

ФОТОСИСТЕМА 1 ЦИАНОБАКТЕРИЙ: ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИИ

© 2001 г.

Н. В. КАРАПЕТЯН

Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва

I. Введение. II. Молекулярная организация пигмент-белкового комплекса фотосистемы 1. III. Комплекс фотосистемы 1 в цианобактериях существует преимущественно в виде тримера. IV. Различия в организации комплексов фотосистемы 1 цианобактерий и высших растений. V. Организация пигментной антенны тримеров и мономеров фотосистемы 1. VI. Миграция энергии в антенне фотосистемы 1: роль длинноволновых форм хлорофилла. VII. Разделение зарядов в реакционном центре. VIII. Происхождение и эволюция фотосистем. IX. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

В окисленном фотосинтезе превращение световой энергии в химическую происходит с участием последовательно функционирующих фотосистемы 2 и фотосистемы 1 (ФС2 и ФС1), которые представлены в мембране тилакоидов в виде пигмент-белковых комплексов [16]. Комплекс ФС2 участвует в фотовыделении кислорода из воды и восстановлении пластохинонов. Комплекс ФС1, функционируя как пластоцианин:ферредоксин оксидоредуктаза, катализирует окисление цитохрома типа *c* или пластоцианина и восстановление растворимого ферредоксина в строме. Восстановленный ферредоксин участвует в генерации НАДФН, перенос электрона по фотосинтетической цепи сопровождается образованием АТФ. Комплексы ФС1

Принятые сокращения: ФС1, ФС2 — фотосистема 1, фотосистема 2; P700, P680 — первичные доноры электрона ФС1 и ФС2; LHC1, LHC2 — светособирающие комплексы ФС1 и ФС2; A₀ — первичный акцептор электрона ФС1, мономерный хлорофилл; A₁ — вторичный акцептор электрона ФС1, филлохинон; F_x — промежуточный акцептор электрона ФС1, связанный железо-серный центр; F_A/F_B — железо-серные центры ФС1, связанные с полипептидом PsaC; Хл710, Хл735 — хлорофилл, поглощающий при 710 или 735 нм; Ф690, Ф730, Ф760 — полосы флуоресценции форм хлорофиллов при 690, 730 или 760 нм; КД — круговой дихроизм; DAS, decay-associated spectrum — спектр флуоресценции, измеренный на основании кинетики спада испускания при различных длинах волн в пикосекундном интервале.

Адрес для корреспонденции: e-mail: nkarap@inbi.ras.ru

и ФС2 отличаются как полипептидами, так и реакционными центрами и формами хлорофиллов, включенных в пигментную антенну, что определяет специфику их функционирования.

Начало представлениям о ФС1 положили данные Б. Кока, который обнаружил в 1956 г. фотоиндуцированные изменения поглощения при 700 нм у совершенно разных типов водорослей и у хлоропластов, выделенных из высших растений [78]. Обнаружение этого эффекта у разных фотосинтезирующих организмов привело его к выводу об универсальности пигмента, ответственного за наблюдаемые спектральные изменения. Малое содержание пигмента (менее 0,5% от общего хлорофилла), ответственного за обратимое фотовыцветание полосы при 700 нм, позволило предположить, что основная масса хлорофилла функционирует как антенна для поглощения энергии света и его передачи молекуле хлорофилла в особом состоянии, которая фотохимически активна и связана как с антенной, так и с компонентами цепи переноса электрона [79]. В дальнейшем эта молекула хлорофилла (P700 в ФС1) получила название первичный донор электрона реакционного центра. Следует отметить, что подобный пигмент реакционного центра ФС2 (P680) был обнаружен позже [31, 143]. Главная роль молекулы хлорофилла в реакционных центрах (P700 и P680) — сопряжение процессов преобразования энергии и фотосинтетического переноса электрона.

Поскольку цианобактерии являются прокариотами, то синтез полипептидов у них происходит в рибосомах, делокализованных в клетке [46]. Синтез полипептидов фотосинтетического аппарата высших растений (эукариотов) происходит с участием ядерного и хлоропластного геномов, при этом ядерный геном кодирует синтез гидрофильных, а хлоропластный геном — гидрофобных белков [25, 26, 88, 106, 115]. Следует отметить высокую консервативность структуры ФС1 высших растений, водорослей и цианобактерий: субъединичный состав примерно одинаков, хотя существуют некоторые различия. Эукариоты и прокариоты, фотосинтез которых сопровождается выделением кислорода, содержат пигмент-белковые кор-комплексы обеих фотосистем. В каждый из комплексов фотосистем у высших растений и водорослей включены светособирающие комплексы ЛНС1 и ЛНС2, содержащие хлорофиллы *a* и *b*, которые поглощают энергию света и передают ее хлорофиллам *a* кор-комплексов ФС1 и ФС2 [59], увеличивая тем самым поперечное сечение поглощения. ЛНС1 состоит из двух типов комплексов Lhca, которые окружают кор-комплекс ФС1, а ЛНС2 — из 6 типов комплексов Lhcb (всего около 30 комплексов), которые связаны с кор-комплексом ФС2, содержащим 40-50 хлорофиллов. Общее число хлорофиллов антенны на P680, включая хлорофиллы светосборщиков, у ФС2 высших растений достигает 230-250 [59].

В отличие от высших растений, цианобактерии лишены хлорофилл-содержащих светособирающих комплексов, и весь хлорофилл локализован в кор-комплексах ФС1 и ФС2 (46). Роль основного светосборщика в цианобактериях выполняют фикобилисомы, включающие фикоэритрин, фикоцианин и аллофикоцианин; состав и организация фикобилисом различны у разных цианобактерий [15, 39, 91, 107]. Поглощенную энергию фикобилисомы передают хлорофиллам антенны ФС2 или ФС1, что зависит от состояния фотосинтетического аппарата [15, 107, 112, 138]. Следует отметить, что мутанты цианобактерии *Synechococcus* sp., дефицитные по полипептидам PsaL и PsaI и не содержащие тримеров ФС1, тем не менее способны к изменению состояния фотосинтетического аппарата [116].

