



LUNDS UNIVERSITET 1993

# LUNDAFORSKARE FÖRELÄSER

---

LUND UNIVERSITY PRESS



J  
I  
-  
N  
s  
n  
e  
f  
b  
v  
b

JOHN F ALLEN

# Fotosyntes

## – evolutionens mirakulösa ingenjörskonst

Modern biologi är ett komplext och snabbt växande område, där nya forskningsresultat utmanar konventionellt tänkande nästan varje dag. De detaljrika forskningsframstegen handlar om livsbetingelsernas fundamentala egenskaper, av vilka livet så som vi förstår det är totalt beroende. Sådana grunddrag måste ha upp-

stått mycket tidigt under evolutionen, kanske strax efter livets uppkomst.

Fotosyntes är en sådan grundläggande egenskap. Fotosyntes är omvandlingen av solljusets energi till en form av energi som kan lagras och användas av alla levande varelser. Det är bara växter och några bakterier som

kan utföra fotosyntes; de förser allt djurliv inklusive oss människor och sig själva med energi. Dessutom använder människan idag energi från utdöda regnskogar som under årmiljonernas lopp omvandlats till olja, kol och naturgas. Dessa energiformer uppstod en gång för mycket länge sedan genom fotosyntes.



*JOHN F. ALLEN föddes i Newport, Gwent, Storbritannien 1950. Han avlade B Sc examen i biologi (1972) och Ph D examen i växtbiokemi (1975) vid King's College vid Londons universitet. Därefter började han vid Oxfords universitet som forskarassistent vid brittiska Science and Engineering Research Council, varvid han fortsatte på den inslagna forskningslinjen, som han påbörjat i London under sin studietid som doktorand; superoxidradikalen och syrereduktion under fotosyntesen i isolerade kloroplaster.*

*1979 började Allen en forskarassistenttjänst vid institutionen för biologi vid Warwicks universitet. Här och under ett besök vid Illinois universitet i Urbana 1980, upptäckte Allen styrningen av proteinfosforylering i kloroplaster genom redox-tillståndet av plastokinon, en komponent i fotosyntesens elektrontransportkedja.*

*Under åren 1983-90 innehade Allen ett*

*"lectureship" vid institutionen för tillämpad biologi vid Leeds universitet och åren 1986-87 erhöll han Nuffield Foundations Vetenskapliga stipendium, vilket möjliggjorde en period som gästforskare vid Laboratoriet för Kemisk biodynamik vid California universitetet i Berkeley. 1990 fick Allen professuren i växtfysiologi vid Oslo universitet i Norge.*

*Allens forskning har varit interdisciplinär och har fokuserats på proteinfosforylering och dess regulativa effekt på fotosyntes i kloroplaster och i fotosyntetiserande bakterier. Forskningsgruppen som han byggde upp i Leeds var först med att identifiera flera bakteriella fosforproteiner med generell betydelse för kontrollen av protein-protein interaktioner och genexpression.*

*John F. Allen utnämndes att vara professor i växtcellbiologi vid Lunds universitet från 1 maj 1992.*

Fotosyntesforskningen ger oss möjligheten att få en klarare insikt i den centrala livsprocess som har format vår planets historia och atmosfär. Därmed växer vår kunskap och berikar vårt liv och kultur. Den nya kunskapen om fotosyntesen kommer att kunna användas inom en mängd nya områden. När vi släpper ut det förhistoriska kollagret genom att bränna fossilt bränsle ändrar vi oavsiktligt atmosfärens sammansättning. Vad blir konsekvenserna? Spelar det någon roll? Vad kan vi i så fall göra åt det?

I takt med att vi blir allt fler på vår jord kommer nya matresurser att krävas. Hur förmår man grödor att i framtiden växa på platser där de ej kan växa idag? Eftersom vi nu tömmer jordens lager av fossilt bränsle, kommer vi i framtiden att kunna ta energi direkt från solljuset?

Med större kunskaper om fotosyntesen kan sådana frågor besvaras, men det är inte alls säkert. Forskningen lägger fram ny kunskap, och vad som återstår att upptäcka på gott och ont beror på världens uppbyggnad, därför är det omöjligt att veta något om framtiden. Att försöka styra vetenskapen så att den bara leder till användbar kunskap är meningslöst, ja förödande – för att kunna veta vad som är användbart måste vi ju först ha själva kunskapen. Vetenskapen visar oss världen som den är och inte som vi skulle vilja ha den. Världen är likgiltig inför våra problem, hopp och fruktan. Som Pasteur uttryckte det, det finns ingen tillämpad vetenskap, bara vetenskapen och dess tillämpningar.

