

НОВИЙ ПОГЛЯД НА ФЕРМЕНТАТИВНІ ПРОЦЕСИ ТА УРОЖАЙНІСТЬ ЗЕРНОВИХ ЗА УЧАСТІ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСНЮ У КОНТЕКСТІ НАЦІОНАЛЬНИХ ІНТЕРЕСІВ УКРАЇНИ

Панченко О. О.*, Сухина М. С.

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького,
бульвар Шевченка, 81, м. Черкаси 180000, Україна

*e-mail: panchenko9b@gmail.com

Кисень – це еліксир життя всіх аеробних організмів на Землі. Він складає 21% повітря, яким ми дихаємо, проте так було не завжди. Спочатку атмосфера нашої планети була переповнена вуглекислим газом, тому жили лише анаеробні примітивні організми, для яких не потрібен кисень. Але згодом трапилося диво: ціанобактерії, крихітні організми, розпочали засвоювати вуглекислий газ та воду за допомогою енергії сонячного світла, що зараз відомо як процес фотосинтезу, побічним продуктом якого є молекулярний кисень, який утворюється з молекули води. Період, що розпочався після цього, відомий як Велика киснева катастрофа, оскільки поява та накопичення в атмосфері нової двоатомної молекули призвела до ефекту метелика – незворотних подій, які зробили нашу планету такою, якою вона є зараз [1]. У результаті ця подія призвела до появи багатоклітинного життя, яке за допомогою кисню може існувати та процвітати на Землі. Окрім процесу дихання кисень також захищає нас від жорсткого ультрафіолетового випромінювання Сонця завдяки смугі поглинання Шумана – Рунге ($B^3\Sigma_u^- - X^3\Sigma_g^-$) в області 175–205 нм, та створює озоновий шар у стратосфері, що захищає від м'яких УФ-променів 240 нм.

Понад два століття кисень є об'єктом інтенсивних досліджень, відколи шведський хімік Шеєле вперше отримав цей чистий газ, розкладаючи чорну магnezію. Проте й до сьогодні є не повністю відомими механізми реакцій у живих організмах за участі кисню. Нині відомо, що реакції за участі кисню з органічними сполуками є забороненими за спіном, проте реакції фотосинтезу й дихання є яскравим прикладом подолання цієї заборони. Молекула O_2 має два неспарених електрони (спіни) на зовнішній електронній оболонці, тоді як майже вся органіка є діамagnetною і має спін, що дорівнює нулю.

У цій статті ґрунтовно розглянуто способи подолання молекулярним киснем спінових заборон під час його активації ферментами-каталізаторами. Особливу увагу приділено обґрунтуванню механізмів реакцій у живих організмах на прикладі фотосинтезу та дихання. Також підкреслено актуальний напрям вивчення механізму роботи ферменту рибулозобісфосфаткарбоксилази (RuBisCo), що дає можливість розвитку нових підходів підвищення врожайності зернових культур для аграріїв.

Ключові слова: спін-каталіз, активація кисню, оксигенази, електронний спін, супероксид аніон, спін-орбітальна взаємодія, RuBisCo.

ВСТУП. Спін електрона є центральною парадигмою сучасної хімічної науки, яку часто недооцінюють, оскільки більшість речовин є діаманітними, тобто їхній спін дорівнює нулю. Спін електрона є поняттям суто квантової механіки та не має жодного аналогу в макросвіті. Реакції, в яких беруть участь речовини з різною мультиплетністю, є забороненими за спіном. Для того, аби відбулися такі реакції, необхідним є його обертання, яке можуть здійснити лише особливі магнітні сили. Отже, для пояснення механізму таких реакцій потрібні особливі підходи, яких немає в традиційній хімії.

Зважаючи на те, що всі органічні речовини є діаманетиками, а кисень – це типова парамагнітна сполука, то реакції в живих організмах за участі кисню є суворо забороненими за спіном. У цій публікації досліджено основні механізми активації кисню, які дають змогу подолати спінову заборону в реакціях кисню з діаманітними речовинами. Дослідження зазначеної проблеми є важливим питанням національних інтересів, оскільки знання механізмів активації кисню дають змогу розвивати нові гіпотези у сфері фармацевтики, сільського господарства, матеріалознавства, біології, медицини тощо.

Аналіз останніх досліджень. Особливу наукову увагу кисень привертає ще з часів його відкриття. У публікаціях [2, 3] представлено аналіз ролі активації кисню в медицині, а також у [4] схарактеризовано способи подолання спінової заборони для кисню за допомогою оксигеназ та безкофакторних ферментів. У роботах [5–7] дослідники висвітлили особливості будови активної форми кисню (АФК) у вигляді супероксидані-

она та роль цієї АФК у подоланні спінової заборони.

Незважаючи на умови повномасштабної війни, аграрний сектор України проявляє належну спроможність забезпечувати відповідні потреби жителів країни. Безперечно, розвиток нових стратегій є важливими для сталого розвитку. У праці [8] повідомляється, що фермент РуБісКо є найпоширенішим ферментом, що забезпечує фіксацію вуглецю з атмосферного CO_2 . З іншого боку, цей фермент також відповідає за фіксацію кисню, що супроводжується одночасною втратою вуглецю. Автори роботи [8] стверджують, що пригнічення процесу оксигенації, що каталізується ферментом РуБісКо, може збільшити врожайність до 55 %. Однак впровадження методів пригнічення оксигенації наразі є неможливим за браком повного розуміння хімічного механізму роботи цього ферменту.