Молекулярной организации ФС1 и функционированию цепи переноса электрона ФС1 был посвящен ряд обзоров, в которых эти аспекты обсуждались отдельно [21, 26, 37, 46, 47, 88, 106]. В данной работе сделана попытка рассмотреть совместно организацию и функции пигмент-белковых комплексов ФС1 цианобактерий. Основное внимание будет уделено рассмотрению организации пигментной антенны, кинетики миграции энергии в пигментной антенне и разделению зарядов в реакционном центре ФС1, включая наши данные по тримерам ФС1 цианобактерии *Spirulina platensis*. Будут приведены доказательства существования комплекса ФС1 у цианобактерий в виде тримеров и обсуждены различия в организации пигментной антенны тримеров и мономеров ФС1 цианобактерий и высших растений. Так как роль длинноволновых форм хлорофилла в процессах фотосинтеза долгое время оставалась неясной, будет рассмотрен вопрос об участии этих форм в миграции энергии в антенне ФС1 и о роли тримеров в цианобактериальном фотосинтезе.

II. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПИГМЕНТ-БЕЛКОВОГО КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ 1

Состав полипептидных субъединиц в комплексе ФС1 цианобактерий и их расположение в комплексе были установлены на основании биохимических и биофизических исследований, данных иммунохимического и мутантного анализа и электронной микроскопии (рис. 1). Рентгено-структурный анализ (с разрешением 4 Å) кристалла тримера комплекса ФС1, выделенного из термофильной цианобактерии *Synechococcus elongatus*, позволил выявить молекулярную структуру этого комплекса [118]. Показано, что тример ФС1 имеет дискоидальную форму диаметром около 210 Å и максимальной толщиной 90 Å. Каждый мономер представляет собой эллипсоид длиной 130 Å и

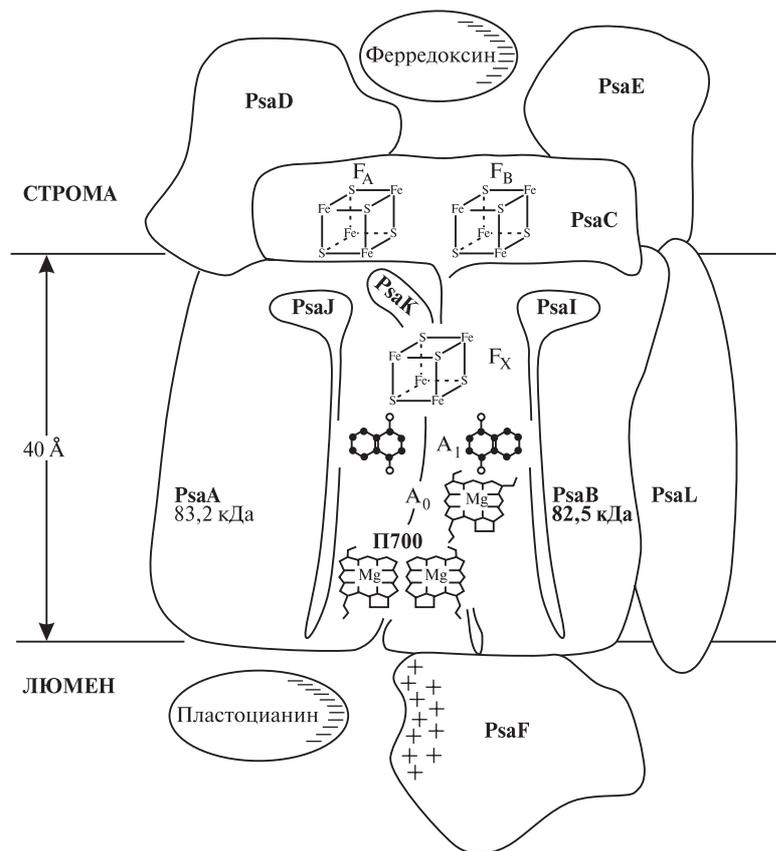


Рис. 1. Схема структурной организации полипептидов в комплексе фотосистемы 1 цианобактерий [45] до публикации данных рентгено-структурного анализа [77, 111]; обозначения в тексте.

шириной 105 \AA . Комплекс состоит из 11 полипептидов (PsaA-PsaF, PsaI-PsaM), названных согласно соответствующим генам, ответственным за их синтез [46]. Структура каждого мономера включает 43 α -спирали, из которых 11 являются трансмембранными, три локализованы на стромальной поверхности кор-комплекса PsaA/PsaB, и одна — на люменальной поверхности того же комплекса.

На рис. 2 представлена структура реакционного центра ФС1 цианобактерии *Synechococcus elongatus*, который состоит из специальной пары П700 (первичный донор электрона), первичного акцептора электрона A_0 (мономерный хлорофилл), вторичного акцептора

электрона A_1 (Q_K , филлохинон) и промежуточного акцептора электрона (железо-серный центр F_X), локализованных на гетеродимерном белке PsaA/PsaB (82–83 кДа). Полипептиды PsaA и PsaB высших растений и цианобактерий высоко гомологичны [46]. Каждый мономерный комплекс в тримере содержит П700. Специальная пара П700 представляет собой димер хлорофилла a , расстояние между центрами молекул хлорофилла, обозначенных как $eC1$ и $eC'1$, составляет 6,9 Å [118]. На расстоянии 12 Å от П700 расположена вторая пара молекул хлорофилла $eC2$, названных дополнительными (accessory): их роль в первичных процессах пока не установлена. Третья пара хлорофиллов $eC3$, расположенная на расстоянии 21 Å от П700, выполняет роль первичного акцептора электрона (A_0). Связь хлорофиллов антенны с П700 осуществляется через две молекулы так называемого линкерного хлорофилла cC и cC' , которые расположены на расстоянии 13 и 15 Å от молекул A_0 ($eC3$ и $eC'3$). Молекулы филлохинона (Q_K) служат вторичными акцепторами электрона A_1 , расположенными на расстоянии 25–26 Å от П700 [72, 118]: недавно уточнено положение второй молекулы филлохинона, которая расположена несимметрично относительно другой молекулы филлохинона [75].

