



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

LHC-kompleksin elämänkaari ja toiminta

Venla Orpana

Pääaine (Biologia)

LuK-tutkielma

Laajuus: 6 op

13.5.2025

Turku

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Pääaine: Biologia

Tekijä(t): Venla Orpana

Otsikko: LHC-kompleksin elämänkaari ja toiminta

Ohjaaja(t): Tiina Henttinen

Sivumäärä: 20 sivua

Päivämäärä: 13.5.2025

Fotosynteesi on elämää ylläpitävä prosessi, jonka valonkeräyksestä vastaavat valonkeräyskompleksit (LHC). Nämä kompleksit ovat kiinnittyneinä tylakoidikalvoon ja ne sitovat itseensä klorofylli- sekä karotenoidipigmenttejä, joiden tehtävänä on absorboida valoa ja siirtää siitä saatua energiaa eteenpäin fotosysteemiin reaktiokeskuksiin. LHC proteiinien kokoaminen alkaa synteessillä sytosolissa, josta ne kuljetetaan kloroplastiin ja kootaan biogeneesiprosessissa toimiviksi komplekseiksi. Valoenergia siirtyy eteenpäin pigmenttien välillä elektronisen energiansiirron avulla ja erilaisten fotosynteettisten reaktioiden sivutuotteena syntyy reaktiivisia happilajeja. Nämä happilajit (ROS) osallistuvat kasvin signaalintehäviin, mutta voivat myös aiheuttaa kasville stressiä korkeina pitoisuuksina. Kasveille on kuitenkin kehittynyt erilaisia mekanismeja liiallisen ROS:in poistamiseksi. Myös liiallinen lämpö voi aiheuttaa kasville stressiä ja johtaa LHC-kompleksien denaturaatioon, joka voi puolestaan johtaa jopa kasvin kuolemaan. LHC-kompleksit ovat siis hyvin keskeisiä tarkasteltaessa fotosynteesin tehokkuutta sekä kasvien sopeutumista erilaisiin ympäristöolosuhteisiin.

Avainsanat: valonkeräyskompleksit (LHC), fotosynteesi, biogeneesi, kromoforit, reaktiiviset happilajit (ROS), denaturaatio, valoenergian siirto

Sisällys

1	Johdanto	1
2	LHC-proteiinien rakenne	2
2.1	Biogeneesi.....	3
2.1.1	LHC-geenien ilmentymisen säätely	3
2.1.2	LHC-proteiinien kokoaminen toimiviksi pigmentti-proteiinikomplekseiksi.....	4
2.2	Kromoforit ja niiden merkitys.....	6
2.2.1	Klorofyllit.....	6
2.2.2	Karotenoidit	7
3	LHC-kompleksin toiminta	8
3.1	Fotonin energian siirto	8
3.2	Elektroninsiirto ja reaktiiviset happilajit.....	11
3.2.1	Reaktiivisten happilajien syntyminen	11
3.2.2	Reaktiivisten happilajien eliminaatio.....	13
4	LHC-kompleksin denaturaatio	14
5	Yhteenveto	15

1 JOHDANTO

Fotosynteesin yksi perusvaiheista on valonkeräys, josta vastaavat valonkeräyskompleksit eli antennit (engl. the light-harvesting complex, LHC). Fotosynteesin valoa keräävää antennia kutsutaan myös valohaaviksi. LHC:t absorboivat valoa kasvin energiatuotannon käyttöön siirtämällä valoenergian fotosysteemien reaktiokeskuksiin (Kouřil ym., 2012). LHC-proteiiniperheen merkittävyyttä ja monimuotoisuutta tukee se, että LHC-supergeeniperhe sisältää yli 30 jäsentä (Jansson, 1999). Perheeseen kuuluu myös tuman genomin koodaamia tylakoidikalvon integraaliproteiineja, jotka sitovat klorofylli- ja ksantofyllikromoforeja. Kromoforit parantavat valonkeräyステhoa ja suojaavat valon aiheuttamalta stressiltä muodostaen joustavan perifeerisen osan molempien fotosysteemien ydinrakenteiden kanssa (Dall'Osto ym., 2015).

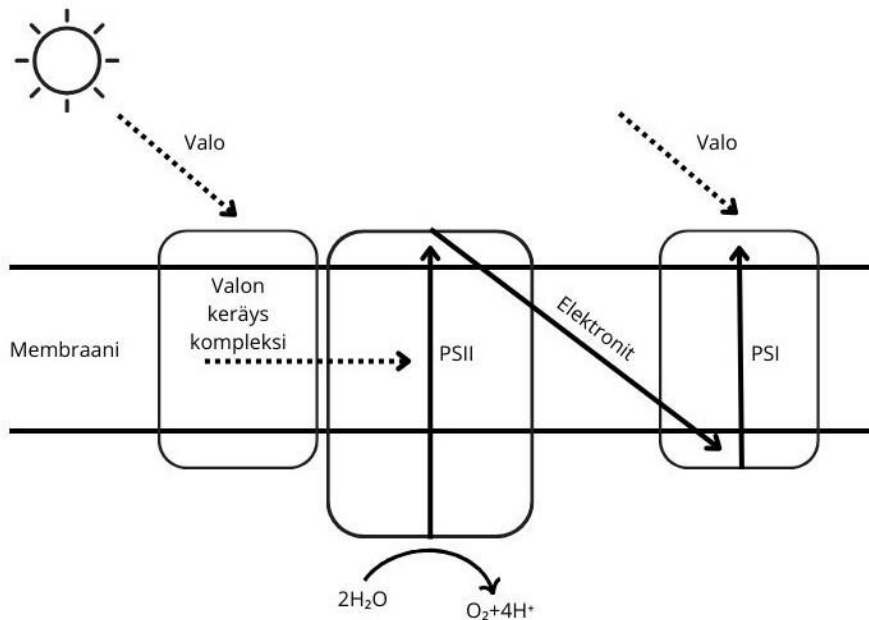
Valo aiheuttaa reaktiivisten happilajien (engl. reactive oxygen species, ROS) muodostumisen kasvien lehdistä. ROS:it ovat tärkeä osa kasvin normaalia signalointia ja ne voivat toimia myös sopeutumisprosessien signaloinnissa. ROS:in tuotanto kiihtyy valostressin olosuhteissa, mikä voi olla kasville jopa kohtalokasta. Koska ROS:ien tuotannolla on haittapuolia, kasvit ovat kehittäneet erilaisia tapoja poistaa liiallista ROS:ia systeemistään. (Triantaphylidès & Havaux, 2009.) Kasvien kehittämien valolta suojaavien vasteiden kehittymisen on ajateltu myös olevan yksi ratkaiseva tekijä, jolla kasvit ovat pystyneet siirtymään vesiympäristöstä maalle. LHC-proteiinien evoluutiossa valoa kerääviä komplekseja on kehittynyt useita erilaisia, mikä on mahdollistanut eliöiden sopeutumisen hyvinkin erilaisiin elinympäristöihin ja ympäristöolosuhteisiin. (Neilson & Durnford, 2010.)

LHC-proteiineilla on monimutkainen ja monivaiheinen elämänkaari, johon liittyy solutasolla paljon koordinaatiota. LHC-proteiinien esiasteet kuljetetaan solulimasta kloroplasteihin, jossa ne prosessoidaan ja kohdennetaan tylakoidikalvoille. Tylakoideilla ne kootaan kromoforien kanssa toiminnallisiksi komplekseiksi. Kuljetus- ja koontiprosessit tapahtuvat vasteena ympäristöoloihin ja ympäristöärsykkeisiin, mikä vaatii tarkkaa koordinaatiota tuma- ja plastidigeenien ilmentymisen välillä. (Dall'Osto ym., 2015.)

Tässä kandidaattitutkielmassa käsittelen LHC-kompleksin rakennetta ja toimintaa. Tutkielmassa selvitetään, miten antennimolekyylit absorboivat auringon valon energian ja välittävät sen reaktiokeskukseen, jossa käynnistyy fotosynteesin elektroninsiirtoketju. Tutkielmassa käsitellään myös kloroplastien yhteyttämiskalvostoilla muodostuvat ja oksidatiivista stressiä aiheuttavat hapen reaktiiviset muodot.