Метою статті є визначення ролі спін-орбітальної взаємодії в спін-заборонених реакціях та вивчення перспектив застосування цих знань у сільському господарстві.

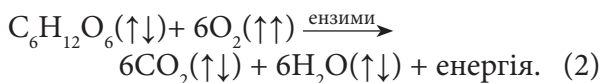
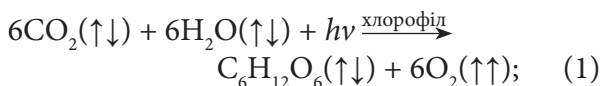
ЕКСПЕРИМЕНТ І ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ. Як відомо, електрон можна порівняти з магнітом, який має лише дві можливі орієнтації ($S_z = \pm 1/2$). У більшості молекул усі електрони зв'язуються попарно ($\uparrow\downarrow$), тобто молекули мають синглетний стан та не мають власного магнітного моменту, бо повний спін дорівнює нулю ($S = 0$). Однак молекула кисню завдяки особливій симетрії валентної оболонки атомів Оксигену має два неспарені електрони. Такий стан O_2 називається *триплетним* ($\uparrow\uparrow$) та визначає його основний стан із ненульовим спіном – стан, у якому молекула має найменшу енергію. Парамагнетизм

кисню було давно виявлено на практиці та теоретично обґрунтовано правилом Хунда: на двох розпушуючих π_g молекулярних орбіталях розміщуються два електрони з однаковим спіном [4]. Триплетний стан молекули має загальний спін, що дорівнює одиниці ($S = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1$), який призводить до утворення трьох різних проекцій на молекулярну вісь ($M_s = -1, 0, 1$ в одиницях Планка), звідки й походить термін «триплетність». Така властивість кисню врятувала нашу планету, оскільки якби було навпаки, то планета «згоріла» б ще на етапі початку синтезу кисню ціанобактеріями.

Реакції між молекулами з різною мультиплетністю є забороненими, оскільки для їхнього перебігу необхідна зміна спіну електрона, що можна здійснити лише особливими магнітними силами. Спінова заборона, звісно, легко долається в процесах горіння, бо ці процеси відбуваються за радикальним ланцюговим механізмом. Однак для живих клітин такий механізм є неприйнятним, бо є некерованим.

Фотосинтез – центральний процес для життя на Землі, оскільки він є основним джерелом енергії для живих організмів. Ця реакція (1) передбачає перетворення світлової енергії в хімічну, що акумулюється в органічних сполуках, таких як глюкоза. Ця реакція без перебільшення є найважливішою, однак вона є забороненою за спіном. Як бачимо, усі речовини, що беруть участь у реакції фотосинтезу (1), окрім кисню, мають синглетний спіновий стан ($\uparrow\downarrow$). З іншого боку, подальше окиснення утворених вуглеводів при диханні (2) теж супроводжується наявністю триплетного кисню $O_2(\uparrow\uparrow)$ серед синглетних вихідних речовин та продуктів. Отже, прямі реакції фотосинтезу та

органічного окиснення під час дихання за нормальних умов заборонено за спіном:



Упродовж десятиліть вчені всього світу намагаються розгадати парадигму утворення парамагнітного кисню з діаманітної води під час процесу фотосинтезу ($H_2O \rightarrow \frac{1}{2} O_2 + 2H$). Світлова фаза фотосинтезу здійснюється за допомогою системи з п'яти комплексів білків, які вбудовані в мембрани тилакоїдів хлоропластів. У фотосистемах I та II поглинаються кванти світла та їхню енергію передають до реакційного центру хлорофілів. Інші білкові комплекси беруть участь у перенесенні електронів завдяки встановленому протонному градієнту через мембрану тилакоїдів. Важливим центром фотосинтезу є фотосистема II, оскільки саме тут відбувається утворення кисню з молекули води [9]. Енергія світла, яку отримує фотосистема II, використовують для розщеплення молекули води на кисень та протони. Утворені протони в реакції розщеплення води використовують надалі для створення протонного градієнта вздовж тилакоїдної мембрани для хеміосмотичного синтезу АТФ.

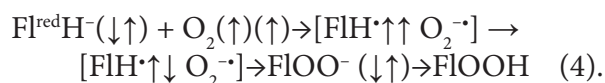
За своєю хімічною природою фотосистема II є комплексом складу $CaMn_4O_5$ [10], який ще має назву *комплекс виділення кисню* або *комплекс розщеплення води*. Уже протягом десятиліть вчені займаються вивченням структури цього комплексу для кращого розуміння його властивостей та функціонування. Вважається, що комплекс

виділення кисню є ферментом, що має неорганічний кофактор в активному центрі, який складається з чотирьох атомів Марганцю на різних ступенях окиснення, які зв'язані між собою через атоми Оксигену та Кальцію. Комплекс містить три атоми Mn^{III} та один атом Mn^{IV} . Робота цього комплексу загалом полягає в одноелектронному перенесенні електронів із $CaMn_4O_5$ на комплекс р680, унаслідок чого атоми Марганцю змінюють свій ступінь окиснення на +4. Для того щоб комплекс міг знову працювати, йому треба відновити атоми Mn до початкового стану. Це здійснюється за допомогою молекули води, яка віддає свої електрони комплексу $CaMn_4O_5$, щоб відновити його до $CaMn_3^{III}Mn^{IV}O_5$, а кисень під час цього виділяється як побічний продукт. Подолання спін-заборони під час цього відбувається завдяки обмінній взаємодії між спінами іонів Mn^{IV} і утвореного кисню.