Таким образом, в фотопереносе электрона ФС1 участвуют 6 молекул хлорофилла, 2 молекулы филлохинона и 3 железо-серных кластера [4Fe4S], если обе ветви включены в фотоперенос электрона. Однако предполагается, что только одна из ветвей переноса электрона, включающая A_0 и A_1 , участвует в фотопереносе электрона [118]. Филлохинон передает электрон железо-серному центру F_X , локализованному близко к стромальной поверхности гетеродимерного полипептида PsaA/PsaB: расстояние от П700 до F_X составляет 32 Å. Железо-серные кластеры F_A/F_B (терминальные акцепторы электрона), которые

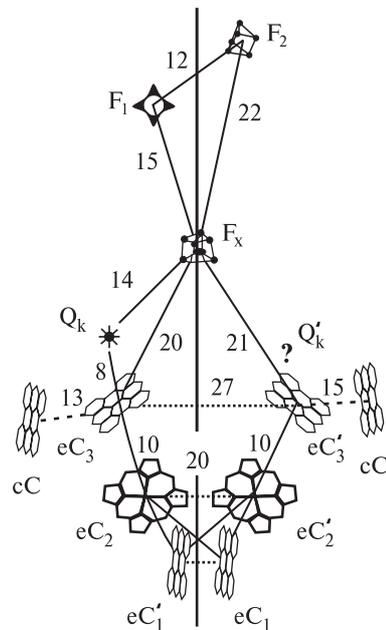


Рис. 2. Схема расположения переносчиков электрона и хлорофиллов в реакционном центре фотосистемы 1 на основании данных рентгено-структурного анализа тримеров, выделенных из цианобактерии *Synechococcus elongatus* [111]; обозначения в тексте.

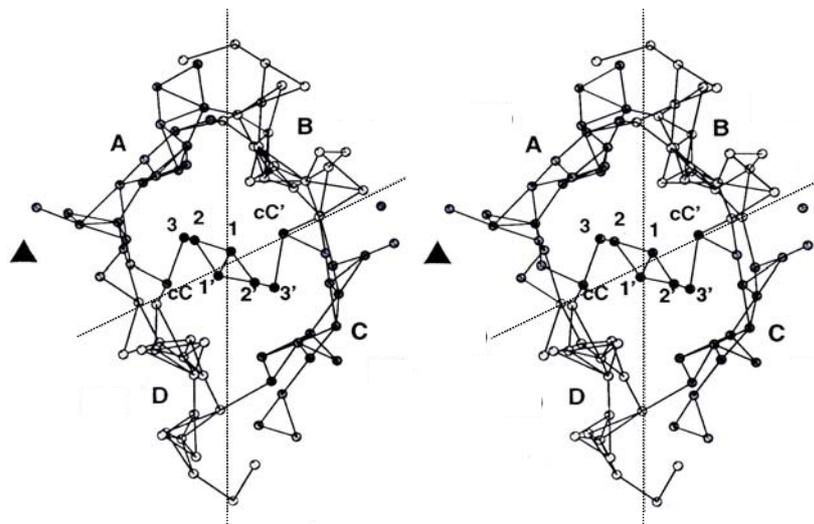


Рис. 3. Схема расположения антенных хлорофиллов и хлорофиллов реакционного центра комплекса ФС1 из цианобактерии *Synechococcus elongatus* [118].

Локальные кластеры хлорофилла обозначены как А, В, С, D; 1 обозначает P700, 2 — дополнительные хлорофиллы, 3 — первичный акцептор порфириновой природы A_0 , cC и cC¹ — линкерные хлорофиллы.

участвуют в переносе электрона от F_x к растворимому ферредоксину или флаводоксину, локализованы на стромальном полипептиде PsaC, а вторичный донор электрона (пластоцианин или цитохром типа *c*) — на полипептиде PsaF в люменальной части комплекса (см. рис. 1). На полипептиде PsaA/PsaB локализованы примерно 100 молекул хлорофилла; на основании рентгено-структурного анализа с 4 Å разрешением была определена локализация 83 из 97 молекул хлорофиллов антенны ФС1 (рис. 3). Как видно из рисунка, часть антенных хлорофиллов расположена как бы на поверхности шара на расстоянии примерно 15 Å от P700. Следует отметить периферическое расположение некоторых молекул антенного хлорофилла на расстоянии 30—40 Å от P700. Далеко расположенные молекулы хлорофилла находятся и в области взаимодействия мономерных комплексов с участием линкерных полипептидов PsaL [118]. Предполагается, что полипептиды PsaI, PsaL, PsaF и PsaK также могут связывать хлорофилл *a*, однако достоверных данных пока нет. Благодаря более точному анализу, выполненному с разрешением 2,5 Å, в настоящее время локализованы все 97

молекул хлорофилла, а также 20 молекул β -каротина (Fromme, личное сообщение); роль молекул каротиноидов в ФС1 окончательно не выяснена. Отметим, что уже имеются данные о детальной молекулярной организации комплекса ФС2 цианобактерии *Synechococcus elongatus*, полученные с разрешением 3,8 Å [149].

Гидрофильные полипептиды PsaC, PsaD и PsaE, расположенные на цитоплазматической стороне, возвышаются на 30 Å над плоскостью мембранной поверхности комплекса ФС1 (рис. 1) [74, 118]. Эти полипептиды могут быть удалены мягкой обработкой хаотропными агентами [48, 148]. Как уже указывалось, с полипептидом PsaC связаны терминальные акцепторы электрона — железо-серные кластеры F_A/F_B . Полипептид PsaD необходим для правильной ориентации полипептида PsaC и может облегчать контакт растворимого ферредоксина (флаводоксина) с комплексом ФС1 [83, 84, 128]. Уточнение расположения полипептидов PsaC, PsaD и PsaE на комплексе ФС1 послужило основой для формулирования механизма стабилизирующего действия PsaD на комплекс ФС1 [74]. Полипептиду PsaE приписывается роль в циклическом транспорте электрона вокруг ФС1 [27, 46]. Полипептид PsaF, локализованный на люменальной стороне мембраны (рис. 1), способствует взаимодействию пластоцианина с П700 у растений, но не включается в процесс связывания пластоцианина или цитохрома c_6 у цианобактерий, что указывает на дополнительную функцию этой субъединицы [24, 47]. Другие низкомолекулярные субъединицы (PsaI, PsaJ, PsaK, PsaL, PsaM) являются интегральными и несут структурные функции, стабилизируя тример. Отсутствие хотя бы одного из этих полипептидов ведет к нарушению транспорта электрона; мутанты, дефицитные по этим полипептидам, более чувствительны к высокой интенсивности света, чем дикий тип [37, 88].