2 LHC-PROTEIINIEN RAKENNE

Fotosynteesi on prosessi, jolla elävät organismit muuttavat biosfäärin ulkopuolelta peräisin olevan energian muotoon, jota muut eliöt voivat käyttää. Suurin osa ihmisten hyödyntämistä energialähteistä on peräisin yhteyttävien kasvien sitomasta auringon valoenergiasta. Fotosynteesin valoreaktiot tapahtuvat yhteyttävien solujen tylakoidikalvostolla, joka on viherhiukkasen sisällä oleva kalvojärjestelmä, missä fotonit absorboituvat pigmentteihin fotosynteettisen kalvon komplekseissa (kuva 1). Erilaiset fotosynteettiset pigmentit muodostavat fotosysteemejä (engl. photosystem, PS) tylakoidien kalvoilla. Fotosysteemit rakentuvat antennikomplekseista eli valohaaveista (LHC) sekä reaktiokeskuksesta. Valohaavit ovat kalvoproteiinien ja pigmenttiä sitovien proteiinien järjestäytyneitä ryhmiä. Ne absorboivat fotoneja, joilla on eri aallonpituuksia, ja siirtävät fotonin energian nopeasti pigmentiltä toiselle ja lopulta reaktiokeskuspigmentille. Energia virittää reaktiokeskuksen pigmenttimolekyylin korkeammalle energiatasolle, jolloin elektroni siirtyy hapetus-pelkistysreaktioissa elektroninsiirtoketjuun elektronin vastaanottajalle. Pigmenttiä sitovista proteiineista runsain on valoa keräävä klorofylli a/b -proteiinikompleksi (LHCII), joka muodostaa noin puolet vihreiden kasvien koko klorofyllin määrästä.



Kuva 1. Fotonin absorboituminen LHC-kompleksin pigmentteihin ja sen eteneminen fotosysteemeissä (Kühlbrandt, 1994).

Fotosysteemejä on kaksi, PSI ja PSII, joiden reaktiokeskusten absorbtiospektrit eroavat toisistaan. Molemmilla fotosysteemillä on oma valohaavi, joka koostuu ulommasta ja sisemmästä rakenteesta. Valoenergia kulkee fotosysteemien valohaaveissa valoa kerääviltä pigmenteilä toisille ja lopulta reaktiokeskukselle. Reaktiokeskus II:n klorofyllin (P680) absorptiomaksimi on 680 nm aallonpituudella, ja reaktiokeskus I:n klorofyllin (P700) maksimi on 700 nm aallonpituudella.

2.1 Biogeneesi

2.1.1 LHC-geenien ilmentymisen säätely

Valon määrä säätelee LHC-kompleksin kokoamista edeltävää geenien transkriptiota. Valoa aistivat reseptoriproteiinit, erityisesti fytochromit, osallistuvat transkription säätelyyn välittämällä signaaleja erilaisten solunsisäisten signaalireittien kautta ja muokkaamalla muun muassa LHC-kompleksin proteiineja koodaavien geenien transkription ilmentymistä, mikä johtaa lopulta sopeutumismuutoksiin solun ja koko organismin tasolla (Kloppstech, 1985). Säätelyä tapahtuu myös RNA:n prosessoinnin, kuljetuksen ja hajotuksen tasolla sekä proteiinien aktiivisuutta säätelemällä. Säätelyyn vaikuttaa kasvin kasvuympäristö, jonka mukaan valonkeruun säätely määräytyy. Tietynlaiseen ympäristöön sopeutuminen vaatii tuma- ja plastidigenomeissa tapahtuvaa geneettisen informaation koordinoitua ilmentymistä. (Dekker & Boekema, 2005.)

Jotta kasvit voivat reagoida nopeasti ympäristössä tapahtuviin muutoksiin, niiden transkription säätelyn on oltava tehokasta ja nopeaa (Yamano ym., 2008). LHC-kompleksin alayksiköitä koodaavien geenien transkriptio lähetti-RNA:ksi sekä proteiinisynteesi tapahtuvat päiväsaikaan, joten säätely pohjautuu sirkadiaaniseen rytmiin eli vuorokausirytmiin. Koska LHC-kompleksien ilmentyminen on ajallisesti säädelty, geenien ilmentyminen kasvaa auringonnousun jälkeen, saavuttaa maksimin keskipäivän tienoilla ja laske iltapäivällä. Kasvit ja levät kykenevät myös pitkäaikaisiin sopeutumismuutoksiin ympäristössä tapahtuvien muutosten myötä. Näitä vasteita ovat muun muassa fotosysteemien stoikiometrinen säätely sekä LHC-kompleksin koon mukauttaminen vallitseviin olosuhteisiin sopivaksi. (Dall'Osto ym., 2015; Ballottari ym., 2007.) Stoikiometrisen tasapainon sovittaminen ympäristön ärsykkeisiin edellyttää koordinoitua geeniekspressiota. Koska PS-komponentteja koodaavat erilliset genomit, valon havaitsemiseen ja LHC-geenien ilmentymisen säätelyyn liittyy plastidien tumaan lähettämiä signaaleja, joita kutsutaan retrogradisiksi signaaleiksi. Näille retrogradisille signaalireiteille on esitetty useita vaihtoehtoisia mekanismeja. (Woodson & Chory, 2008.)

Vaikka fotosynteesin geeniekspression säätelyä tiedetäänkin jo paljon, siihen liittyvät yksityiskohdat ovat vielä selvittämättä ja esimerkiksi LHC-geenin transkription säätelyn keskeisyys

on kyseenalaistettu pitkän aikavälin sopeutumisvasteessa (Yamano ym., 2008). Myös LHC-kompleksin laskostuminen ja pigmenttien kiinnittymisen tapa on vielä epäselvää, eikä tiedetä, tarvitaanko näihin toimintoihin avustajia vai tapahtuvatko ne itsestään.

2.1.2 LHC-proteiinien kokoaminen toimiviksi pigmentti-proteiinikomplekseiksi

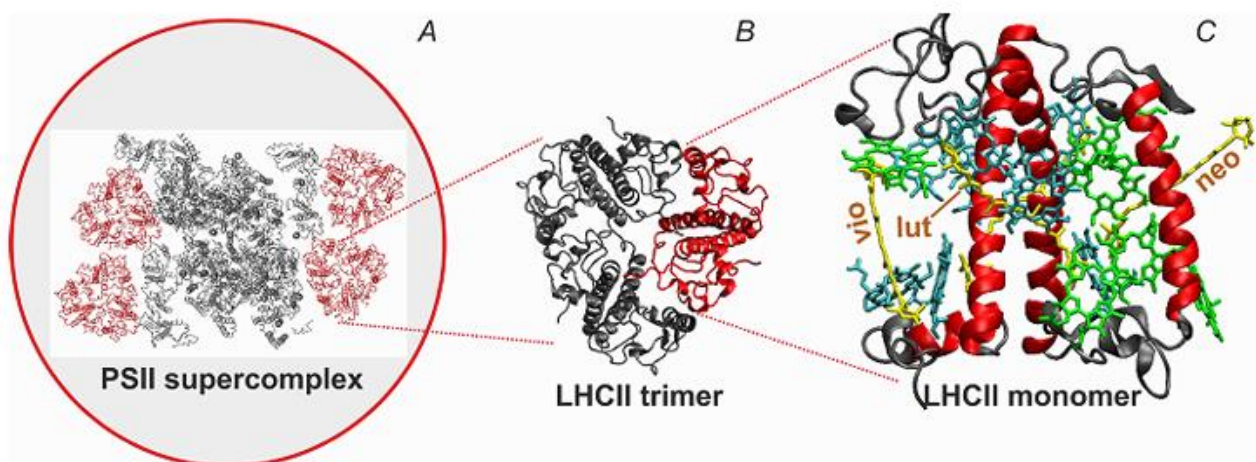
Fotosynteesin valoreaktiot tapahtuvat tylakoidikalvoissa sijaitsevilla proteiinikomplekseilla, joihin on sitoutuneet fotosynteesin pigmentit sekä elektroninsiirrossa toimivat komponentit (Wientjes ym., 2009). PSII-kompleksiin kuuluu noin 30 proteiinalayksikköä, pigmenttejä ja kofaktoreita. PSII:n valohaavina toimii LHCII. PSI-kompleksi koostuu noin 20 proteiinalayksiköstä ja sen valohaavina toimii LHCI.

Valohaavien proteiineja koodaavat geenit sijaitsevat tuman DNA:ssa, joten LHC-proteiinit syntetisoidaan solun sytosolissa vapailla ribosomeilla. Proteiinit tehdään esiaste-proteiineina, joiden N-terminaaliosassa on kiinni erityinen signaalisekvenssi, niin sanottu transit-peptidi. Peptidiä tarvitaan kuljettamaan esiaste-proteiini kloroplastiin. Esiasteet kuljetetaan kloroplastiin spesifisten kuljettimien kautta. Kloroplastin ulomman kalvon pinnalla on TOC-kuljetinkomplekseja (engl. Translocon on the Outer Chloroplast membrane, TOC) ja sisäkalvolla on TIC-komplekseja (engl. Translocon on the Inner Chloroplast membrane, TIC). Nämä kompleksit kuljettavat esiaste-proteiinit kloroplastin stroomaan. (Andrès ym., 2010.)