Завдання синтезу кисню рослинами та ціанобактеріями є складним, проте непростим є і засвоєння кисню живими організмами, оскільки, як повідомлялося вище, реакції за участі кисню з органічними сполуками є забороненими за спіном. Пропонуємо огляд способів подолання цієї заборони ферментами, які використовують живі системи.

Ферменти або ензими, що мають у своєму складі кофактори з парамагнітними іонами металів, допомагають долати спінову заборону за допомогою каталізу обмінного типу, за якого парамагнітний іон металу віддає свої неспарені електрони системі, щоб послабити синглетно-триплетний відбір, тобто перевернення спіну електрона додатково забезпечує атом металу. Натомість багато реакцій оксигенації каталізують

ються ферментами, що не містять у своєму складі парамагнітних металів, деякі навіть є безкофакторними. Такі ферменти працюють за механізмом перенесення електрона з кофактора на кисень із подальшим утворенням супероксиду. Після цього відбувається обертання спіну, що зумовлюється внутрішніми магнітними силами супероксиду, які визначаються спін-орбітальною взаємодією (COV). Супероксид аніон $O_2^{\cdot-}$ має відносно велике очікуване значення оператора COV у $^2\Pi$ дублетному стані, який визначається наявністю одного неспареного електрона. Сутність активації кисню розглянемо на прикладі коферменту флавіну [2, 3]:



У ході реакції (4) утворюється проміжна радикальна пара $[FlH^{\cdot}\uparrow\uparrow O_2^{\cdot-}]$. На початку депротонований (reduced) аніон флавіну передає електрон кисню, утворюючи супероксид $O_2^{\cdot-}$, який має двічі вироджену відкриту оболонку. Єдиним способом, щоб відбувалася реакція (4), є залучення внутрішньої магнітної взаємодії COV, щоб змішати хвильові функції триплетного та синглетного станів у радикальній парі $[FlH^{\cdot}\uparrow\uparrow O_2^{\cdot-}]$.

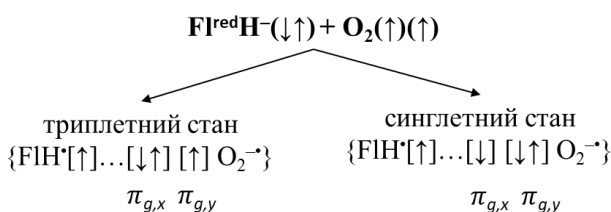


Рис. 1. Схема процесу оксигенації флавіну
Fig.1. Scheme of the oxygenation process of flavin.

Як бачимо з рис. 1, триплет-синглетний перехід визначається переходом електрона з $\pi_{g,x}$ на π_g у орбіталь $O_2^{\cdot-}$ з одночасним переворотом спіну, що зумовлюється взаємодією магнітного моменту обертання густини орбіталі π_g навколо осі z із магнітним моментом спіну. Цей механізм, відкритий у 2002 році на прикладі глюкозооксидази [2], виявився універсальним для всіх ферментів окиснення, кофактор яких не має іонів перехідних металів [3–17], що стало важливим етапом сучасної ензимології.

З іншого боку, є низка оксигеназ, що взагалі не залежать від кофактора. Наприклад, таким ензимом є бактеріальна 2,4-диоксигеназа (HOD). Цей фермент може діяти на субстрат 2-гідрокси-2-метил-4(1H)-хінолон (ГМХ). Активація кисню в цьому випадку відбувається подібним способом, як із флавінами: депротонований субстрат ГМХ знає перенесення електрона на кисень в активному центрі ферменту HOD із подальшим утворенням $O_2^{\cdot-}$. Далі «працює COB» у супероксиді та індукує $T \rightarrow S$ перехід [3, 4].

Отже, утворення супероксид аніона є важливим етапом активації кисню як коферментними ензимами, так і тими, що не мають коферменту. Спільним етапом є перенесення електрона на кисень з утворенням триплетної радикальної пари, у якій потім здійснюється $T \rightarrow S$ перехід під дією COB у відкритій оболонці $O_2^{\cdot-}$ [5].