Среди малых субъединиц особый интерес представляют полипептиды PsaL и PsaI, которые важны для формирования тримера комплекса ФС1 у цианобактерий [24]. Мутанты, у которых отсутствуют субъединицы PsaL и PsaI, неспособны образовывать тримеры [24, 60]. При этом считается, что PsaI играет стабилизирующую роль в функционировании линкерного белка PsaL. Хотя пигмент-белковые комплексы ФС1 высших растений и водорослей представлены в виде мономеров, они также содержат линкерный полипептид PsaL, который у высших растений связан с полипептидом PsaG [106], что затрудняет взаимодействие линкерных белков PsaL разных мономерных комплексов и образование тримеров. После установления молекулярной организации комплекса ФС1 применение молекулярной генетики позволит определить роль отдельных аминокислот, которые окружают кофакторы переноса электрона, что поможет выявить структурную

основу функционирования кофакторов и тем самым оптимизировать процессы переноса энергии и электрона при фотосинтезе.

III. КОМПЛЕКС ФОТОСИСТЕМЫ 1 В ЦИАНОБАКТЕРИЯХ СУЩЕСТВУЕТ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО В ВИДЕ ТРИМЕРА

Выделенные из цианобактерий пигмент-белковые комплексы ФС1 обнаруживались в виде тримеров и мономеров, что указывало на существование тримеров ФС1 в мембранах [19, 20, 52, 111]. В то же время из-за использования различных детергентов (Тритон X-100, додецил-мальтозид, октил-глюкозид, сульфобетаин и др.) при выделении комплексов долгое время считалось, что тримеры комплекса ФС1 являются артефактом процесса выделения и могут возникать при агрегации мономеров вследствие уменьшения содержания детергента при его отмывании [36]. Однако тот факт, что крупные кристаллы комплексов ФС1 удалось получить только из тримеров, выделенных из цианобактерии *Synechococcus elongatus* [80, 81, 118], указывал на существование тримеров в фотосинтетических мембранах цианобактерий.

Прямым доказательством предсуществования тримеров комплекса ФС1 в фотосинтетических мембранах цианобактерий послужили спектральные данные, полученные нами на цианобактерии *Spirulina platensis* [121, 124, 125]. У изолированных из этой цианобактерии тримеров ФС1 была обнаружена интенсивная длинноволновая флуоресценция при 760 нм (77 К). Так как мономеры ФС1 из этой же цианобактерии не обнаруживали подобной длинноволновой флуоресценции, было сделано заключение, что эта флуоресценция характерна лишь для тримеров ФС1. Поскольку полоса флуоресценции при 760 была обнаружена и у целых клеток этой цианобактерии и изолированных из них мембран, был сделан вывод о том, что тримеры пигмент-белкового комплекса ФС1 предсуществуют в мембранах цианобактерий *Spirulina*. Длинноволновый хлорофилл с полосой флуоресценции при 760 нм был обнаружен также у других нитчатых цианобактерий *Pseudoanabaena* sp. [33], *Phormidium uncinatum* и *Nostoc muscorum* (124), но не у одноклеточных цианобактерий *Synechocystis* sp. и *Synechococcus elongatus* [103, 133, 134, 136, 146, 147], которые широко используются для молекулярно-генетических исследований фотосинтетического аппарата.

Электронно-микроскопическое исследование комплексов ФС1 из *Spirulina* показали, что мономеры имеют эллипсоидную форму и характеризуются такими же размерами (15 нм в длину и 7,5—8 нм в ширину), как и мономеры из одноклеточных цианобактерий. Тримеры же комплекса ФС1 из *Spirulina* имели дисковидную форму размером

19—20 нм в диаметре (вид сверху) и эллипсоидную форму (6—7 нм) при рассмотрении в боковой проекции [125], как и тримеры из термофильной цианобактерии *Synechococcus elongatus* [18—20, 111]. Комплексы размером около 20 нм, что превышает размеры димеров ФС2, были обнаружены на электронных фотографиях клеток цианобактерии *Synechocystis* sp. и отнесены тримерам ФС1 [140, 141]. Таким образом, хотя только тримеры ФС1 цианобактерии *Spirulina* содержат необычно длинноволновую форму хлорофилла с флуоресценцией при 760 нм, которая не обнаружена у тримеров из одноклеточных цианобактерий, все тримеры организованы одинаково, имеют сходные размеры и характеризуются сходным полипептидным составом. Следовательно, рентгено-структурные данные тримера ФС1 отражают реальную молекулярную организацию этого комплекса *in vivo*.

При выделении комплексов ФС1 из цианобактерий соотношение тример-мономер зависит не только от использованного детергента, но и от того, в каком состоянии эти комплексы находились в мембране. (i) Выход тримеров из мембран при использовании додецил-мальтозида почти на порядок выше, чем при использовании Тритона X-100 [62]. (ii) При культивировании клеток одноклеточных цианобактерий на свету малой интенсивности увеличивается общее содержание ФС1 на клетку, при этом увеличивается соотношение тример/мономер [37]. (iii) Если мембраны инкубированы в среде с низкой концентрацией соли (около 5 мМ, независимо от типа соли и валентности ионов), то комплексы ФС1 выделяются в виде тримеров [82]. Кратковременная обработка мембран в среде с высокой концентрацией соли (150 мМ) приводит к выделению из таких мембран главным образом мономерных комплексов. Предполагается, что электростатическое воздействие солей на линкерные белки комплекса ФС1 приводит к дезагрегации тримеров и появлению мономеров. Отмывание солей из мембран цианобактерий *Spirulina*, инкубированных в среде с солями в концентрации 150 мМ, приводит к обратимой агрегации мономеров в тримеры, что прослеживалось по усилению интенсивности низкотемпературной флуоресценции при 760 нм [63]. Таким образом, соотношение тример-мономер в цианобактериальной мембране может регулироваться, хотя ФС1 представлена в мембране главным образом в виде тримеров. Тримеры ФС1 цианобактерий гораздо более устойчивы к фотодеструкции по сравнению с мономерами [62, 65].