Stroomassa stroomaprosessoitava peptidaasi (SPP) poistaa esiaste-proteiinien N-terminaaliosasta päästä transit-peptidin, minkä jälkeen proteiinit ovat valmiita LHC-polypeptidejä ja ne siirretään tylakoidikalvolle signaalintunnistuspartikkelin (engl. chloroplast signal recognition particle, cpSRP) avustamana (Schünemann, 2004). cpSRP-kompleksi koostuu cpSRP54 ja cpSRP43 proteiineista. cpSRP-kompleksi tunnistaa LHC-proteiinien signaalisekvenssin, kiinnittyy siihen ja kuljettaa proteiinin kohti tylakoidikalvoa (Tu ym., 2000). Kuljetusprosessissa tarvitaan cpSRP:n lisäksi cpFtsY-proteiinia, joka integroi proteiinit tylakoidikalvojen translokaasiin, eli kuljetinkoneistoon, joka siirtää ja integroi proteiinit tylakoidikalvoille. Integraalisten kalvoproteiinien Alb3 ja Alb4 on osoitettu olevan välttämättömiä LHC-proteiinien kiinnittämiseksi tylakoidikalvoille. Alb3 ja Alb4 ohjaavat LHC-proteiinin tylakoidikalvolle oikeaan kohtaan ja kiinnittävät sen, jotta toiminnallinen kompleksi muodostuu oikealla tavalla. Kiinnittymisprosessiin saadaan energia GTP:n hydrolyysistä. (Nguyen ym., 2011.)

LHC-proteiinien integroitumiseen tylakoidikalvoon on ehdotettu erilaisia malleja. Yksi niistä on LHCII-kompleksin kokoonpanomalli, joka käsittää neljä eri vaihetta, joilla LHC-proteiini kootaan toiminnalliseksi kokonaisuudeksi tylakoidikalvolle (Kenneth & Hooper ym., 2007). LHCII:lla on ainutlaatuinen rakenne, joka koostuu neljästä transmembraaniheliksisestä (A, B, C, F). Lisäksi sekä N-

terminaalinen että C-terminaalinen pää sijaitsevat strooman puolella. Ensimmäisessä vaiheessa LHC-proteiinin integroitumisen pysäyttää proteiinin B-heliksin spesifinen sekundaarirakenne, niin sanottu stop transfer -alue. Toisessa vaiheessa varmistetaan proteiinin pysyminen kalvossa ja proteiinin stabiili muoto, minkä jälkeen klorofyllit sitoutuvat LHC:hen. Kolmannessa vaiheessa A- ja C-heliksit laskostuvat oikealla tavalla, minkä jälkeen proteiinin kiinnittyminen kalvoon vahvistuu. Viimeisessä vaiheessa kompleksista tulee täysin toiminnallinen, kun ionisillat muodostuvat A- ja B-heliksin välille sekä loput pigmentit liitetään LHC-proteiiniin. Kun LHC-kompleksin yksittäiset pigmenttejä sisältävät LHC-proteiinit on koottu, ne yhdistyvät kolmen ryhmiin eli trimeereiksi. Nämä trimeerit puolestaan liittyvät ydinkompleksiin ja tästä syntyy loppujen lopuksi täydellinen ja toiminnallinen fotosysteemi (PS) (kuva 2). Trimeereissä sijaitsevilla pigmenteillä tapahtuu valon keruu ja absorboituneen energian siirtäminen, joita käsittelemme tarkemmin kohdassa 3.1. (Dreyfuss & Thornber, 1994)



Kuva 2. PSII ja LHC-komponenttien rakenne (Janik-Zabrotowicz & Gruszecki, 2023).

LHCI on avainasemassa kasvien valonkeruussa ja sen neljä pigmentti-proteiinikompleksia koordinoivat muun muassa klorofylli a:ta sekä b:tä. Pigmentit on nimetty Lhca1-Lhca4. Näitä pigmenttejä puolestaan koodaavat tumageenit, jotka kuuluvat LHC-monigeeniperheeseen, ja jotka koodaavat myös PSII:n Lhcb proteiineja. Näiden kahden valonkeräyskompleksin spektroskooppiset ominaisuudet eroavat toisistaan, sillä Lhca-kompleksit absorboivat enemmän punaista valoa verrattuna Lhcb-komplekseihin. Kiderakenteista päätellen niiden 3D-rakenne Chl-organisaation suhteen on tästä huolimatta suhteellisen samanlainen. (Wientjes ym., 2009)

2.2 Kromoforit ja niiden merkitys

Kromoforit eli fotosynteettiset pigmentit luokitellaan kolmeen kemialliseen ryhmään; klorofylleihin, karotenoideihin ja fykobiliineihin. Klorofyllit absorboivat pääasiassa punaista ja sinistä aallonpituutta, karotenoidit sinistä ja vihreää aallonpituutta ja fykobiliinit sinistä, vihreää sekä punaista valoa riippuen pigmentin väristä (Kiang ym., 2007).

Klorofyllit sekä ksantofyllit ovat LHC-kompleksin keskeisiä osia ja ne ovat välttämättömiä muun muassa LHC:n proteiinien oikean laskostumisen kannalta, sillä LHC-kompleksien kokoaminen riippuu myös niiden kofaktoreista kuten esimerkiksi klorofylleista. Kokoamisprosessi toimii eräänlaisena tarkistuspisteenä, jolla voidaan säädellä LHC-proteiinien sekä -kompleksien määrää. (Paulsen ym., 1993.) Kokoamisprosessiin tarvittavien komponenttien saatavuuteen vaikuttaa myös transkription ja translaation tasolla tapahtuvat säätelyverkostot (Campoli ym., 2009). On osoitettu, ettei LHC-proteiineja kerry ilman klorofyllipigmenttejä, mikä osoittaa pigmenttien merkityksen LHC:n proteiinien kontrolloidussa tuotannossa ja kompleksien kokoamisessa. (Paulsen ym., 1993.)

2.2.1 Klorofyllit

Klorofyllit a ja b ovat välttämättömiä LHC-proteiinien sekä LHC-kompleksien vakaudelle kasveissa (Plumley & Schmidt, 1995). Dall'Osto ym. (2010) osoittivat, että *Arabidopsis thalianan* mutanttimuoto, joka ei tuottanut klorofylli b:tä, menetti lähes kaikki LHC-proteiininsa. Toisaalta Polle ym. (2000) osoittivat *Chlamydomonas reinhardtii* levällä, että se ei tarvinnut klorofylli b:tä tuottaakseen LHC-komplekseja. Tämä viittaa siihen, että klorofylli b:n merkitys vaihtelee eliöiden kesken. Tiedetään, että meressä elävillä levillä on kehittynyt erilaisia klorofyllityyppejä, kun taas maakasvit käyttävät valonkeruuseen klorofylleista vain klorofylli a:ta ja b:tä, mikä viittaa klorofylli a:n ja b:n erityisasemaan yhteyttävissä maakasveissa (Scheer, 2006).

Klorofylli b:n rooli LHC-kompleksien muodostumisessa ei ole täysin selvä, mutta joitakin asioita pigmentistä on kuitenkin kyetty selvittämään. Ensinnäkin, sille on oma sitoutumispaikka LHC-kompleksissa (Scheer, 2006). Tämän lisäksi klorofylli b:n määrän kasvu lisää LHCII:n proteiinien määriä. Tiedetään myös, että klorofyllidi a -oksigenaasi (engl. Chlorophyllide a Oxygenase, CAO) säätelee klorofylli b:n biosynteesiä ja siten vaikuttaa LHC-kompleksien muodostumiseen ja valoon sopeutumiseen. Tiedetään myös, että jos klorofylli b:n määrä laskee liikaa, LHC-kompleksit ovat epävakaaita ja hajoavat helposti. (Tanaka & Tanaka, 2011.)

2.2.2 Karotenoidit

Karotenoidit, joita on useita erilaisia, koostuvat tyydyttymättömistä hiilivetyketjuista. Karotenoidit ryhmitellään happea sisältäviin ksantofylleihin ja happea sisältämättömiin karoteeneihin. Karotenoidit voidaan myös ryhmitellä sen mukaan, onko kyseessä A-vitamiinin esiaste vai ei.

Ksantofyllit, jotka ovat lipfiilisiä ja sisältävät hydroksyyliiryhmiä, ovat yksi tärkeimmistä karotenoideista. Ne vaikuttavat LHC-kompleksien kokoamiseen, sillä kuten klorofyllille, myös ksantofyllille on omat sitoutumiskohdat LHC-kompleksissa. Karotenoideista eniten tutkittuja ovat luteiini, neoksantiini ja violaksantiini ksantofyllit. Violaksantiini voi korvautua zeaksantiinilla (*Zea*), jos kasvi altistetaan voimakkaalle valolle. Kasveissa ja joissakin mikro-organismeissa syntetisoitua zeaksantiini antaa esimerkiksi paprikalle, saframille ja monille muille kasveille ja mikrobeille tyypillisen värin. (Croce ym., 1999; Kopec ym. 2012.)

Havaux ym. (2004) huomasivat *A. thalianan* npq2lut2-mutanttimuodossa zeaksantiinin vaikuttavan eri tavalla kuin muut ksantofyllit. Npq2lut2-mutantissa zeaksantiini on ainoa ksantofylli ja sen havaittiin vaikuttavan PSII:n antennin kokoon. Mutantin LHC-kompleksit olivat epävakaita ja ne hajosivat helposti, minkä seurauksena PSII:n koko pieneni. Käytännössä zeaksantiinin sitoutuminen LHC:hen aiheuttaa siinä rakenteellisen muutoksen, joka tekee LHC-proteiinista alttiin hajotukselle.