Каталітичні механізми реакцій РуБісКо-Ко-карбоксилази/оксигенази

Рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксилаза/оксигеназа (РуБісКо) є основним карбонізуючим ферментом, який є у фотосинтезуючих організмах, отже, є необхідним шлюзом для перенесення вуглецю з атмосферного

неорганічного CO_2 у біосферу [11, 12]. Однак еволюцію РуБісКо протягом геологічного часу було ускладнено великими змінами абсолютних та відносних концентрацій CO_2 та O_2 в атмосфері, а також складною та важкою хімією в багатостадійному механізмі РуБісКо. Його молярна активність становить лише приблизно фіксацію трьох молекул CO_2 за секунду в рослинах із С3-фотосинтезом. У зв'язку з цим для підтримки належного фотосинтезу потрібна велика кількість РуБісКо; він складає до 50% розчинної білкової речовини в листі і є найбільш поширеним білком на Землі [12]. Ефективність РуБісКо, таким чином, є основним фактором, що обмежує фотосинтетичний потенціал рослин та врожайність. Інженерне вдосконалення РуБісКо та його впровадження в рослину з покращеною фотосинтетичною продуктивністю можна розглядати як заповітну мету в рослинній біології [13].

Корінь каталітичної дилеми РуБісКо полягає в його походженні в безкисневому світі та, здається, обмеженій здатності адаптуватися до атмосфери, що містить кисень O_2 , який, що парадоксально, було створено фотосинтезом. Розвиток кисневмісної атмосфери зіткнув РуБісКо з новим газом, який ще був відсутній за часу його утворення та є конкурентоспроможним субстратом для CO_2 у реакції фіксації кисню. На жаль, отримані продукти потрібно повторно переробити за допомогою фотореспірації, що витрачає вуглець та енергію. У поточній атмосфері зі вмістом CO_2 408 млн^{-1} (0,041%) та 21% O_2 , фотореспірація може стримувати фотосинтез рослин типу C_3 на понад 30% за високих температур ($t > 30^\circ C$). Складність ланцюга

реакції, яку каталізує RuBisCo, що обмежує простір ланцюгоактивних центрів, доступних для мутації, є, ймовірно, основним фактором цієї еволюційної перешкоди [14]. Крім цього, до утворення та підтримки функціональної форми RuBisCo, яка є гексадекамерним комплексом із 8 великих та 8 малих підодиниць (L_8S_8), залучено кілька інших ядернокодованих ферментів. Важливість взаємодії RuBisCo з цими ферментами також обмежує простір ланцюга, що доступний RuBisCo для еволюційного переналаштування його типу каталізу.

Оскільки стабільна форма молекулярного кисню є бірадикалом, який існує в триплетному стані (3O_2), його реакція з молекулами в синглетному стані є забороненою за спіном. Це є типовим для більшості хімічних сполук на Землі. Як підсумок: хоча окиснення органічних субстратів киснем 3O_2 термодинамічно є можливим, проте кінетично воно є забороненим і повільним [7]. Відносна кінетична пасивність 3O_2 вимагає його активації зазвичай за допомогою серії реакцій передачі одного електрона. Природа досягла цього, залучаючи іони перехідних металів, зокрема залізо, мідь або органічні кофактори для ферментів, які каталізують реакції приєднання 3O_2 до органіки. Іони перехідних металів існують у багатьох окисних станах і можуть активувати 3O_2 за допомогою передачі одного електрона та обмінного механізму. Іони перехідних металів також мають значну спин-орбітальну взаємодію, тому ймовірність заборонених за спіном переходів у комплексах із такими іонами практично така сама, як і у дозволених за спіном переходів [15]. З іншого боку, кілька оксигеназних ферментів використовують окис-

но-відновні активні гетероароматичні кофактори, такі як флавіни, птерини, хінони та їхні похідні як окисно-відновні каталізатори для активації 3O_2 [4,16]. Додаткові або неспарені електрони в цих сполуках дуже делокалізовані, що сприяє стабільності хімічних утворень, які потім активують 3O_2 за допомогою передачі одного електрона на супероксид і посилення COV у радикальних парах типу $[F\dot{H}\cdot\uparrow\uparrow O_2^{\cdot-}]$.

В останні десятиліття було ідентифіковано багато ферментів, що працюють без кофакторів, наприклад, моно- та діоксигенази [16]. RuBisCo є першою діоксигеназою, вільною від кофактора [18]. У цих випадках сам субстрат є джерелом електрона для активації 3O_2 . Однак у всіх наведених прикладах субстрат має ароматичний цикл для стабілізації негативного заряду на субстраті перед активацією 3O_2 . З іншого боку, у RuBisCo субстратом у стадії додавання O_2 є ендіолат, який не має ароматичних фрагментів (Рис. 2). Розглянемо далі більш детально процеси каталізу RuBisCo.