IV. РАЗЛИЧИЯ В ОРГАНИЗАЦИИ КОМПЛЕКСОВ ФОТОСИСТЕМЫ I ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Хотя пигмент-белковые комплексы ФС I цианобактерий и высших растений имеют принципиально сходную организацию и выполняют одинаковые функции [46, 47], они характеризуются рядом существенных отличий. Наиболее важным отличием комплексов ФС I у эволюционно более древних цианобактерий от комплексов ФС I высших растений является их особая организация в мембране преимущественно в виде тримеров [52, 63, 70, 82, 124, 125, 132, 141]. Характеристика тримеров и мономеров ФС I цианобактерий *Spirulina* приведена в [2, 62, 65] и в таблице 1. Основные различия в организации ФС I цианобактерий и высших растений перечислены ниже.

1. Комплекс ФС I цианобактерий содержит меньше полипептидов (11) по сравнению с комплексом высших растений (14): отсутствуют полипептиды PsaG, PsaH и PsaN [37]. Однако все комплексы ФС I содержат те же самые переносчики электрона, а энергетика и кинетика процессов переноса электрона также очень сходна.

2. У высших растений ядерный комплекс ФС I связан с 8 светособирающими комплексами Lhca [59], что предотвращает образование тримеров; пигмент-белковый комплекс ФС I в тилакоидах высших растений существует в виде мономера. С помощью электронной микроскопии выявлен эллипсоидальный вид кор-комплекса ФС I с светособорщиками у высших растений. 8 светособирающих комплексов содержат примерно 120 молекул хлорофилла, дополнительно к

Таблица 1
Характеристика тримеров и мономеров комплекса фотосистемы I,
выделенных из цианобактерии *Spirulina platensis*

Параметр	Тример	Мономер
Хлорофилл : П700	90±5	90±5
Мол. масса, кДа	1000	330
Полипептиды PsaA/PsaB, PsaC, PsaD, PsaE, PsaF, PsaI, PsaK, PsaL, PsaM		
Размеры, нм	19 x 7	15 x 7,5
Длинноволновые формы хлорофилла, нм (77 К)	705, 714, 726, 737, 746	707, 715, 725
Полосы флуоресценции, нм (77 К)	680, 725, 760	680, 725
Полосы флуоресценции, нм (298 К)	730-740	715

100 хлорофиллам кор-комплекса [59]. В отличие от других фотосистем, ФС1 содержит длинноволновые формы хлорофилла, которые ранее назывались зацентрованными [7]. Длинноволновая форма хлорофилла, характеризующаяся интенсивной флуоресценцией при 730 нм (77 К), локализована лишь в 4 из 8 светособирающих комплексов Lhca ФС1 высших растений [77. Пигменты в ЛНС1 связаны с гидрофобными апобелками (11—24 кДа), гомологичными полипептидам CP29 и CP24 светособирающего комплекса ЛНС2 [59].

Большое расстояние (около 60 Å) между P700 и длинноволновым хлорофиллом ЛНС1, флуоресцирующим при 730—735 нм у высших растений, объясняет отсутствие зависимости выхода этой флуоресценции от редокс состояния P700 [22]. В фотосинтетических мембранах цианобактерий комплекс ФС1 представлен преимущественно в виде тримера с молекулярной массой 1000 кДа, включая 100 молекул антенного хлорофилла [82, 111, 121, 125, 132]. Отсутствие хлорофилл-содержащего светособирающего комплекса ЛНС1 у цианобактерий способствует формированию у них тримера ФС1. Как уже указывалось, в сборке мономеров в тример у цианобактерий участвует полипептид PsaL [24]. Хотя этот полипептид обнаружен и в комплексе ФС1 высших растений, превращение мономеров в тример у них исключено вследствие того, что линкерный полипептид PsaL связан с другим полипептидом.

3. Так как ФС1 цианобактерий лишена светособирающего комплекса ЛНС1, весь хлорофилл локализован в кор-комплексе, содержащем P700 [46]. При этом соотношение хлорофилл/P700 у изолированных мономеров и тримеров ФС1 цианобактерий составляет примерно 100 [121, 125], тогда как в комплексе высших растений оно составляет примерно 200 [59]. Так как при выделении комплексов из мембран цианобактерий происходит частичная потеря хлорофилла, предполагается, что соотношение хлорофилл/P700 в мономерном комплексе может достигать 120 и более [108].

4. Важным отличием от высших растений и водорослей является высокое содержание в цианобактериальной мембране комплексов ФС1 по отношению к ФС2: у цианобактерий оно достигает 3—5 [2, 65], тогда как у высших растений соотношение фотосистем, как правило, равно единице [16, 46]. Так, у цианобактерии *Spirulina* соотношение ФС1 (тримеры и мономеры) к ФС2 (димеры) составляет 4,5 [103].

5. Существенным отличием ядерного комплекса ФС1 цианобактерий от соответствующего комплекса высших растений (как и от комплекса ФС2 и светособирающих комплексов) является наличие в их пигментной антенне форм хлорофилла, которые поглощают в более длинноволновой области, чем P700 [53, 124, 137]. Важность этих форм

хлорофилла определяется тем, что они могут функционировать как конечные акцепторы энергии на последних стадиях миграции энергии от антенных хлорофиллов к П700. Возможно, именно наличие длинноволновых форм хлорофилла определяет высокую стабильность тримеров ФС1 по сравнению с мономерами. Выяснение природы этих форм хлорофилла и их роли в миграции энергии важно для понимания механизма функционирования реакционного центра ФС1.

6. Как тример, так и мономер ФС1, выделенные из *Synechocystis* sp., способны стехиометрически связывать ковалентно флаводоксин [95] и ферредоксин [87]. Показано, что кросс-линкерно связанные ферредоксин и флаводоксин расположены на стромальной стороне комплекса на расстоянии 70–77 Å от центра тримера. Функциональная активность комплексов ФС1, кросс-линкерно связанных с переносчиками (фотовосстановление ферредоксина и флаводоксина за счет окисления восстановленного ДХФИФ), свидетельствуют о том, что как тримеры, так и мономеры ФС1 активны в фотопереносе электрона.

V. ОРГАНИЗАЦИЯ ПИГМЕНТНОЙ АНТЕННЫ ТРИМЕРОВ И МОНОМЕРОВ ФОТОСИСТЕМЫ 1

Низкотемпературные спектры поглощения целых клеток цианобактерий, изолированных мембран, а также тримеров и мономеров ФС1 обнаруживают большое сходство по составу спектральных форм валового хлорофилла. Спектры поглощения тримеров и мономеров цианобактерий *Synechocystis* sp. и *Synechococcus elongatus* характеризуются сходным набором форм хлорофилла [42, 56, 103]. В отличие от одноклеточных цианобактерий, спектр поглощения клеток нитчатой цианобактерии *Spirulina platensis* при 77 К характеризуется наличием длинноволновых полос с максимумами при 710 (Хл710) и 735 нм (Хл735) [63, 121]. Полоса при 735 нм четко обнаруживается в низкотемпературных спектрах поглощения тримеров, но не мономеров ФС1 *Spirulina* (табл. 2).