Voimakas valo aktivoi VDE-entsyymin (engl. Violaxanthin de-epoxidase, VDE), joka katalysoi violaksantiinin muuttumisen zeaksantiiniksi. Muodostunut zeaksantiini sitoutuu LHC:n proteiineihin, mikä saa aikaan proteiinien hajoamisen, mikä vähentää luumenin happamoitumista (Dall'Osto ym., 2012) ja mahdollistaa LHC:n määrän säätelyn valon mukaan. Zeaksantiini siis parantaa klorofyllin viritystilaa sammutusta sekä vähentää reaktiivisten happilajien aiheuttamia vaurioita. (Ballottari ym., 2014)

Myös karoteenit, joita tunnetaan yli 600 erilaista, kuuluvat karotenoideihin. Tunnetuimpia karoteeneja ovat A-vitamiinin esiasteet alfa-, beeta- ja delta-karoteenit. LHC-kompleksien muodostumisessa ksantofyllien ja karoteenien kokonaismäärä on merkittävämpi tekijä kuin yksittäisen pigmentin koostumus. Tämä on osoitettu sellaisilla *Arabidopsis*-mutaneilla, joilla on häiriintynyt ksantofyllisynteesi. Mutanttien pigmenttikoostumus on hyvin erilainen villityypin kasviin verrattuna, sillä häiriintyneen ksantofyllisynteesin vuoksi ksantofyllien ja karoteenien suhde on merkittävästi muuttunut normaalista. Mutanttikasveissa havaittiin, että LHC-komplekseja oli vähemmän suhteessa PSII:n reaktiokeskukseen kuin villityypin kasvissa, minkä seurauksena mutantin valonkeräyskapasiteetti heikkeni. Toisaalta PSI:n reaktiokeskusten ja näitä ympäröivien LHC-kompleksien lukumäärän suhde oli samanlainen kuin villityypillä. Mutanttikasvissa ksantofyllien vähentyminen vaikutti kuitenkin PSI:n kokonaismäärään, joka oli alhaisempi kuin

villityypin kasvilla. Vaikka ksantofyllin määrä on mutanttikasvissa vähäinen, yksittäiset PSI-kompleksit voivat vielä muodostua, mutta niitä on lukumääräisesti vähemmän. Toisaalta ne ovat rakenteellisesti samanlaisia kuin villityypissä. (Fiore ym., 2012.)

Tiedetään, että PSI ei tarvitse LHCI:tä pysyäkseen vakaana ja toimivana, mikä mahdollistaa PSI:n reaktiokeskusten ja niitä ympäröivän antennin suhteen, mutta ei lukumäärän pysymisen samankaltaisena villityypin kanssa. Pääasiallinen syy PSI:n määrän vähenemiseen on PSI:n rakenteeseen kuuluvan Psa-A-proteiinin heikentynyt translaatiotehokkuus. Ksantofyllin on osoitettu vaikuttavan myös PsaA:n kuljetukseen tylakoidikalvolle. (Dall'Osto ym., 2013)

3 LHC-KOMPLEKSIIN TOIMINTA

Valon kerääminen on kasvibiologiassa yksi eniten tutkituista prosesseista. Niin kuin jo aikaisemmin todettiin, LHC-proteiiniperhe sitoo pigmenttejä, jotka absorboivat valoenergiaa ja siirtävät sitä eteenpäin fotosysteemiin reaktiokeskuksiin. Reaktiokeskuksista viritysendergia kulkee aina eteenpäin ja muuttuu kemialliseksi energiaksi, jota kasvin on mahdollista hyödyntää muissa fotosynteesiin liittyvissä reaktioissa.

Jokaisella LHC:n sitomalla pigmentillä on spesifinen absorptiospektri, joka määrää mitä valon aallonpituutta pigmentti pystyy absorboimaan. Absorptiospektrin mukaan määräytyy muun muassa se, missä kasvit tai fotosynteettiset eliöt voivat elää. Esimerkiksi punalevien on mahdollista elää syvässä ja sameassa vedessä, sillä punalevät sisältävät fykobiliinipigmenttejä, jotka absorboivat punaista ja vihreää valoa. Syvässä vesissä on vain himmeää sinivihreää valoa, sillä pidemmät aallonpituudet suodattuvat pois. (Woodson & Chory, 2008.)

3.1 Fotonin energian siirto

Valo etenee valokvantteina eli fotoneina, joiden energia ja liikemäärä ovat verrannollisia säteilyn taajuuteen. Fotosynteesissä valon absorptio alkaa, kun LHC-kompleksin kromofori kaappaa saapuvan fotonin, mikä kiihdyttää molekyylit perustilasta viritystilaan. Absorboidun fotonin viritysendergia siirtyy pigmenttimolekyyliltä toiselle tylakoidikalvon fotosysteemeihin. Fotosynteesissä valohaavin klorofylleiltä valoenergia siirtyy PSII:n reaktiokeskuslorofyllille P680 ja PSI:n reaktiokeskuslorofyllille P700. PSII:ssa kaksi vesimolekyyliä hapettuu yhdeksi happimolekyyliksi, neljäksi protoniksi ja neljäksi elektroniksi eli valon energia muuttuu sähkökemialliseksi potentiaalienergiaksi. Elektronit siirretään elektroninsiirtoketjuun. PSII:ssa

sidottu valoenergia jakautuu valokemiallisiin ja ei-valokemiallisiin prosesseihin. Ei-valokemiallisissa prosesseissa auringon valoenergia muuttuu lämmöksi ja näin käy suurimmalle osalle absorboidusta energiasta. PSI käyttää elektronit korkeaenergisien NADPH-varastomolekyylin tekemiseen. Fotosynteesissä elektroninsiirrossa tylakoidin luumenin protonikonsentraatio kasvaa eli tylakoidikalvolle muodostuu protonigradietti. Gradientin purkautuminen ATP-syntaasin kautta stroomaan mahdollistaa ADP:n fosforylaation ATP:ksi. Sekä ATP:tä että NADPH:ta tarvitaan hiilensidontareaktioissa, joissa muodostuu trioosifosfaatteja.

Fotonin virittämän kromoforin viritystila on hyvin lyhyt, vain joitakin nanosekunteja. Esimerkiksi klorofyllin neljä nanosekuntia *in vivo* kestävä viritystila on tavanomaisiin biologisiin prosesseihin verrattuna lyhytikäinen. Lyhyestä viritystilasta huolimatta energia siirtyy tehokkaasti LHC-pigmentiltä toiselle ja lopulta fotosysteemien reaktiokeskuksiin elektronisella energiasiirrolla (engl. excitation energy transfer, EET). EET määrittää loppupelissä koko fotosynteesiprosessin tehokkuuden. PSII:n reaktiokeskus klorofyllissä tapahtuu primaarinen varausten erottuminen eli elektroneja riistetään vedeltä yksi kerrallaan elektroninsiirtoketjuun. LHC-kompleksi optimoi viritystilan varausten erottamisen tehokkuuden sähköisestä kemialliseksi maksimoimalla kvanttitehokkuuden eli LHC-kompleksin kyvyn muuntaa absorboidut fotonit elektroneiksi. (Chenu & Scholes, 2015.)

Luonnossa on monenlaisia valonkeruuseen erikoistuneita antennirakenteita, jotka eroavat toisistaan kromoforien sijoittelun, käytettyjen kromoforityyppien, kuten klorofyllien, biliinien ja karotenoidien, sekä absorptiospektrien perusteella. Näiden rakenteiden avulla valoa voidaan hyödyntää laajalla aallonpituusalueella sinisestä valosta aina lähi-infrapunaan saakka. Yhteistä kaikille antennikomplekseille on niiden poikkeuksellisen korkea kyky muuntaa absorboitu fotoni elektroneiksi. (Teodor & Bruce, 2020.) Kvanttitehokkuus riippuu antennin koosta, viritystilan kestosta, kromoforien järjestyksestä sekä vallitsevista valo-olosuhteista. Kvanttitehokkuus vaihtelee tyypillisesti 50–90 prosenttia. Esimerkiksi korkeampien kasvien PSII:n valonkeruun ja varauksenerotuksen hyötysuhde on noin 84–90 prosenttia. (Wientjes ym., 2013.)

Kromoforien välinen elektroninen kytkentä johtaa dekalisoituneisiin viritystiloihin. Näitä viritystiloja kutsutaan eksitoneiksi, joka puolestaan viittaa tilaan, jossa virittyneisyys jakautuu tasaisesti eri molekyyliapaikkojen kesken. Antennimolekyylien ja reaktiokeskusten välinen etäisyys on riittävän pieni tehokasta energian siirtoa varten. Etäisyydet ovat optimaalisia siten, että etäisyydet mahdollistavat molekyylien kytkeytymisen toisiinsa niin sanotun kvanttikoherenssin kautta. Koherenssilla viitataan siihen, miten viritystilat ovat synkronisoituneita kromoforien välillä. Koherenssi ja eksitonit ovat hyvin tärkeitä fotosynteesin valonkeruuprosessissa. (Chenu & Scholes, 2015.)