### *En modell för livet*

Den fotosyntetiska apparaten hos växter

och många bakterier jonglerar med farlig kemi, exempelvis reaktionen som omvandlar vatten till det syre som vi andas. Denna reaktion sker i en säker, förnybar och anpassad miljö av proteiner och biologiska membran, som hos växtcellerna är lokaliserade i " gröna boxar " – kloroplaster. Dessa gröna maskiner bär vittnesbörd om evolutionens förmåga till mirakulös ingenjörskonst. Forskningsgrupper i Martinsried i Tyskland och i Uppsala har under det senaste årtiondet beskrivit molekylära strukturer för två av många fundamentala proteinkomponenter i den fotosyntetiska apparaten. Molekylär genetik tillåter "proteinmanipulation", det vill säga att förändra proteinernas strukturer så att man kan få svar på generella frågor beträffande förhållandet mellan proteinernas struktur och funktion. Hos bakterier regleras generna för syntes av fotosynteskomponenter av både ljus och syre. Detta sker uppenbarligen vid samma ställe och med hjälp av en enkel genetisk strömbrytare. Hos växterna kräver fotosyntesen den koordinerade operationen av tre distinkt skilda genetiska system, varav ett är lokaliserat i kloroplasten där fotosyntesen också sker.

Det är ett stort mysterium inom cellevolutionen varför generna för vissa foto-



Fig 1 a

syntetiska proteiner har bevarats i kloroplasten, medan andra kloroplastgener har överförts till cellkärnan under evolutionens gång

Detta är bara några exempel som illustrerar nödvändigheten av att studera fotosyntesen. Dessutom kastar detta forskningsområde nytt ljus över några stora frågor som i sig själva är generellt viktiga för vetenskapen och fyllda av potentiella



Fig 1 b

*Figur 1.*  
När ljuset silas genom trädkronorna (figur 1a), utsätts undervegetationen för variationer (figur 1b) i ett tidsperspektiv av sekunder (när det blåser i trädkronan), minuter (när solen förflyttar sig över himmelen), timmar (molntäcke), dagar (dag och natt) samt genom årstiderna.

*Fosforylering av de klorofyllbindande proteinerna anpassar cellen till ljuset inom sekunder och minuter.*

*Fosforylering av proteiner som slår av och på gener tar hand om mer långsiktiga anpassningar. Alger och bakterier i sjöar och hav är utrustade med liknande mekanismer.*

tillämpningar. Genom att förstå på vilket sätt fotosyntetiska proteiner samverkar med varandra kommer vi eventuellt att förstå hur alla proteiner samverkar med varandra. Detta kommer i sin tur att ge oss ledtrådar med oändliga möjligheter inom medicin och jordbruket. Gener som uttrycker fotosyntetiska proteiner är gener vilka som helst och det sätt på vilket de regleras kan komma att säga oss lika mycket om människans utveckling som om nya möjligheter för avfallssanering. Fotosyntesen kom till tidigt under evolutionen och dess lösningar på problem som reglering, anpassning och uttryck av gener var tillgängliga för andra processer i takt med att de utvecklades. Fotosyntes är i sig själv intressant och dessutom ett fantastiskt biologiskt modellsystem. Fotosyntesforskning är en av spjutspetsarna inom biologin.

### *Cellsam termostat*

Ett av våra intressen inom avdelningen för växtcellbiologi här i Lund grundar sig på Dr John Bennett (Warwick University, England) upptäckt att klorofyllbindande proteiner modifieras i den levande cellen genom fastsättning av fosfat. Denna fosforylering av proteiner är en universell mekanism genom vilken proteinernas struktur och funktion kan förändras mycket snabbt så att de passar den nya omgivningens förhållanden. Genom fosforylering av de proteiner som binder det ljusskördande klorofyllet kontrolleras några av fotosyntesens tidigaste steg. Därigenom fördelas också den absorberade ljusenergin mellan olika energiomvandlande reaktionscentra hos gröna växter. Ett av mina egna bidrag till forskningen från tiden i Bennetts grupp har

varit att visa att fördelningen av ljusenergi kontrolleras av aktiviteten i reaktionscentrat, så att den exakta energidistributionen uppehålls genom en negativ feedbackcirkel. Det kan liknas vid hur en termostat bibehåller temperaturen i ett rum genom att sätta på värmen när rummet är kallt och stänga av den när rummet är varmt.