Согласно второй производной спектра поглощения при 77 К, мономеры и тримеры ФС1 цианобактерий *Spirulina* содержат сходный набор спектральных форм хлорофиллов, поглощающих при 662, 670, 676, 680, 686 и 695 нм с полушириной 7–8 нм, но различаются соотношением этих форм [9, 121, 122]. Хлорофилл с полосой поглощения при 711 нм у мономеров характеризуется полушириной 14–15 нм (в спектре КД полуширина 10 нм), тогда как полуширина той же спектральной формы хлорофилла у тримеров достигает 20–25 нм [10, 122]. Следует отметить, что полоса поглощения при 710 нм в цианобактериальной мембране характеризуется полушириной 14 нм, т. е.

Таблица 2
Длинноволновые формы хлорофилла в тримерах и мономерах фотосистемы 1, выделенных из разных цианобактерий; спектральные формы обозначены по полосе поглощения (нм), в скобках указано количество молекул хлорофилла *a*, образующих форму хлорофилла

Цианобактерии	Тример	Мономер	Ссылка
<i>Synechocystis</i> sp.	708 (2)	708 (2)	[42]
	708 (2)	708 (3)	[51]
	714 (2)		
<i>Synechococcus elongatus</i>	708 (4-5)	708 (5)	[103]
	719 (5-6)	719 (2)	
<i>Spirulina platensis</i>	705 (2-3)	703 (3)	[63]
	714 (1)	715 (1)	
	726 (1)	725 (1)	
	737 (1)		
	746 (1)		

образование тримера существенно влияет на свойства этой формы хлорофилла. Тримеры ФС1 характеризуются также полосой поглощения при 735 нм с полушириной 25 нм [122, 124], которая обуславливает большой стоксовский сдвиг полосы флуоресценции при 760 нм, испускаемой Хл735. Сходный набор спектральных форм хлорофилла был обнаружен благодаря разложению низкотемпературных спектров поглощения обоих типов комплексов ФС1 *Spirulina*. Эти данные подтвердили положение о том, что тримеры и мономеры ФС1 характеризуются наличием одинаковых форм хлорофилла (650, 657, 664, 670, 677, 683, 694-696, 705—707 714—715 и 725—726 нм), поглощающих в области 650-725 нм, тогда как только тримеры дополнительно содержат более длинноволновые формы с максимумами при 737 и 746 нм [63], или при 733 и 743 [28]. Разрешение полосы поглощения Хл735 с полушириной 25 нм [122] на две спектральные полосы позволило показать, что каждая из этих полос характеризуется полушириной 13 нм [28]. Таким образом, мономерные комплексы *Spirulina* содержат три длинноволновые формы хлорофилла, поглощающие при 707, 715 и 725 нм, соотношение этих форм, рассчитанное по площади под спектральными полосами, составляет 2,9 : 1,7 : 0,6. Тримеры ФС1 из той же цианобактерии содержат пять длинноволновых форм хлорофилла, поглощающих при 705, 714, 726, 737 и 746 нм с соотношением 2,1 : 1,5 : 0,8 : 1,3 : 0,8. Как следует из указанных данных, каждая мономерная субъединица, составляющая тример

ФС1, характеризуется наличием двух молекул Хл735 на П700 или на 100 молекул хлорофиллов антенны. Общее содержание длинноволновых хлорофиллов определено равным около 6,4% у тримеров и 5,2% у мономеров [60]. Различие в содержании длинноволновых форм хлорофиллов у тримеров и мономеров ФС1 свидетельствует о том, что тримеризация мономеров у цианобактерий *Spirulina* ведет к изменению состояния некоторых форм хлорофилла у мономеров: при отсутствии такого влияния содержание длинноволновых хлорофиллов у обоих типов комплексов было бы неизменно, как у комплексов ФС1 *Synechocystis* sp.

В спектре КД комплекса ФС1 из *Spirulina* был обнаружен сигнал при 710 нм [11, 28, 35, 123]. Спектр КД мембран при 77 К сходен по форме со спектром КД изолированных тримеров в области поглощения каротиноидов и главного максимума поглощения: соотношение полос в спектре КД при 672 и 686 равно 0,65, тогда как соотношение полос 512 и 686 равно 0,46 [125]. В свою очередь спектр КД мембран в области поглощения более 700 нм сходен со спектром КД мономерных комплексов: соотношение полос при 711 и 686 нм равно 0,14—0,17 у мембран и мономеров, тогда как у тримеров оно гораздо меньше (0,02). Эти данные подтверждают наличие в цианобактериальных мембранах как тримеров, так и мономеров ФС1. Отсутствие сигнала КД при 711 нм у тримеров может быть объяснено тем, что эти комплексы были выделены с помощью Тритона, который по-видимому, вызывает деструкцию этой полосы. Тримеры ФС1, выделенные с помощью более мягкого детергента (додецил-мальтозид), обнаруживают сигнал КД при 710 нм даже при комнатной температуре [28, 35]. Так как Хл735 образован взаимодействием молекул хлорофилла, локализованных на разных мономерных комплексах, и потому представляет собой димер [64, 85], отсутствие сигнала КД при 735 нм может быть обусловлено большим расстоянием между молекулами хлорофиллов, образующих димер, или же тем, что составляющие димер молекулы хлорофилла не копланарны [13].