Klorofyllit, jotka sijaitsevat reaktiokeskuksissa, vangitsevat valosta saatavan viritysongian ja muuntavat sen kemialliseksi energiaksi varauksen erottamisen avulla (Kiang ym., 2007). Tämä sähköinen viritysongia siirtyy resonanttienergiasiirtomekanismilla (engl. resonance energy transfer, RET). Siirto noudattaa Försterin resonanssienergiasiirtoa (engl. Förster resonance energy transfer, FRET), missä tapahtuu ei-säteilyyn perustuvaa viritysongin siirtymistä molekyylien välillä molekyylien välisen etäisyyden ollessa riittävän lyhyt. Kun fotonin energian alun perin absorboineen kromoforin lyhytikäinen viritysongi purkautuu, niin lähellä oleva vastaavan viritysongin mahdollisuuden omaava kromofori puolestaan viritysongi. Siirtoketju jatkuu, kunnes energia päättyy lopulta reaktiokeskukseen. (Andrews ym., 2011.) Antennikompleksin FRET -mekanismissa pigmentti viritysongi tietyllä aallonpituudella ja siirtää energian seuraavalle pigmentille ilman, että energiaa menetettäisiin lämpönä tai fluoresenssina. Kvanttimekaanisen yhteyden katoaminen, eli kromoforien välisen sähköisen koherenssin nopea katoaminen, johtuu ympäristön satunnaisista energianvaihteluista. Näitä vaihteluita syntyy kromoforien ja ympäristön, eli esimerkiksi proteiinien ja veden vuorovaikutuksesta. Nämä vaihtelut vaikuttavat kromoforien siirtymäenergiaan sähköstaattisten muutosten avulla. (Renger ym., 2012.)

Loppujen lopuksi koherenssi on riippuvainen kromoforien välisen elektronisen kytkennän voimakkuudesta. Kromoforien tiivis pakkaus valonkeräysjärjestelmässä edesauttaa niiden välistä vuorovaikutusta ja tämä luo eksitoneja, mikä tarkoittaa sitä, ettei FRET yksinään pysty selittämään miksi energiansiirto on niin tehokasta. Tulevaisuudessa tutkimus- ja mittausmenetelmien kehittyminen ja tarkentuminen mahdollistanevat pätevän selityksen viritysongin energiansiirtomekanismille. (Andrews ym., 2011.)

Elektronista kytkentää ohjaa pääasiassa Coulombin vuorovaikutus, joka kuvaa kahden pistevarauksen välille syntyvää sähköistä voimaa. Tässä tapauksessa vuorovaikutus vallitsee viritysongin välillä. Ympäristön optiset ominaisuudet, kuten dielektrisyys, voivat muokata Coulombin vuorovaikutuksen voimakkuutta vaikuttamalla sähköisten kenttien käyttäytymiseen aineessa. Myös kromoforien asento sekä sijainti antennikompleksissa voi vaikuttaa kromoforien kytkentään. (Chenu & Scholes, 2015.)

Fotosynteesin energia-absorptiossa koherenssi on kaiken kaikkiaan merkittävä tekijä. Kloroplastin energiaa absorboivat antennimolekyylit ja reaktiokeskus muodostavat makroskooppisen systeemin, jossa energian siirto on lähes häviötöntä. Fotonien mahdollisimman tehokas siirtäminen edellyttää juuri oikeanlaisen systeemin muodostamisen. Tiedetään, että valonkeräyskompleksin proteiineja koodaavissa, tuman genomissa sijaitsevilla *Lhca*- ja *Lhcb*- geneeissä tapahtuvat mutaatiot vaikuttavat energia-absorptioon (Wientjes ym., 2009). Jopa yhden aminohapon muutos jossakin kompleksin proteiinissa voi estää vahvan eksitonikytkennän ja näin vaikuttaa merkittävästi valonkeräysjärjestelmän toimintaan. Myös kromoforien oikeanlaisella sijoittumisella pyritään

minimoimaan kvanttihokkuuden heikkeneminen. Tällainen tila voi syntyä, jos molekyyliä on liian tiheässä. Tehokkaan energian siirron kannalta on myös tärkeää, etteivät kromoforit ole sattumanvaraisesti sijoittuneena antennirakenteessa. (Chenu & Scholes, 2015.)

3.2 *Elektroninsiirto ja reaktiiviset happilajit*

Reaktiivisia happilajeja (engl. reactive oxygen species, ROS) muodostuu happea tuottavan fotosynteesin elektroninsiirrossa, solun normaalissa metaboliassa ja useiden reaktioiden sivutuotteina. Reaktiivisia happilajeja ovat muun muassa singlettihappi ($^1\text{O}_2$), superoksidiradikaali ($\cdot\text{O}_2^-$) ja vetyperoksidi (H_2O_2). Pieninä pitoisuuksina ROS:it toimivat signaalimolekyyleinä. ROS:ien tärkeys signaalintimolekyyleinä ymmärrettiin, kun Dokén (1983) osoitti, että plasmakalvostossa muodostunut superoksidi ($\cdot\text{O}_2^-$) suojaasi kasvia sienipatogeeneilta. Myös tiettyjen ROS-lajien paikallisesti kohonneet pitoisuudet ovat keskeisiä solujen jakautumisen ja erilaistumisen säätelyssä. Esimerkiksi superoksidin pitoisuus on korkeampi solujen jakautumisalueella, kun taas vetyperoksidia esiintyy runsaammin erilaistumisalueella. Näiden ROS-lajien välinen tasapaino ja pitoisuusgradientti ovat ratkaisevia, kun solut siirtyvät jakautumisvaiheesta erilaistumisvaiheeseen. (Tsukagoshi ym., 2010.)

ROS-signalointireitit käynnistyvät, jos ne sijaitsevat ROS-tuotantopaikassa tai sen lähetyvillä. Signalointireitit ovat tärkeitä kloroplastien ja tuman välisessä viestinnässä. Koska liiallinen ROS-tuotanto on haitallista, signalointireittien toimintaa on säädeltävä. Signalointireittejä säätelevät kloroplastin antioksidanttijärjestelmät, jotka auttavat muun muassa ylimääräisten ROS:in poistamisessa. (Foyer & Hanke, 2022.)

3.2.1 Reaktiivisten happilajien syntyminen

Reaktiivisia happilajeja syntyy, kun fotosynteesi tapahtuu epäsuotuisissa olosuhteissa. Esimerkiksi alhaiset ja korkeat lämpötilat sekä kuivuus edistävät ilmarakojen sulkeutumista ja häiritsevät fotosynteesin toimintaa. Vaikka reaktiiviset happilajit ovat tärkeitä signaalintimolekyyliä, on niistä myös paljon haittaa sekä luonnonvaraisille että viljellyille kasveille. (Wada ym., 2020.)

Happiradikaalit, joilla on pariton elektroni ja ovat siksi erittäin reaktiivisia, ovat reaktiivisten happilajien alaryhmä. Esimerkiksi superoksidi ($\cdot\text{O}_2^-$) ja hydroksyyli-radikaali ($\cdot\text{OH}$) reagoivat herkästi lähellä olevien biomolekyylien kanssa, ja aiheuttavat molekyyliessä haitallisia vaurioita. Toisaalta kasvisolut myös hyötyvät happiradikaaleista, sillä ne ovat signaalintimolekyyliä ja osallistuvat solun vuorovaikutusten välittämiseen (Foyer & Hanke, 2022).

Reaktiivisia happilajeja syntyy elektronisiirtoketjussa kahdella päämekanismilla. Singlettihapetta ($^1\text{O}_2$) syntyy pääasiassa PSII-reaktiokeskuksessa, mutta ei juurikaan PSI:ssä, sillä PSI-reaktiokeskus on proteiinien sisällä suojassa hapelta. Singlettihappi syntyy, jos klorofyllin viritystila siirtyy hapelle. Tämä voi tapahtua, jos PSII:n virittynyt klorofylli muuttuu triplettimuotoon, joka reagoi hapen kanssa muodostaen singlettihapetta. Triplettimuoto on klorofyllin matalaenerginen tila. Singlettihappi syntyy myös, jos PSII:ssä valon määrä ylittää fotosynteesi kapasiteetin ja ylimääräinen valoenergia purkautuu muodostaen singlettihapetta. Energian siirtymistä hapelle edesauttaa klorofyllin triplettimuodon pitkä ikä. (Krieger-Liszkay, 2004.)