Denna upptäckt tycktes bara vara tillämpbar på de gröna växterna eftersom endast dessa har det speciella klorofyllprotein som blir fosforylerat. Men det har nyligen visat sig att många andra fotosyntetiserande bakterier har samma slags "termostat". Man kan observera denna process helt enkelt genom att se hur cellens fotosyntesaktivitet bibehålles även när ljusförhållandena drastiskt förändras. Med stöd från NFR är André Struglics engagerad i isolering och upprensning av en av de proteinfamiljer som utgör "termostaten". I mitt tidigare laboratorium vid Leeds universitet upptäckte vi att dessa proteiner fosforyleras i fotosyntetiserande purpurbakterier. Vår gissning är att dessa proteiner har viktiga strukturella egenskaper som liknar deras motsvarighet hos de gröna växterna.

Detta projekt är mer än molekylär frimärkssamling. Vårt mål är inte bara att bekräfta fosforproteinernas vara eller inte vara hos purpurbakterierna. Vi tror att våra studier av fotosyntetiserande bakteriers membranorganisation kommer att förändra läroböckernas beskrivning av hur proteinfoforyleringen utövar sina många effekter i bakterier. I nästa sektion kommer jag att beskriva "läroboksmodellen" och vad vi tror är alternativet. Enzymerna som sätter på och tar bort fosfatet studeras här i Lund av Lüling

Cheng. Vi tror att i alla dessa system kan enzymerna reglera varandra så att i slutändan även målproteinet blir reglerat i både struktur och funktion.

### Reviderad lärobok

I vilken växtfysiologisk eller biokemisk lärobok som helst kan man hitta en redogörelse över växternas proteinfosforylerande "termostat". Vanligen försöker man förklara hur fosforylering orsakar förändringar av elektriska laddningar på membranytan. De olika klorofyllbindande proteinerna och reaktionscentrat attraherar eller repellerar varandra på samma sätt som när man gnider en ballong mot en tröja respektive när man kammar sitt torra hår en kall vintermorgon. Inom biologin har än så länge atomstrukturen blivit bestämd endast för två proteiner i såväl fosforylerad som ofosforylerad form. Det ena proteinet kommer från kaninens muskler. Fosforyleringen hjälper kaninen att mobilisera energi så att den kan springa iväg snabbare när adrenalin pumpas ut i blodet. Det andra proteinet kommer från *Escherichia coli*, den berömda tarmbakterien. Här stänger fosforyleringen av proteinet så att antalet olika molekyler som bakterien kan använda som energikälla vid tillväxten reduceras. I inget fall kontrollerar fosforyleringen den elektriska repulsionen mellan proteiner. I stället styr fosforyleringen proteininteraktioner genom att ändra de strukturer som gör att proteinerna känner igen varandra och kan påverka varandra. Vi tror att kontrollen av igenkänning mellan molekyler är grunden för regleringen av fotosyntesen hos växter och bakterier precis som den