Основна реакція, що каталізується RuBisCo, – це додавання CO_2 і H_2O до RuBP з утворенням двох молекул 3-фосфогліцерату (3PGA). Вона включає кілька окремих етапів і пов'язаних проміжних продуктів змінної стабільності (рис. 2). Щоб бути функціональним, RuBisCo вимагає попередньої активації за допомогою карбонілювання ϵ -аміногрупи активного центру білкового залишку Lys201 [17] молекулою CO_2 , яка відрізняється від субстрату молекулою CO_2 . Усі деталі білкової структури RuBisCo опущено на Рис. 2. Карбонільований Lys201 стабілізується зв'язуванням іона магнію з карбаматом. Карбоксилювання включає принаймні чотири, можливо, п'ять окре-

мих стадій і принаймні три перехідні стани: енолізація RuBP, карбоксилювання 2,3-ендіоляту та гідратація отриманого кетону, вуглець-вуглецеве розщеплення та стереоспецифічне протонування отриманого карбоксилату – одного з продуктів 3PGA. Деякі, якщо не всі із цих етапів включають кислотно-основну хімію. Значний час і зусилля було витрачено на ідентифікацію залишків ферментів, які беруть участь у

каталізі. Кристалічні структури з високою роздільною здатністю забезпечили стеричні обмеження, **тоді як** хімічна модифікація, центрально-спрямований **мутагенез....?** Розрахунки молекулярної динаміки та квантово-хімічний аналіз додали механістичних та енергетичних обмежень [18, 19]. Ми узагальнили основні моменти структури та кінетики RuBisCo тією мірою, якою їх було досліджено [19–20].

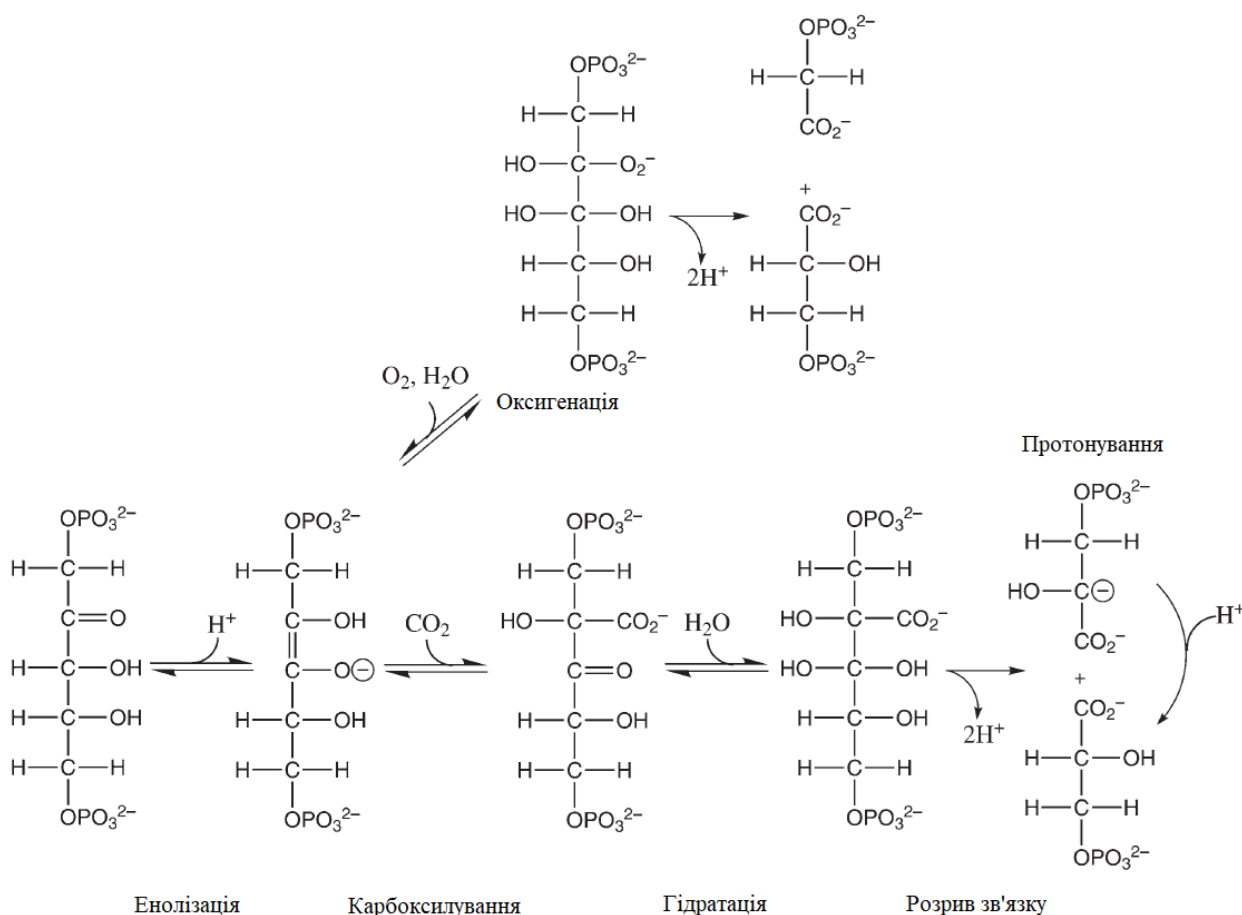


Рис. 2. Основні реакції, що каталізуються RuBisCo, карбоксилювання та окиснення RuBP

Fig. 2. The main reactions catalyzed by RuBisCo are the carboxylation and oxygenation of RuBP.