Suurin osa kasvien reaktiivisista happilajeista syntyy superoksidin ($\bullet\text{O}_2^-$) kautta, sillä superoksidi on erittäin epävakaa ja se pelkistyy ja hapettuu voimakkaasti. Sen on myös ajateltu vaikuttavan kasvien kantasolujen stabiilisuuden säilymiselle (Zeng ym., 2017). Superoksidi syntyy, kun happi vastaanottaa elektroneja elektronisiirtoketjun pelkistetyiltä komponenteilta. Hapen pelkistymistä superoksidiksi kutsutaan Mehlerin reaktioksi ja sitä tapahtuu lähinnä PSI:ssä, jossa elektronit siirtyvät kalvolta liukoisille vastaanottajille (Hernández ym., 2009). Jos elektronien vastaanottajien, kuten hiilidioksidin pitoisuus Calvin-Bensom-syklissä on rajallinen esimerkiksi ilmarakojen sulkeutumisen vuoksi, voi tilanne pahentua ja superoksidia muodostua liikaa (Wada ym., 2020). Ilmarakojen sulkeutuminen kasvin lehdissä estää Calvin-Bensom-syklin toiminnan kannalta oleellisen hiilidioksidin sisäänoton soluun.

Muut happiradikaalit, esimerkiksi vetyperoksidi (H_2O_2) syntyy, jos PSII:ssä vesi hapettuu epätäydellisesti (D'Alessandro ym., 2020). Vetyperoksidi on heikko happo ja se on reaktiivisista happilajeista kemiallisesti pysyvin. Se on soluille vahingollinen, sillä vaikka se ei pystykään hajottamaan DNA:ta tai muita biopolymeerejä, se diffundoituu helposti kalvojen läpi ja siirtyy eri puolille solua muodostumispaikasta riippumatta. Lisäksi se pystyy hapettamaan tioli-ryhmiä, joten se muuttaa esimerkiksi tioli-ryhmiä sisältävien entsyymien toimintaa. Vetyperoksidi osallistuu muun muassa solujen erilaistumiseen, senesenssiin, soluseinän muodostumiseen sekä apoptoosiin ja sitä muodostuu pääasiassa foto-oksidaatioreaktioissa sekä rasvahappojen β -oksidaatiossa. (Huang ym., 2019.)

Hydroksyyli-radikaali ($\text{OH}\bullet$) on reaktiivisista happilajeista vaarallisin. Sitä muodostuu, kun vetyperoksidi reagoi metallikeskuksen, kuten raudan tai mangaanin kanssa (D'Alessandro ym., 2020). Hydroksyyli-radikaali on erittäin haitallinen, sillä se toimii yleensä lähellä tuotantopaikkaansa ja reagoi kaikkien biologisten molekyylien kanssa. Se hapettaa kasvin soluseinän polysakkarideja, mikä puolestaan johtaa soluseinän irtoamiseen (Kärkönen & Kuchitsu, 2015). Suurin osa hydroksyyli-radikaaleista syntyy raudan katalysoimassa niin sanotussa Fentonin reaktiossa (Kapoor ym., 2019).

3.2.2 Reaktiivisten happilajien eliminaatio

Vaikka reaktiiviset happilajit ovat osa solun normaalia metaboliaa ja ne osallistuvat muun muassa kantasolujen ylläpitoon, solujen jakautumiseen ja erilaistumiseen sekä abioottisiin ja bioottisiin vasteisiin (Zeng ym., 2017), ne aiheuttavat myös haitallisia ja peruuttamattomia vaikutuksia kuten DNA-vaurioita sekä solukuolemaa. Kasvisolujen optimaalisen toiminnan kannalta on oleellista rajoittaa liiallista ja vahingoittavaa ROS-tuotantoa tai vaihtoehtoisesti eliminoida ROS:it. Kasveilla on useita keinoja ylläpitää ROS-tasapainoa ja suojata makromolekyylejä vapailta happiradikaaleilta. Toimintatapansa mukaan mekanismit jaetaan entsyymaattiseen ja ei-entsyymaattiseen antioksidanttipuolustusjärjestelmään. (Huang ym., 2019.)

Kasveilla on monia tärkeitä antioksidanttisia entsyymejä kuten superoksididismutaasi (SOD), katalaasi (CAT), askobaattiperoksidaasi (APX) ja glutationiperoksidaasi (GPX). Superoksididismutaasi on yksi keskeisimmistä entsyymeistä reaktiivisia happilajeja vastaan. Se muuttaa superoksidin vetyperoksidiksi, jonka peroksisomeissa esiintyvä katalaasi puolestaan pelkistää vedeksi ja hapeksi (Apel & Hirt, 2004). Askobaatti- ja glutationiperoksidaasit pelkistävät myös vetyperoksidia, mutta askobaattiperoksidaasi hyödyntää askorbaattia, eli C-vitamiinia ja glutationiperoksidaasit puolestaan glutationia (Mittler, 2017).

Kasveilla on useita erilaisia ei-entsyymaattisia antioksidantteja. Keskeisimpiä niistä ovat askorbiinihappo (AsA) eli C-vitamiini, glutationi (GSH) sekä flavonoidit. Askorbiinihappo ja glutationi osallistuvat soluissa superoksidin, singlettihapen, hydroksyyli- ja vetyperoksidin pelkistämiseen. (Huang ym., 2019.) Kasvisoluissa askorbiinihappo on yleisin antioksidantti ja sen teho perustuu kykyyn luovuttaa elektroneja entsyymaattisissa ja ei-entsyymaattisissa reaktioissa. Kasvisolun yksi tärkeimmistä antioksidanteista on glutationi, sillä se suojelee entsyymien tioliryhmiä (Gill & Tuteja, 2010).

Muita tärkeitä antioksidanttisia yhdisteitä ovat karotenoidit, joiden yksi tärkeimmistä tehtävistä on suojata fotosynteesiä liialliselta valointensiteetiltä. Karotenoideista muun muassa β -karoteeni sekä zeaksantiini kykenevät hajottamaan ylimääräistä viritysentergiaa lämpönä tai poistamalla reaktiivisia happilajeja. Ne niin sanotusti sammuttavat klorofyllin tripletin tilan estääkseen singlettihapen ($^1\text{O}_2$) syntymistä sekä sammuttavat myös itse $^1\text{O}_2$:a. (Gill & Tuteja, 2010.) β -karoteenilla on myös tärkeä tehtävä pelkistää superoksidia sekä hydroksyyli- ja peroksyyliradikaaleja (Kapoor ym., 2019).

4 LHC-KOMPLEKSIIN DENATURAATIO

LHCII koostuu kolmesta erillisestä klorofylli a:ta ja b:tä sitovasta proteiinista, jotka ovat Lhcb1, Lhcb2 ja Lhcb3 (Waldron & Anderson, 1979). Lhcb1 ja Lhcb2 ovat toistensa kanssa hyvin samankaltaisia polypeptidisekvensseiltään sekä pigmenttipitoisuuksiltaan, mutta Lhcb3:lla on korkeampi klorofylli a:n ja b:n suhde verrattuna Lhcb1:een ja Lhcb2:een. Lhcb3:n korkeampi klorofyllisuhde johtuu alhaisesta klorofylli b:n määrästä. Lhcb3:lta puuttuu myös N-terminaalinen fosforylaatiokohta. Erot LHCII-kompleksin klorofylli a:ta ja b:tä sitovissa proteiineissa voivat vaikuttaa koko LHCII-kompleksin denaturaatiokäyttäytymiseen sekä stabiilisuuteen. Erityisesti Lhcb3:n fosforylaatiokohdan puuttuminen voi vaikuttaa Lhcb3:n stabiilisuuteen eri olosuhteissa, sillä fosforylaatiokohta vaikuttaa sen kykyyn olla vuorovaikutuksissa muiden komponenttien kanssa. (Standfuss & Kühlbrandt, 2004.)

Erilaiset stressitekijät voivat heikentää LHC-kompleksien toimintaa ja johtaa jopa niiden hajoamiseen, mikä heijastuu suoraan kasvin fotosynteesin tehokkuuteen ja elinkelpoisuuteen. Yksi tällainen stressitekijä on esimerkiksi korkea lämpötila. Smith ym. (1988) havaitsivat, että denaturaatio on yksi pääasiallisista endotermisistä siirtymistä eli energiaa sitovista reaktioista LHCII-kompleksissa. Tätä siirtymää kutsutaan D-siirtymäksi. Tutkimuksessa havaittiin, että kyseinen siirtymä tapahtuu noin 78,5 °C alhaisen ionivahvuuden Hepes-puskuri liuoksessa. Tämä todettiin usealla eri kokeella. Muun muassa DNA:n sulamislämpötilaa tutkittiin inaktiivisen kloroplastikalvon termisellä geenianalyysillä, jossa havaittiin, että 27 kilodaltonin LHCII-polymeeriketjujen denaturaatiolämpötila oli identtinen D-siirtymän lämpötilan kanssa. Myös natiivigeelielektroforeesin avulla tutkijat osoittivat LHCII-kompleksin hajoamisen D-siirtymän aikana. Tutkimuksessa myös havaittiin, kuinka D-siirtymän lämpötilaa oli mahdollista muuttaa laskemalla pH:ta tai lisäämällä Mg²⁺-ioneja kalvosuspensioon. Nämä käsittelyt saivat aikaan D-siirtymän tapahtumaan alhaisemmissa lämpötiloissa.