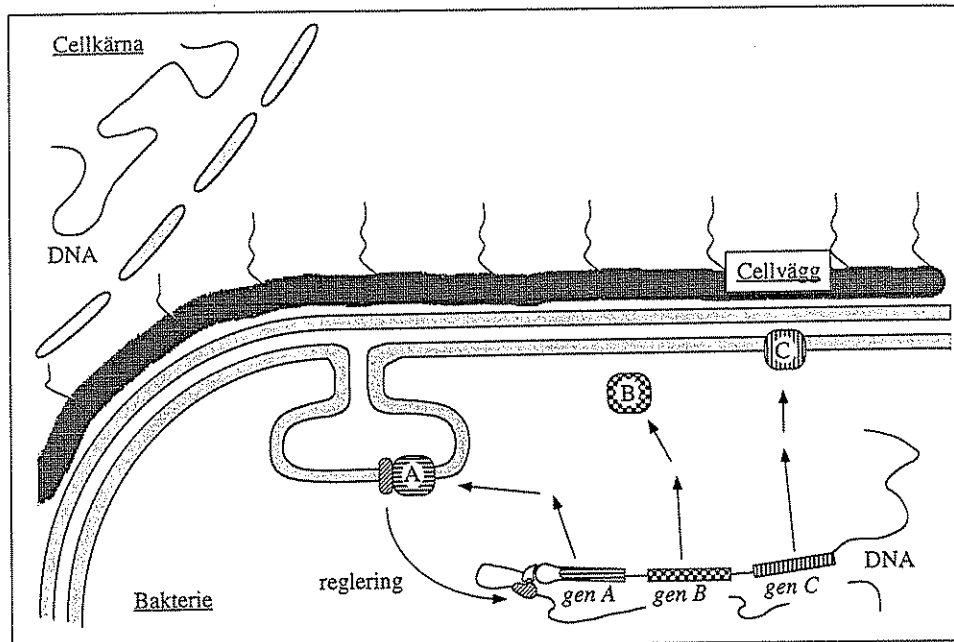


Fig 2 a

reglerar energin i kaninens muskler och tillväxten hos *E. coli*.

Dr Dalibor Stys (postdoc.-forskare med ekonomiskt stöd från NFR) har nyligen erhållit "utmanande" och informativa resultat som säger oss helt klart att ett fragment av det klorofyllbindande proteinet verkligen förändras dramatiskt i sin struktur genom fosforylering. Detta kan detekteras genom en förändring i den kärnmagnetiska resonansen hos några av fragmentets protoner eftersom de närmar sig varandra i rummet när fosfatgruppen sätts på. Denna teknik (experimentet utfördes i professor Sture Forséns laboratorium på avdelningen för fysikalisk kemi 2, Lund) har aldrig tidigare använts för att identifiera förändringar i strukturer som erhållits genom fosfory-

lering av proteiner. Experiment var det första i sitt slag här i Lund och är ännu ett exempel på värdet av modellsystemet som beskrivits tidigare.

Dr Krassimir Alexciev (postdoc.-forskare med stöd från Per-Eric och Ulla Schyberg-stiftelsen) tillverkar större fragment av detta och andra proteiner. Han kommer att förändra fosforyleringsställen hos proteinerna genom genmanipulering, så att vi kan se på vilket sätt de bestämmer proteinernas struktur. Vi har också ekonomiskt stöd från EGs forskningsprogram för samarbete med grupper i England och Tyskland. Detta samarbetsprojekt berör manipulering av den molekylära igenkänningen mellan proteiner som vi anser mer sannolik än hypotesen om elektriska laddningar i membranet.