Раніше ми згадували про відомі на сьогодні нові серії діоксигеназ без кофактора, які можуть каталізувати введення молекули O_2 в ароматичні субстрати. Здатність віддавати електрон кисню є вирішальною вимогою до субстрату. Така здатність для еноляту є не дуже високою, оскільки довжина його ланцюга π -кон'югації обмежена. Основні фактори окиснювально-відновної активності в парі «енолят- O_2 » залежать від фосфатних груп та від водневого зв'язку, стереохімічних та електростатичних багатфакторних обмежень в активних центрах ферменту. Ці гнучкі стереохімічні обмеження створюють належне віброне середовище для одноелектронного перенесення та для переходу $T \rightarrow S$ у парі радикалів $E^+ \dots O_2^-$. Можна нагадати, що ці неадіабатичні процеси дуже чутливі до коливальних мод, енергії реорганізації розчину та спіно-вібронних взаємодій. Перелічені вище фактори повинні бути найбільш сприятливими в RuBisCo. Уявна константа Міхаеліса для шляху оксигенації є набагато вищою, ніж для каталізу карбоксилування в багатьох рослинах [20]. Попередня реакція включає додатковий недолік: переворот спіну вимагає дуже специфічних обмежень у структурі активних центрів ферментів для міжмолекулярних коливань і ускладненого обертового руху O_2 [21]. Розрахунок константи обертання для цієї симетричної системи повинен включати електростатичну взаємодію між іонами O_2^- та Mg^{2+} у вузькій порожнині активного центра ферменту. Молекулярне обертання радикала O_2^- модулює перекриття між орбіталями в радикальній парі ($RuBP^+ \dots O_2^-$), що впливає на енергетичну щільність $T-S$ і швидкість перевороту спіну. Головний фактор реак-

ції – спіно-орбітальна взаємодія у π -оболонці супероксиду, визначається самою структурою цієї двоатомної молекули й не залежить від іонів металу.

ВИСНОВКИ. Кисень є однією з найважливіших молекул, яка забезпечує життя на Землі. Однак у живих організмах реакції за його участю є забороненими за спіном, окрім реакцій, що відбуваються за радикальним механізмом. Згідно з результатами, генерація супероксиду O_2^- ферментами є необхідною для подолання спінової заборони в реакціях окиснення. Радикальний супероксид O_2^- має здатність перевертати спіно завдяки внутрішнім магнітним силам у відкритій оболонці аніона через утворення триплетної радикальної пари з органічним субстратом (відновником).

Важко перебільшити важливість ферменту рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксилази/оксигенази. RuBisCo каталізує первинну фотосинтетичну реакцію відновлення CO_2 , фіксацію атмосферного CO_2 до рибулозо-1,5-бісфосфату з утворенням двох молекул 3-фосфогліцерату, який згодом використовується для побудови органічних молекул життя. Завдяки своїй ключовій ролі у фотосинтетичній фіксації вуглецю RuBisCo зустрічається в більшості автотрофних організмів, а також у фотосинтезуючих бактеріях, ціанобактеріях, водоростях та рослинах.

Розуміння механізмів спіно-орбітальної активації кисню в живих системах є важливим для розроблення стратегій підвищення врожайності сільськогосподарських культур та підвищення ефективності роботи фотосинтетичних систем під час вироблення біоенергії. Новий механізм внутрішньої COB у супероксиді, що визначається пере-

ходом електрона з $\pi_{g,x}$ на π_g у орбіталь O_2^- з одночасним переворотом спіну, є ключем до розуміння критичної стадії оксигенації у ферменті РубісКо. Знання цього механізму допоможе направити генну інженерію рибулозобісфосфатоксигенази на зменшення ролі фотодихання рослин та значного збільшення урожайності.



Висловлюємо подяку доктору хімічних наук, професору, заслуженому діячу науки та техніки України Мінаєву Борису Пилиповичу за надання наукових консультацій в ході роботи над статтею."

A NEW VISION OF ENZYMATIC PROCESSES AND THE YIELD OF CEREALS WITH THE PARTICIPATION OF MOLECULAR OXYGEN IN THE CONTEXT OF THE NATIONAL INTERESTS OF UKRAINE.

Panchenko O.O.*, Sukhyna M. S.

Bohdan Khmelnytsky Cherkasy National University,

81 Shevchenko Ave, 180000 Cherkasy, Ukraine

**e-mail: panchenko9b@gmail.com*

Oxygen is the elixir of life for all aerobic organisms on Earth. It makes up 21% of the air we breathe, but that wasn't always the case. Initially, our planet's atmosphere was full of carbon dioxide, so only primitive anaerobic organisms, which do not need oxygen for living, could survive. But then a miracle happened: cyanobacteria, tiny organisms, began to use the energy of sunlight to assimilate carbon dioxide

and water, a process now known as photosynthesis, which produces molecular oxygen from a water molecule as a by-product. The period that followed is known as the Great Oxygen Catastrophe, as the emergence and accumulation of a new two-atom molecule in the atmosphere led to the butterfly effect, an irreversible event that made our planet what it is today [1]. In turn, this event led to the emergence of multicellular life, which can exist and thrive on Earth with the help of oxygen. In addition to respiration, oxygen protects us from the Sun's harsh ultraviolet radiation through the Schumann-Runge absorption and ($B^3\Sigma_u^- - X^3\Sigma_g^-$) in the 175–205 nm range and creates an ozone layer in the stratosphere that protects us from the softer UV rays of 240 nm.