Tutkimuksessa käsiteltiin myös niin kutsuttua kaksivaiheista denaturaatiokäyttäytymistä, jota oli havaittu sekä pH 7,6 että pH 6,6 käsitellyissä kloroplastikalvoissa. Tulos viittaa siihen, että LHCII on useassa muodossa tai sillä on useita eri kalvoympäristöjä. Myös natiivigeelianalyysin tulokset tukivat LHCII:n heterogeenisyyttä, sillä LHCII-oligomeerin hajoaminen tapahtui kahdessa vaiheessa D-siirtymän lämpötila-alueella. (Smith ym., 1988.) Tämän kaksivaiheisen denaturaatiokäyttäytymisen on arveltu syntyvän siitä, että LHCII voi esiintyä kahdessa eri populaatiossa tylakoidikalvolla. Näistä toisessa LHCII on hyvin tiukasti kiinnittyneenä PSII:n ytimeen, kun taas toinen on paljon vapaammin liikkuva ja löyhemmin kiinni PSII:ssa kun fosforylaatiotilat muuttuvat (Kyle & Kuang, 1984.)

Larsson ja andersson (1985) ovat myös ehdottaneet, että näillä erilaisilla LHCII:lla olisi erilaiset polypeptidiketjukoostokset.

5 YHTEENVETO

Valonkeräyskompleksit ovat keskeinen osa fotosynteesiä. Ne toimivat antennina valon keräämisessä ja siirtävät siitä saatua energiaa fotoneina fotosysteemien reaktiokeskuksiin. Ilman LHC-komplekseja ei maapallolla olisi elämää sellaisessa muodossa, jona me sen tunnemme. Valonkeräystä parantaa klorofylli- ja ksantofyllikromoforit, jotka ovat sitoutuneena LHC-proteiineihin. Nämä proteiinit on upotettu tylakoidikalvolle ja ne koodataan tumassa. Klorofylli- ja ksantofyllikromoforit suojaavat kasvia myös valon aiheuttamalta stressiltä.

LHC-kompleksit liittyvät PSI ja PSII ydinkomplekseihin. Ne muodostuvat useista trimeereistä, jotka puolestaan koostuvat kolmesta LHC-monomeeristä. Itse LHC-proteiinien biogeneesi on monimutkainen tapahtumasarja. Tässä tapahtumasarjassa esiaste, jolla on transit-peptidi, syntetisoidaan sytosolissa ja kuljetetaan kloroplastiin TOC- ja TIC- kompleksin kautta. Stroomassa tapahtuneen transit-peptidin poiston jälkeen proteiinit kuljetetaan tylakoidikalvolle cpSRP:n avulla ja kiinnitetään kalvoon Alb3- ja Alb4-proteiinien avulla. Ratkaisevassa roolissa LHC-proteiinien lopullisessa rakenteessa, laskostumisessa sekä valon absorboimisessa ovat klorofylli a ja b sekä karotenoidit, ja karotenoideista erityisesti ksantofyllit.

LHC-kompleksissa fotoni siirtyy pigmentiltä toiselle EET:n kautta, joka oletettavasti noudattaa Försterin resonanssienergiasiirtoa. Valo energian siirtämisen sivutuotteena syntyy erilaisia reaktiivisia happilajeja. ROS:it osallistuvat kasvin signaalointiin, mutta liiallinen määrä voi olla kasville jopa kohtalokas. Liiallisen ROS:in käsittelyyn kasveille on kehittynyt erilaisia entsyymaattisia sekä ei-entsyymaattisia mekanismeja. Ksantofylleista esimerkiksi zeaksantiini osallistuu ROS:in aiheuttamien vaurioiden vähentämiseen valostressissä sekä sammuttaa klorofyllin viritystilaa tarpeen vaatiessa.

Liiallisen ROS:in lisäksi myös erilaiset ympäristötekijät voivat aiheuttaa haittaa kasveille. Esimerkiksi lämpö on yksi stressitekijä, jonka on havaittu aiheuttavan LHC-kompleksien denaturaatiota. Esimerkiksi LHCII:ssa on havaittu kaksivaiheista denaturaatiokäyttäytymistä. Tämä saattaa johtua LHCII:n jakaantumisesta erilaisiin populaatioihin tylakoidikalvolla. LHC-kompleksien laajalla denaturoitumisella voi olla merkittäviä seurauksia liittyen kasvien elinkykyyn.

Lähteet:

Andrès C., Agne B., & Kessler F. (2010) The TOC complex: Preprotein gateway to the chloroplast. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1803, 715–723. [10.1016/j.bbamcr.2010.03.004](https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.03.004)

Andrews D. L., Curutchet C., & Scholes G. D. (2011) Resonance energy transfer: Beyond the limits. *Laser Photonics Rev.* 5 No.1. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lpor.201000004>

Apel K., & Hirt H. (2004) REACTIVE OXYGEN SPECIES: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>

Ballottari M., Alcocer M. J. P., D'Andrea C., Viola D., Ahn T. K., Petrozza A., Polli D., Fleming G. R., Cerullo G., & Bassi R. (2014) Regulation of photosystem I light harvesting by zeaxanthin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111. <https://doi.org/10.1073/pnas.1404377111>

Ballottari M, Dall'Osto L., Morosinotto T, ja Bassi R (2007) Contrasting Behavior of Higher Plant Photosystem I and II Antenna Systems during Acclimation. *Journal of Biological Chemistry* 282, 8947–58. [10.1074/jbc.M606417200](https://doi.org/10.1074/jbc.M606417200)

Campoli C., Caffarri S., Svensson J. T., Bassi R., Stanca A. M., Cattivelli L., & Crosatti C. (2009) Parallel pigment and transcriptomic analysis of four barley Albina and Xantha mutants reveals the complex network of the chloroplast-dependent metabolism. *Plant Molecular Biology*, 71, 173–191. <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9516-8>

Chenu A. & Scholes G. D. (2015) Coherence in Energy Transfer and Photosynthesis. *Annual Review of Physical Chemistry*, 66, 69–96. <https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-040214-121713>

Croce R., Weiss S. & Bassi R. (1999) Carotenoid-binding Sites of the Major Light-harvesting Complex II of Higher Plants. *Journal of Biological Chemistry*, 274, 29613–29623. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.42.29613>

D'Alessandro S., Beaugelin I. & Havaux M. (2020) Tanned or Sunburned: How Excessive Light Triggers Plant Cell Death. *Molecular Plant* 13, 1545–55. [10.1016/j.molp.2020.09.023](https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.09.023)

Dall'Osto L., Bressan M. & Bassi R. (2015) Biogenesis of light harvesting proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1847, 861–871. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.02.009>

Dall'Osto L., Cazzaniga S., Havaux M. & Bassi, R. (2010) Enhanced Photoprotection by Protein-Bound vs Free Xanthophyll Pools: A Comparative Analysis of Chlorophyll b and Xanthophyll Biosynthesis Mutants. *Molecular Plant*, 3, 576–593. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp117>

Dall'Osto L., Holt N. E., Kaligotla S., Fuciman M., Cazzaniga S., Carbonera D., Frank H. A., Alric J. & Bassi R. (2012) Zeaxanthin protects plant photosynthesis by modulating chlorophyll triplet

yield in Specific Light-harvesting Antenna Subunits. *Journal of Biological Chemistry*, 287, 41820–41834. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.405498>

Dall'Osto L., Piques M., Ronzani M., Molesini B., Alboresi, A., Cazzaniga S. & Bassi R. (2013). The *Arabidopsis nox* Mutant Lacking Carotene Hydroxylase Activity Reveals a Critical Role for Xanthophylls in Photosystem I Biogenesis. *The Plant Cell*, 25, 591–608. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.108621>

Dekker J. P. & Boekema E. J. (2005) Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1706, 12–39. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.09.009>

Doke N. (1983) Involvement of Superoxide Anion Generation in the Hypersensitive Response of Potato Tuber Tissues to Infection with an Incompatible Race of *Phytophthora Infestans* and to the Hyphal Wall Components. *Physiological Plant Pathology* 23, 345–57. [https://doi.org/10.1016/0048-4059\(83\)90019-X](https://doi.org/10.1016/0048-4059(83)90019-X)

Dreyfuss B. W. & Thornber, J. P. (1994) Organization of the Light-Harvesting Complex of Photosystem I and Its Assembly during Plastid Development. *Plant Physiology*, 106, 841–848. <https://doi.org/10.1104/pp.106.3.841>

Fiore A., Dall'Osto L., Cazzaniga S., Diretto G., Giuliano G. & Bassi R. (2012) A quadruple mutant of *Arabidopsis* reveals a b-carotene hydroxylation activity for LUT1/ CYP97C1 and a regulatory role of xanthophylls on determination of the PSI/PSII ratio. *BMC Plant Biology*. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/12/50>