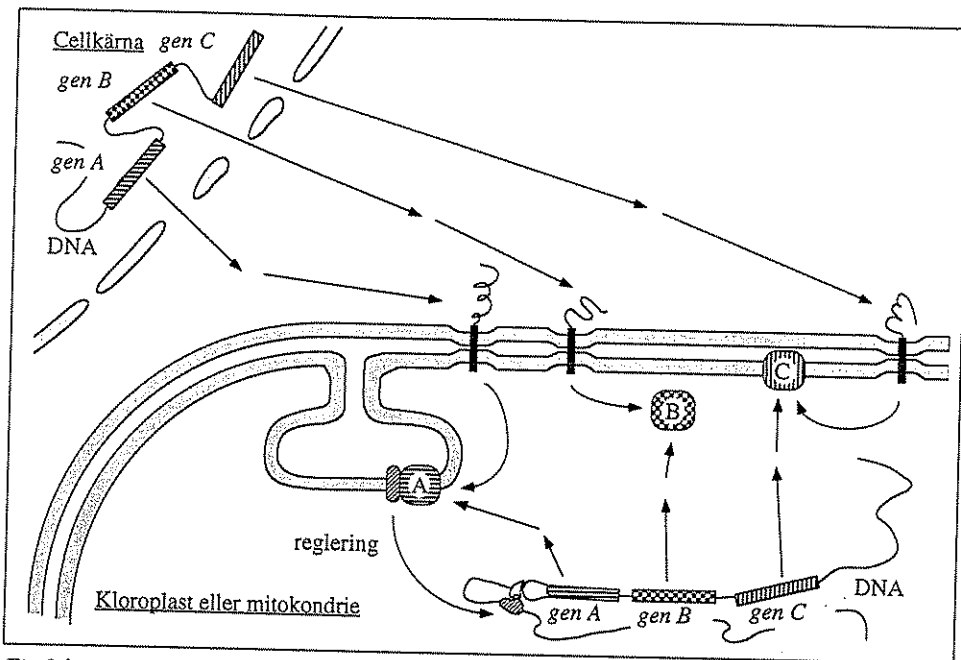


Fig 2 b

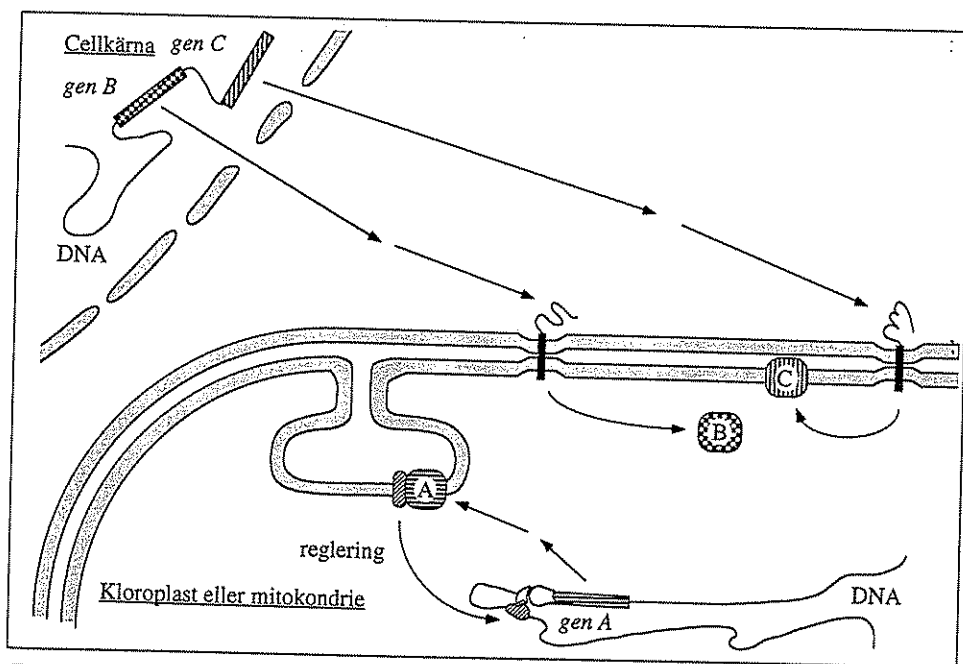


Fig 2 c

Figur 2

a). En främmande bakterie har invaderat cellen och accepteras som en funktionell del av den. Generna A, B, och C finns i den bakterie, som kommer att utvecklas till kloroplaster eller mitokondrier. Dessa gener producerar protein A, B, och C helt och hållet inom baktericellen. Genen A styrs av protein A's redoxpotential i bakteriecellens membran. Bakteriens cellmembran omsluts av den bakteriella cellväggen.

b). Generna A, B, och C finns såväl i kloroplaster och mitokondrier som i cellkärnan. Alla bakteriella gener (A, B och C) har kopierats i värdcellens kärna, och de proteiner som dessa gener producerar återvänder som precursorer till bakterien, som nu funktionellt har blivit en kloroplast eller en mitokondrie. Den bakteriella cellväggen har förlorats.

c). Genen A finns i kloroplasten eller mitokondrien, medan generna B och C finns i kärnan. För de flesta av kloroplast- och mitokondrie-proteinerna (B och C) innebär en lokalisering till kärnan av dessas gener ett effektivt alternativ till in situ-syntes, medan de ursprungliga generna går förlorade. Dock finns det en minoritet av gener (representerade av A), där det är viktigt med en nära koppling till redoxpotentialen på speciella platser i det energiomvandlande membranet. Den nukleära uppsättningen av dessa gener fortsätter att arbeta också under felaktiga omständigheter och proteiner kommer att produceras även om det skadar cellen. Den genkopia som finns kvar i kloroplasten eller mitokondrien står däremot fortfarande under redoxkontroll och har därför en selektionsfördel. Den nukleära genen kommer därför att gå förlorad. Så småningom uppnås en stabil uppdelning av det genetiska ansvaret, där kloroplasten eller mitokondrien behåller generna för de proteiner vars syntes snabbt måste kunna svara på förändringar i cellens fysiska miljö. Kärnan måste delegera.