Oxygen has been the subject of intense research for more than two centuries, ever since the Swedish chemist Scheele first obtained this pure gas by decomposing black magnesite. However, the mechanisms of reactions involving oxygen in living organisms are still not fully understood. It is now known that reactions of oxygen with organic compounds are forbidden by spin, but photosynthesis and respiration are vivid examples of how this prohibition can be overcome. The O_2 molecule has two unpaired electrons (spins) on the outer electron shell, whereas almost all organic matter is diamagnetic and has zero spin.

How molecular oxygen overcomes spin prohibition during its activation by enzymes is discussed in this article. Particular attention is paid to understanding reaction mechanisms in living organisms, using photosynthesis and respiration as examples. Furthermore, the topical area of studying the mechanism of the Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (RuBisCo) is emphasized, which offers the possibility of

developing new approaches to increasing cereal yields for farmers.

Keywords: spin catalysis, oxygen activation, oxygenases, electron's spin, superoxide anion, spin-orbit interaction, RuBisCo.

ЛІТЕРАТУРА

1. Carter R. Book of the Month: Oxygen: The Molecule that Made the World. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2003. Vol. 96, no. 1. P. 46–47. URL: <https://doi.org/10.1177/014107680309600114>
2. Minaev B. F. Spin effects in reductive activation of O_2 by oxydase enzymes. *RIKEN Review*, 2002. Vol. 44, no. 2. P. 147–149.
3. Minaev B. The spin of dioxygen as the main factor in pulmonology and respiratory care. *Archives of Pulmonology and Respiratory Care*. 2022. Vol. 8, no. 1. P. 028–033. URL: <https://doi.org/10.17352/aprc.000081>
4. Мінаєв Б. П. Спін-каталіз окиснення ненасичених субстратів моно- і диоксигеназами, вільними від кофатора. Як триплетний кисень може подолати спінову заборону / Б. П. Мінаєв, О. О. Панченко // Український журнал медицини, біології та спорту. 2019. Т. 4, № 6. С. 329–343.
5. Minaev B. Magnetc Torque in Superoxide Ion is the Main Driving Force of Dioxygen Activation in Aerobic Life. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2021. Vol. 38, no. 4. URL: <https://doi.org/10.26717/bjstr.2021.38.006171>
6. Minaev B. F. Singlet-excited dioxygen $O_2(a^1\Delta_g)$ and organic pollutants in marine waters beneath the Sun. *Annals of Marine Science*. 2023. Vol. 7, no. 1. P. 025–033. URL: <https://doi.org/10.17352/ams.000035>
7. Klinman J. P. How Do Enzymes Activate Oxygen without Inactivating Themselves?. *Accounts of Chemical Research*. 2007. Vol. 40, no. 5. P. 325–333. URL: <https://doi.org/10.1021/ar6000507>.
8. The Costs of Photorespiration to Food Production Now and in the Future / B. J. Walker et al. *Annual Review of Plant Biology*. 2016. Vol. 67, no. 1. P. 107–129. URL: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-111709>
9. Li X., Siegbahn P. E. M. Alternative mechanisms for O_2 release and O–O bond formation in the oxygen evolving complex of photosystem II. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2015. Vol. 17, no. 18. P. 12168–12174. URL: <https://doi.org/10.1039/c5cp00138b>
10. Paul S., Neese F., Pantazis D. A. Structural models of the biological oxygen-evolving complex: achievements, insights, and challenges for biomimicry. *Green Chemistry*. 2017. Vol. 19, no. 10. P. 2309–2325. URL: <https://doi.org/10.1039/c7gc00425g>
11. Kannappan B., Cummins P. L., Gready J. E. Mechanism of Oxygenase-Pathway Reactions Catalyzed by Rubisco from Large-Scale Kohn-Sham Density Functional Calculations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2019. Vol. 123, no. 13. P. 2833–2843. URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b00518>
12. Wildman S. G. Alongthe Trail from Fraction I Protein to Rubisco (Ribulose Bisphosphate Carboxylase-Oxygenase). *Photosynthesis Research*. 2002. Vol. 73, no. 1/3. P. 243–250. URL: <https://doi.org/10.1023/a:1020467601966>
13. Gready J. E., Kannappan B. Process for Generation of Protein and Uses There of : patent US12/422190 United States. Applied on 2009; published on 2017.
14. Sage R. F. The evolution of C_4 photosynthesis. *New Phytologist*. 2004. Vol. 161, no. 2. P. 341–370. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.00974.x>.
15. Silva P. J. Refiningthe Reaction Mechanism of O_2 TowardsitsCo-substrate in Cofactor-free Dioxygenases. *Peer J*. 2016. Vol. 4, no. e2805.