Foyer C. H. & Hanke G. (2022) ROS Production and Signalling in Chloroplasts: Cornerstones and Evolving Concepts. *The Plant Journal* 111, 642–61. [10.1111/tbj.15856](https://doi.org/10.1111/tbj.15856)

Gill S. S. & Tuteja N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

Havaux M., Dall'Osto L., Cuiñé S., Giuliano G. & Bassi R. (2004) The Effect of Zeaxanthin as the Only Xanthophyll on the Structure and Function of the Photosynthetic Apparatus in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 13878–13888. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311154200>

Hernández I., Alegre L., Van Breusegem F. & Munné-Bosch S. (2009) How Relevant Are Flavonoids as Antioxidants in Plants? *Trends in Plant Science* 14, 125–32. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.12.003>

Kenneth Hooper J., Eggink L. L. & Chen M. (2007) Chlorophylls, Ligands and Assembly of Light-Harvesting Complexes in Chloroplasts. *Photosynthesis Research* 94, 387–400. <https://doi.org/10.1007/s11120-007-9181-1>

- Huang H., Ullah F., Zhou D.-X., Yi M. & Zhao Y. (2019) Mechanisms of ROS Regulation of Plant Development and Stress Responses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 800. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>
- Janik-Zabrotowicz E. ja Gruszecki W. I. (2023) LHCII - a Protein like a 'Swiss Army Knife' with Many Mechanisms and Functions. *Photosynthetica*, 61,405–16. <https://doi.org/10.32615/ps.2023.025>.
- Jansson S. (1999) A guide to the Lhc genes and their relatives in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 4, 236–240. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01419-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01419-3)
- Kapoor D., Singh S., Kumar V., Romero R., Prasad R. & Singh, J. (2019) Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Gene*, 19, 100182. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2019.100182>
- Kiang N. Y., Siefert J., Govindjee & Blankenship R. E. (2007) Spectral Signatures of Photosynthesis. I. Review of Earth Organisms. *Astrobiology*, 7, 222–251. <https://doi.org/10.1089/ast.2006.0105>
- Kloppstech K. (1985) Diurnal and circadian rhythmicity in the expression of light-induced plant nuclear messenger RNAs. *Planta*, 165, 502–506.
- Kopec R. and Cooperstone, J. and Cichon M. and Schwartz S. (2012) Analysis Methods of Carotenoids, Analysis of Antioxidant Rich Phytochemicals (pp.105-148). DOI:10.1002/9781118229378.ch4
- Kouřil, R., Dekker, J. P., & Boekema, E. J. (2012). Supramolecular organization of photosystem II in green plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1817(1), 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.05.024>
- Krieger-Liszka, Anja. "Singlet Oxygen Production in Photosynthesis". *Journal of Experimental Botany*, Vol. 56, No. 411(September 2004). http://www.jstor.org/stable/23377758?seq=1&cid=pdf-reference#references_tab_contents
- Kühlbrandt W. (1994) Structure and Function of the Plant Light-Harvesting Complex, LHC-II. *Current Opinion in Structural Biology*, 4, 519–28. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(94\)90214-3](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(94)90214-3).
- Kyle D. J. & Kuang T.-Y. (1983) Movement of a sub-population of the light harvesting complex (LHCn) from grana to stroma lamellae as a consequence of its phosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 765, 89-96.
- Kärkönen A. & Kuchitsu K. (2015) Reactive oxygen species in cell wall metabolism and development in plants. *Phytochemistry*, 112, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.09.016>
- Larsson U. K. & Andersson B. (1985) Different Degrees of Phosphorylation and Lateral Mobility of Two Polypeptides Belonging to the Light-Harvesting Complex of Photosystem II. *Biochimica et*

Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 809, 396–402. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(85\)90190-2](https://doi.org/10.1016/0005-2728(85)90190-2)

Mittler R. (2017) ROS Are Good. *Trends in Plant Science*, 22, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>

Neilson J. A. D. & Durnford D. G. (2010) Structural and functional diversification of the light-harvesting complexes in photosynthetic eukaryotes. *Photosynthesis Research*, 106, 57–71. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9576-2>

Nguyen T. X., Chandrasekar S., Neher S., Walter P. & Shan S. (2011) Concerted Complex Assembly and GTPase Activation in the Chloroplast Signal Recognition Particle. *Biochemistry*, 50, 7208–17. <https://doi.org/10.1021/bi200742a>

Paulsen H., Finkenzeller B. & Kühlein N. (1993) Pigments induce folding of light-harvesting chlorophyll *a/b* -binding protein. *European Journal of Biochemistry*, 215, 809–816. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18096.x>

Plumley F. G. & Schmidt G. W. (1995) Light-Harvesting Chlorophyll *alb* Complexes: Interdependent Pigment Synthesis and Protein Assembly. *The Plant Cell*, 7, 689–704.

Polle J. E.W., Benemann J. R., Tanaka A. & Melis A. (2000) Photosynthetic apparatus organization and function in the wild type and a chlorophyll *b* -less mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*. Dependence on carbon source. *Planta*, 211, 335–344. <https://doi.org/10.1007/s004250000279>

Renger T., Klinger A., Steinecker F., Schmidt Am Busch M., Numata J. & Müh F. (2012) Normal Mode Analysis of the Spectral Density of the Fenna–Matthews–Olson Light-Harvesting Protein: How the Protein Dissipates the Excess Energy of Excitons. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116, 14565–14580. <https://doi.org/10.1021/jp3094935>

Scheer H. (2006) An Overview of Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications. Teoksessa B. Grimm, R. J. Porra, W. Rüdiger, & H. Scheer (Toim.), *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls* (Vsk. 25, ss. 1–26). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/1-4020-4516-6_1

Schünemann D. (2004) Structure and Function of the Chloroplast Signal Recognition Particle. *Current Genetics* 44, 295–304. <https://doi.org/10.1007/s00294-003-0450-z>.

Smith K. A., Ardel B. K., Huner N. P. A., Krol M., Myscich E. & Low P. S. (1988) Identification and Partial Characterization of the Denaturation Transition of the Light Harvesting Complex 11 of Spinach Chloroplast Membranes. *Plant Physio*, 90, 492–499.

Standfuss J. & Kühlbrandt W. (2004) The Three Isoforms of the Light-harvesting Complex II. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 36884–36891. <https://doi.org/10.1074/jbc.M402348200>

Tanaka R. & Tanaka A. (2011) Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the light-harvesting complexes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1807, 968–976. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.01.002>

Triantaphylidès C. & Havaux M. (2009) Singlet oxygen in plants: Production, detoxification and signaling. *Trends in Plant Science*, 14, 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.01.008>

Teodor A. H. & Bruce B. D. (2020) Putting Photosystem I to Work: Truly Green Energy. *Trends in Biotechnology*, 38, 1329–42. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.04.004>.

Tsakagoshi H., Busch W. & Benfey P. N. (2010) Transcriptional Regulation of ROS Controls Transition from Proliferation to Differentiation in the Root. *Cell* 143, 606–16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.10.020>.

Tu C. J., Peterson E. C., Henry R. & Hoffman N. E. (2000) The L18 Domain of Light-harvesting Chlorophyll Proteins Binds to Chloroplast Signal Recognition Particle 43. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 13187–13190. <https://doi.org/10.1074/jbc.C000108200>

Wada S., Suzuki Y. & Miyake C. (2020) Photorespiration Enhances Acidification of the Thylakoid Lumen, Reduces the Plastoquinone Pool and Contributes to the Oxidation of P700 at a Lower Partial Pressure of CO₂ in Wheat Leaves. *Plants* 9, 319.

Waldron J. C. & Anderson J. M. (1979) Chlorophyll-Protein Complexes from Thylakoids of a Mutant Barley Lacking Chlorophyll *b*. *European Journal of Biochemistry*, 102, 357–362. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1979.tb04250.x>

Wientjes E., Oostergetel G. T., Jansson S., Boekema E. J. & Croce, R. (2009) The Role of Lhca Complexes in the Supramolecular Organization of Higher Plant Photosystem I. *Journal of Biological Chemistry*, 284, 7803–7810. <https://doi.org/10.1074/jbc.M808395200>

Wientjes E., Van Amerongen H. & Croce R. (2013) Quantum Yield of Charge Separation in Photosystem II: Functional Effect of Changes in the Antenna Size upon Light Acclimation. *The Journal of Physical Chemistry B*, 117, 11200–11208. <https://doi.org/10.1021/jp401663w>

Woodson J. D. & Chory J. (2008) Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. *Nature Reviews Genetics*, 9, 383–395. <https://doi.org/10.1038/nrg2348>

Yamano T., Miura K. & Fukuzawa H. (2008) Expression Analysis of Genes Associated with the Induction of the Carbon-Concentrating Mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology*, 147, 340–354. <https://doi.org/10.1104/pp.107.114652>

Zeng J., Dong Z., Wu H., Tian Z. & Zhao Z. (2017) Redox regulation of plant stem cell fate. *The EMBO Journal*, 36, 2844–2855. <https://doi.org/10.15252/embj.201695955>