Дифференциальный спектр поглощения «тримеры минус момеры», измеренный при 77 К, указывает на то, что появление полосы при 735 нм сопровождается падением поглощения при 707, 698 и 688 нм, характерных для мономеров [63]. Возможность регуляции соотношения тримеры/момеры в цианобактериальной мембране, а также наличие двух молекул длинноволнового хлорофилла, поглощающего при 735 нм, позволило предположить, что эта форма возникает в результате пигмент-пигментного взаимодействия молекул хлорофиллов, локализованных на разных мономерных субъединицах тримера. Рентгено-структурный анализ кристаллов тримеров ФС1 *Spirulina*

platensis позволил бы доказать это положение, однако такие данные пока отсутствуют. Данные рентгено-структурного анализа по периферической локализации некоторых молекул хлорофилла в тримере ФС1 другой цианобактерии *Synechococcus elongatus* [118] подтверждают наши данные о возможном взаимодействии хлорофиллов, локализованных на разных мономерных комплексах. Нами проведена реконструкция тримера ФС1 при инкубировании в липосомах мономерных комплексов ФС1 из *Spirulina*. Наличие у реконструированного тримера полосы флуоресценции при 760 нм, характерной для нативных тримеров ФС1 этой цианобактерии, свидетельствует о том, что реконструированный и нативный тримеры имеют сходную организацию. Поскольку флуоресценция при 760 нм испускается формой хлорофилла Хл735, которая присутствует только в тримерах ФС1, был сделан вывод, что именно сборка мономерных комплексов ФС1 в тример ведет к образованию этой длинноволновой формы [61, 62, 85].

Сравнение спектров поглощения комплексов ФС1 *Spirulina* со спектрами тримеров и мономеров ФС1 одноклеточных цианобактерий *Synechocystis* sp. и *Synechococcus elongatus* указывает на то, что последние также содержат длинноволновые формы хлорофилла, поглощающие в области 710—720 нм (табл. 2). Разложение спектров поглощения тримеров и мономеров *Synechococcus elongatus*, измеренных при 4 К, на гауссовы компоненты форм хлорофиллов позволило показать, что комплексы ФС1 содержат формы с полосами поглощения при 708 и 719 нм, которые локализованы как в тримерах, так и в мономерах, но различаются количеством образующих их молекул хлорофиллов [103], что свидетельствует о влиянии агрегации мономеров на состояние хлорофиллов, локализованных периферически. Спектральные свойства хлорофилла этой цианобактерии с максимумом поглощения при 719 нм (полуширина 18 нм) сходны со свойствами хлорофилла с максимумом поглощения при 716 нм в субхлоропластных частицах ФС1 [29, 42, 103]. Тримеры и мономеры ФС1 цианобактерий *Synechocystis* sp. содержат только две молекулы длинноволновой формы хлорофилла с поглощением при 708 нм [42]. Предполагается, что этот Хл708 скорее локализован внутри комплекса, недалеко от П700 [51, 89, 90, 109, 113, 114].

Спектр флуоресценции указанных выше одноклеточных цианобактерий при 77 К характеризуется полосами при 685, 695 и 725—730 нм, тогда как у цианобактерий *Spirulina* дополнительно обнаруживается полоса при 760 нм [63, 125] (рис. 4). Так как хлорофилл-содержащие светособирающие комплексы у цианобактерий отсутствуют, отдельные полосы в спектре флуоресценции при 77 К обусловлены испусканием только кор-комплексов ФС2 и ФС1: полосы при 685 и

695 нм обусловлены испусканием антенны комплекса ФС-2, тогда как полосы при 725—730 (полуширина полосы 25 нм) и 760 нм (полуширина полосы 26—28 нм) — испусканием антенны комплекса ФС1. Для сравнения отметим, что наиболее интенсивная полоса при 730—735 нм в низкотемпературном спектре флуоресценции высших растений обусловлена испусканием хлорофиллов, связанных со светособирающим комплексом LHC1 [59, 98].

Выше уже указывалось, что пигмент-белковые комплексы ФС1 цианобактерий существуют в виде мономеров и тримеров. Так как у одноклеточных цианобактерий *Synechocystis* sp. и *Synechococcus elongatus* антенна мономеров и тримеров ФС1 содержит тот же набор форм валового и длинноволнового хлорофилла, то спектры флуоресценции мономеров и тримеров ФС1 этих цианобактерий сходны. Однако, тримеризация комплексов ФС1 у цианобактерий *Spirulina* сопровождается образованием длинноволновой формы хлорофилла, поглощающей при 735 нм и испускающей при 760 нм. Кроме того, тримеры отличаются от мономеров высокой оптической активностью каротиноидов: соотношение полос при 512 и 686 нм в спектре КД тримеров ФС1 (как и мембран) гораздо выше, чем у мономерных комплексов ФС1 [125]. Таким образом, тримеризация мономерных комплексов ФС1 влияет на состояние не только периферически локализованных хлорофиллов антенны, но и некоторых каротиноидов, которые в большом количестве содержатся в пигмент-белковом комплексе ФС1. Так, в комплексе ФС1 цианобактерий *Synechocystis* sp. на П700 или на 100 молекул антенного хлорофилла приходится 13—15 молекул β-каротина [129]. Момеры и тримеры ФС1 цианобактерий *Spirulina* содержат примерно 10 молекул β-каротина на П700 или 100 молекул хлорофилла [62]. Комплекс ФС1 цианобактерий *Synechococcus elongatus* содержит 20 молекул β-каротина [37]. Интересно отметить, что комплекс ФС1 цианобактерий-подобных прокариотов *Acaryochloris marina* содержит другие каротиноиды — α-каротин и зеаксантин [58]. Хотя в комплекс ФС1 включено много каротиноидов, они не играют структурной роли для ФС1 и служат в основном для светосбора или защиты комплекса [94].

Положение полос и их интенсивность в спектре флуоресценции несут важную информацию об организации хлорофильной антенны и о взаимодействии разных форм хлорофиллов при миграции энергии. Как в ФС2, так и в фотосистеме пурпурных бактерий выход флуоресценции антенных хлорофиллов зависит от редокс-состояния реакционных центров [34]: он минимален, когда реакционный центр открыт (P A) и поглощенная энергия используется в фотохимическом акте, и максимален при переходе центра в закрытое состояние (P⁺A, PA⁻),

когда поглощенная энергия испускается в виде флуоресценции. В отличие от этих фотосистем, хлорофиллы антенны ФС1 не характеризуются интенсивной переменной флуоресценцией, что может определяться спецификой организации антенны ФС1 и ее взаимодействия с P700. Небольшое фотоиндуцированное изменение флуоресценции наблюдается как при накоплении P700⁺, так и восстановленного акцептора электрона [4, 66]. Независимость интенсивности флуоресценции антенных хлорофиллов ФС1 высших растений, водорослей и одноклеточных цианобактерий от редокс-состояния реакционного центра указывает на то, что P700 в окисленном или восстановленном состоянии с одинаковой эффективностью тушит флуоресценцию антенны [22, 122].