16. Fetzner S. Oxygenases without requirement for cofactors or metal ions. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2002. Vol. 60, no. 3. P. 243–257.
URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1123-4>.
17. Lorimer G. H., Miziorko H. M. Carbamate formation on the epsilon.-amino group of a lysyl residue as the basis for the activation of ribulosebiphosphate carboxylase by carbon dioxide and magnesium(2+). *Biochemistry*. 1980. Vol. 19, no. 23. P. 5321–5328.
URL: <https://doi.org/10.1021/bi00564a027>.
18. Andersson I., Taylor T. C. Structural framework for catalysis and regulation in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2003. Vol. 414, no. 2. P. 130–140.
URL: [https://doi.org/10.1016/s0003-9861\(03\)00164-4](https://doi.org/10.1016/s0003-9861(03)00164-4).
19. Andersson I. Catalysis and regulation in Rubisco. *Journal of Experimental Botany*. 2007. Vol. 59, no. 7. P. 1555–1568.
URL: <https://doi.org/10.1093/jxb/ern091>
20. Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activates O₂ by electron transfer / C. Bathellier et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020. Vol. 117, no. 39. P. 24234–24242.
URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.2008824117>
21. Minaev B. F., Valiev R. R. Spin-orbit coupling effects in O(2) activation by cofactor-independent 2,4-dioxygenase. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91, no. 1. P. 38–46.
URL: <https://doi.org/10.15407/ubj91.01.038>
3. Minaev B. The spin of dioxygen as the main factor in pulmonology and respiratory care. *Archives of Pulmonology and Respiratory Care*. 2022. **8**(1): 28–33.
4. Minaev, B. F. & Panchenko, A. A. Spin-kataliz okysnennia nenasychenykh substrativ mono i dy-oksyhenazamy, vilnymy vid kofatoru. Yak trypletnyi kysen mozhe podolaty spino-vu zaboronu [Spin-catalysis of Unsaturated Substrates Oxidation by Cofactor-free Mono- and Di-oxygenases. How Triplet Oxygen Can Overcome Spin Prohibition]. *Ukrainskyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu – Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*. 2019. **6**. 329–343 [in Ukrainian].
5. Minaev B. Magnetic Torque in Superoxide Ion is the Main Driving Force of Dioxygen Activation in Aerobic Life. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2021. **38**(4).
6. Minaev B. F. Singlet-excited dioxygen O₂(a¹Δ_g) and organic pollutants in marine waters beneath the Sun. *Annals of Marine Science*. 2023. **7**(1): 025–033.
7. Klinman J.P. How Do Enzymes Activate Oxygen without Inactivating Themselves? *Accounts of Chemical Research*. 2007b. **40**(5): 325–333.
8. Walker B.J., VanLoocke A., Bernacchi C.J., & Ort D.R. The costs of photorespiration to food production now and in the future. *Annual Review of Plant Biology*. 2016. **67**(1): 107–129.
9. Li X., & Siegbahn P. E. M. Alternative mechanisms for O₂ release and O–O bond formation in the oxygen evolving complex of photosystem II. *Physical Chemistry Chemical Physics / PCCP. Physical Chemistry Chemical Physics*. 2015. **17**(18): 12168–12174.
10. Paul S., Neese F., & Pantazis D. A. Structural models of the biological oxygen-evolving complex: achievements, insights, and challenges for biomimicry. *Green Chemistry*. 2017. **19**(10): 2309–2325.
11. Kannappan B., Cummins P. L., & Gready J. E. Mechanism of Oxygenase-Pathway Reactions

REFERENCES

1. Carter R. Book of the Month: Oxygen: The Molecule that Made the World. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2003. **96**(1): 46–47.
2. Minaev B.F. Spin effects in reductive activation of O₂ by oxydase enzymes. *RIKEN Review*. 2002. **44**(2): 147–149.

- Catalyzed by Rubisco from Large-Scale Kohn-Sham Density Functional Calculations. *The Journal of Physical Chemistry. B*. 2019. **123**(13): 2833–2843.
12. Wildman S.G. Along the trail from Fraction I protein to Rubisco (ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase). *Photosynthesis Research*. 2002. **73**: 243–250.
 13. Gready J. E., Kannappan B. *Process for Generation of Protein and Uses Thereof* (U.S. Patent No. 9,598,688 B2). United States Patent. 2017.
 14. Sage R. F. The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytologist*. 2003. **161**(2): 341–370.
 15. Silva P. J. Refining the reaction mechanism of O₂ towards its co-substrate in cofactor-free dioxygenases. *Peer J*. 2016. **4**: e2805.
 16. Fetzner S. Oxygenases without requirement for cofactors or metal ions. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2002. **60**(3): 243–257.
 17. Lorimer G. H., & Miziorko H. M. Carbamate formation on the .epsilon.-aminogroup of a lysylresidue as the basis for the activation of ribulosebiphosphatecarboxylase by carbon dioxide and magnesium(2+). *Biochemistry*. 1980. **19**(23): 5321–5328.
 18. Andersson I., & Taylor, T. C. Structural framework for catalysis and regulation in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2003. **414**(2): 130–140.
 19. Andersson I. Catalysis and regulation in Rubisco. *Journal of Experimental Botany*. 2007. **59**(7): 1555–1568.
 20. Bathellier C., Yu L.J., Farquhar G.D., Coote M.L., Lorimer G.H., & Tcherkez G. Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activates O₂ by electron transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2020. **117**(39): 24234–24242.
 21. Minaev B.F., & Valiev R.R. Spin-orbit coupling effects in O₂ activation by cofactor-independent 2,4-dioxygenase. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. **91**(1): 38–46.

Стаття надійшла 23.11.2023.