## Intressant mångsysslare

En annan spännande upptäckt som har gjorts vid sökandet efter bakteriella fosforproteiner är ett litet signalprotein som kallas "P2". För ett par år sedan fann vi detta protein som verkade vara fosforylerat i cyanobakterier (blågröna alger) då "termostaten" för ljusenergi var påslagen. Vi satte igång med isolering, upprening och sekvensiering i tron att detta protein var ett klorofyllbindande protein. Svaret var oväntat. Det kommer kanske att visa sig att detta protein egentligen är mer intressant än vi trott. Dr Michael Harrison, som jobbade i mitt förra laboratorium i Leeds, England, lyckades rena upp tillräckligt mycket av proteinet så att det var möjligt att göra sekvensiering av proteinets aminosyror. Vi fann att proteinet hade tidigare endast hittats hos *E. coli* som självfallet inte kan utföra fotosyntes. Proteinets funktion är ett signalöverföringsprotein som känner av förändringar av tillgängligt kväve för bakterien och som därigenom styr syntes och aktivitet av de enzymer som hjälper *E. coli* att ta upp kväve. P2 verkade också vara ett slags termostat som styrs av kväve i stället för ljus. 1990 gjorde Dr Nicholas Tsinores en uppföljning av detta arbete. Han lyckades isolera genen för P2 vid en tillfällig vistelse vid Pasteur Institutet i Paris. Senare (i professor Petter Gustafssons laboratorium i Umeå) fastslog han att P2 slår på och stänger av generna för kväveupptagning hos blågröna alger som svar på både ljus och kväve.

Inom många områden inom biologin är den stora frågan vad som kontrollerar genernas uttryck. Kontrolleras de genom cellens olika faser, genom syre,



genom virusinfektioner, genom näringen eller genom ljus? Vi tror att vi med hjälp av P2 har en modell för reglering av fotosyntesgener som kan bli vida tillämpad. Kväveassimileringen hos *E. coli* visar tydligt att celler svarar på flera olika plan då de utsätts för yttre stimulans. Bildligt uttryckt: vid kyla sätter P2-termostaten på värmen och stänger samtidigt fönstret. Vi tror att ljuskontrollen av klorofyllproteinerna genom fosforylering är den omedelbara responsen, men att samma typ av ljusenergiförhållanden även sätter igång en dominoeffekt av händelser, som får gener att slås på eller stängas av för att uppnå samma sluteffekt. Det senare är en mer kostsam lösning men också mer bestående.

## Cellens byråkrati

I motsats till bakterier har växt- och djurceller ett avgränsat centralt informationslager (cellkärnan), som innehåller nästan alla cellens gener. Intressanta undantag utgörs av gener i kloroplasterna och i mitokondrierna. Dessa behöver fler gener från kärnan för att kunna kontrolleras än om de helt enkelt flyttats över till kärnan. Det kan liknas vid att en regering anställer tio människor för att administrera varje enskild person som arbetar ute i kommunerna. Varför inte rationalisera genom att föra över alla gener (lokala ämbetsmän) till det centrala lagret? Kanske svaret på frågan är att en total centralisering skulle ge ett helt inflexibelt system. De lokala förhållandena kan förändras mycket snabbt och kräver således omedelbara åtgärder, som inte kan åstadkommas lika snabbt av en centralledning även om den vore välorganiserad. Cellen, liksom regeringen, har i eget intresse delegerat besluten till ett område där deras verkan känns och behövs mest. En dansk vän, som är ekonom, råkade en gång beskriva mekanismen på ett träffande sätt. Som student åkte han en gång tåg från Östberlin till Moskva. Det var en varm dag och ändå var kupévärmen på för fullt. Han frågade konduktören om man kunde stänga av värmen men fick svaret att värmen måste vara på ända till sommaren, eftersom detta var ett sovjetiskt tåg och reglerna var sådana. Senare såg han i tidtabellen att den aktuella dagen faktiskt var den första dagen på sommaren enligt järnvägsbolagets egna beräkningar. Förbi av hetta gick han till konduktören igen och pekade på tidtabellen, men till ingen nytta. Konduktören förklarade att han inte hade



tillåtelse att stänga av värmen, eftersom det officiellt inte skulle bli sommar förrän han hade fått de nödvändiga instruktionerna från Moskva.

