rochaix, M. Goldschmidt-Clermont and S. Merchant, Kluwer Academic Publishers. P. 377–414.
121. Tottey, S., Block, M.A., Allen et al., 2003. Arabidopsis CHL27, located in both envelope and thylakoid membranes, is required for the synthesis of protochlorophyllide // *PNAS USA*. Vol. 100. P. 16119–16124.
122. Tsuchiy, T., Ohta H., Okawa K. et al., 1999. Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: Finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate // *PNAS, USA*. Vol. 96. P. 15362–15367.
123. Walker C.J., Willows R.D., 1997. Mechanism and regulation of Mg-chelatase // *Biochem J*. Vol. 327. P. 321–33.
124. Wang W., Boynton J.E., Gillham N.W., 1974. Genetic control of chlorophyll biosynthesis in *Chlamydomonas*. Analysis of mutants of two loci mediating the conversion of protoporphyrin-IX to magnesium protoporphyrin // *J. Cell Biol*. Vol. 63(3). P. 806–823.
125. Willstätter, R. and Stoll A., 1913. Die Wirkungen der chlorophyllase // *Untersuchungen ueber chlorophyll*. Berlin: Springer. P. 172–187.
126. Wulff D.L., 1967. δ -aminolevulinic acid-requiring mutant from *Escherichia coli* // *J. Bacteriology*. Vol. 93. P. 1473–1474.
127. Xiong J., Bauer C.E., 2002. Complex evolution of photosynthesis // *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 53. P. 503–521.
128. Xu K., Elliott T., 1993. An oxygen-dependent coproporphyrinogen oxidase encoded by the hemF gene of *Salmonella typhimurium* // *J. Bacteriology*. Vol. 175(16). P. 4990–4999.
129. Xu K. and Elliott T., 1994. Cloning, DNA sequence, and complementation analysis of the *Salmonella typhimurium hemN* gene encoding a putative oxygen-independent coproporphyrinogen III oxidase. // *J. Bacteriology*. Vol. 176(11). P. 3196–3203.
130. Yang Z., Bauer C.E., 1990. *Rhodobacter capsulatus* genes involved in early steps of bacteriochlorophyll biosynthesis // *J. Bacteriology*. Vol. 172. P. 5001–5010.
131. Zsebo K.M., Hearst J.E., 1984. Genetic-physical mapping of a photosynthetic gene cluster from *R. capsulata* // *Cell*. Vol. 37. P. 937–947.

✉ Информация об авторе

Чекунова Елена М. — Кафедра генетики и биотехнологии биолого-почвенного факультета. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9.

Chekunova Elena M. — Department of Genetics and Biotechnology. Saint-Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab, 7/9. Russia.