### *I högsta beredskap*

Förklaringen till denna delegering kanske ligger i att genernas påslagning och avstängning är beroende av ljus, syre och elektroner. Därför har kanske kloroplasterna i växter och mitokondrierna hos både växter och djur under evolutionens gång behållit en gåtfull "privatarmé" av gener. Mitokondrien är det cellulära rum där respirationen sker. Respirationen, då syrgas förbrukas för att omvandla den lagrade födan till energi, är ännu ett exempel på "farlig" kemi som måste ske i ett avgränsat rum. De flesta människor accepterar idag en modell enligt vilken kloroplasterna (som svarar för fotosyntes) och mitokondrierna (som svarar för respiration) en gång i tiden var separata celler som i mycket liknar dagens blågröna alger och purpurbakterier. När de uppslukades av sina större grannceller togs också kontrollen av deras gener över, en efter en, av huvudcentralen. Emellertid har en viss mängd gener stannat kvar i kloroplasten i nästan alla växter. Nu frågar man sig givetvis: om en gen försvinner till huvudcentralen varför försvinner då inte alla gener?

Svaret kan ligga i proteinfosforylering och påslagning respektive avstängning av gener. Ljus är en miljöfaktor som den fotosyntetiska maskinen måste reagera på omedelbart. Växter med bara en stor byråkratisk enhet som kontrollerade generna, skulle missgynnas jämfört med växter som har ett känsligt lokalt beläget genetiskt system, som kunde svara direkt

till exempel när ljuset försvinner. Det samma gäller för mitokondrien som alltid innehåller gener för den syreförbrukande respirationsreaktionen, men få andra gener. Mitokondrieger är placerade inom cellen för att kunna svara på förändringar i syrekonzentrationen. Det är tydligt att djur- och växtceller har lärt sig att dela upp det genetiska ansvaret. Huvudcentralen (cellkärnan) har tvingats att delegera.

Det kommer att krävas ett avsevärt arbete för att experimentellt testa denne hypotes. Dr Carin Jarl-Sunesson som har ett SJFR stipendium studerar odling och genetisk transformation av isolerade växtceller och delar på handledarskapet för en ny doktorand vid namn Anna Tullberg. Gunilla Håkansson (också handledare för Anna Tullberg och med ekonomiskt stöd från SJFR) söker efter de kritiska bakteriella "strömbrytargenerna" i växtcellerna. Vi förutspår att dessa finns i huvudcentralen (kärnan) liksom faktiskt de flesta andra gener för kloroplasten och mitokondrien. Carol Allen (doktorand) har funnit att mönstret av proteiner tillverkade i kloroplast och mitokondrier beror helt på oxidations- respektive reduktionspotentialen, vilken är en faktor kontrollerad både av ljus och syre. Dessa rön harmonierar med hypotesen att in situ lokaliseringen av generna till mitokondrierna och kloroplasterna betingas av kraven på hög beredskap.

### *Framtidsutsikter*

1980-talet bjöd på dramatiska förändringar inom fotosyntesforskningen. Den nobelprisbelönade lösningen av den tredimensionella strukturen av bakteriellektionscentrat (Tyskland), och den kom-

pletta identifieringen av den "privata armén" av kloroplastgener från tobaksplanta, ris och levermossor (Japan) är bara några exempel på detta.

Om studiet av fotosyntesen är en av biologins spjutspetsar, då ser framtiden ljus ut för dem som kan investera i denna forskning. Här på avdelningen för växtcellbiologi i Lund har vi nya idéer, nya tekniker, begåvade unga forskare och utmärkta förutsättningar för samarbete med kompletterande grupper inom universiteten i Sverige eller utlands. Vårt mål är att bidra med vad vi kan om fotosyntes, dess reglering, evolution och roll i cellen respektive i den levande världen. Denna kunskap kan erbjuda nya möjligheter till praktiska tillämpningar, men det är naturligtvis inte säkert. Precis var sådana möjligheter kan uppstå är svårt att säga förrän vi har löst de vetenskapliga problemen, och dessa i sig själv är värda all vår tid och möda.

*Svensk översättning av André Struglic, Carin Jarl-Sunesson och Gunilla Håkansson.*