Важным отличием тримера ФС1 цианобактерий *Spirulina* от комплексов других цианобактерий является то обстоятельство, что интенсивность длинноволновой флуоресценции при 760 нм (77 К) в спектре флуоресценции резко зависит от редокс-состояния реакционного центра: максимальна, когда P700 восстановлен, и резко тушится, если P700 находится в окисленном состоянии (рис. 4). Хотя изолированные тримеры ФС1 этой цианобактерии обнаруживают интенсивную флуоресценцию при 730–740 нм при комнатной температуре, ее интенсивность не зависит от редокс-состояния P700 [63, 1225, 124]. Наличие такой длинноволновой флуоресценции при 298 К свидетельствует о том, что форма хлорофилла, испускающая эту флуоресценцию, существует при физиологических условиях [40, 63, 76, 145]. Время жизни длинноволновой флуоресценции с длиной волны более 710 нм (77 К) составляет 800 пс при восстановленном P700 и менее 100 пс при P700⁺ [69]. Сходство кинетик фотоокисления P700 и тушения флуоресценции при 760 нм указывает на то, что именно P700⁺ является тушителем флуоресценции [121, 124]. Было высказано предположение, что миграция энергии от длинноволновой формы хлорофилла, поглощающей при 735 нм, к катион-радикалу P700 (P700⁺), характеризующемуся полосой при 820 нм, ведет к тушению этой флуоресценции. Расчеты интегралов ферстеровского перекрытия полосы флуоресценции при 760 нм с полосами поглощения

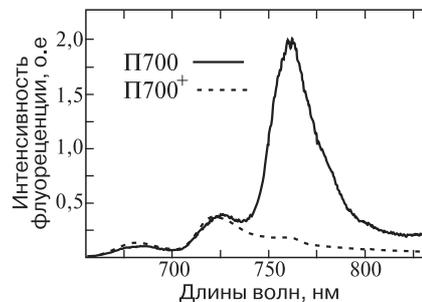


Рис. 4. Стационарный спектр испускания флуоресценции антенных хлорофиллов тримеров фотосистемы I цианобактерии *Spirulina*, у которых P700 восстановлен или окислен (77 К).

Таблица 3
Интегралы перекрытия и константы скорости переноса энергии между длинноволновыми формами хлорофиллов с испусканием при 760 нм (Хл735) и при 730 нм (Хл710) и П700 в окисленном и восстановленном состоянии [57]

Партнер переноса		Интегралы перекрытия (10^{13} см ⁶ /мол)	R (Å)	Скорость переноса (нс ⁻¹)	Рассчитанное время переноса (пс)	Время тушения (пс)
Донор	акцептор					
Ф760	П700	0,01	42	0,04	21000	н.д.
Ф760	П700 ⁺	1,50	42	6,6	150	110
Ф730	П700	0,81	42	3,1	314	190
Ф730	П700 ⁺	0,72	42	3,6	277	315

нейтрального или фотоокисленного П700 показали, что эта величина для П700⁺ на два порядка превышает таковую для нейтрального П700 (табл. 3), тогда как интегралы перекрытия полос поглощения П700 или П700⁺ с полосой флуоресценции при 730 нм (Ф730), испускаемой длинноволновым хлорофиллом Хл710, мало отличаются [57, 122].

Интенсивность флуоресценции при 760 нм (Ф760), испускаемой тримерами ФС1, зависит от редокс-состояния не только П700, но и акцепторной части ФС1 [33, 121, 124]. Если при замораживании образца акцепторная часть ФС1 тримеров накапливается в восстановленном состоянии, то интенсивность флуоресценции при 760 нм не только возрастает, но и становится нечувствительной к свету, т. е. флуоресценция при 760 нм не тушится при включении света, так как при этом не происходит фотоокисления П700. Методически это достигается медленным замораживанием до температуры -40 °С тримера ФС1 в присутствии дитионита при освещении интенсивным светом, когда еще возможен транспорт электрона к вторичным акцепторам, но нет оттока электронов от этих переносчиков [33]. Когда акцепторная часть ФС1 при 77 К находится в восстановленном состоянии, на свету происходит лишь разделение зарядов в реакционном центре между первичным донором электрона П700 и первичным акцептором электрона А₀, рекомбинация которых позволяет поддерживать П700 в восстановленном состоянии. Стабильность флуоресценции при 760 нм в указанных условиях позволила выявить ее характеристики и миграцию энергии в пигментной антенне по кинетике пикосекундной флуоресценции в зависимости от температуры. Именно в условиях перевосстановления акцепторной части фотосистем был идентифицирован первичный акцептор электрона порфириновой природы:

бактериофеофитин в пурпурных бактериях [5] и феофитин у ФС2 [3]. Однако следует иметь в виду, что вызванное дитионитом усиление флуоресценции не всегда связано с восстановлением компонентов цепи переноса и может наблюдаться даже у светособирающих комплексов, лишенных реакционных центров, вследствие восстановления тушителей, которые возникают при выделении комплексов [71].

VI. МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ В АНТЕННЕ ФОТОСИСТЕМЫ 1: РОЛЬ ДЛИННОВОЛНОВЫХ ФОРМ ХЛОРОФИЛЛА

Световая энергия, поглощенная антенной, в конечном счете улавливается молекулой первичного донора электрона P700, переводя его в возбужденное состояние. В синглетно-возбужденном состоянии P700 характеризуется очень отрицательным потенциалом (-1,3 в) и способен восстановить A_0 . Данные о молекулярной организации комплекса ФС1 и антенны позволяют лишь судить о локализации 6 молекул хлорофилла в реакционном центре и более 90 молекул антенного хлорофилла, но не могут дать информации о путях и кинетике миграции энергии между пулами хлорофилла. Решение этой проблемы связано с исследованием как стационарных спектров флуоресценции, так и спектров, отражающих изменение испускания во времени при разных длинах волн в пикосекундном интервале (DAS), и моделирования данных этих исследований [53, 137]. Кроме того, эти данные позволяют судить о том, что лимитирует кинетику разделения зарядов. К настоящему времени существуют противоречивые данные [53—55, 65, 86, 100—102, 133, 135], что кинетику первичного фотоакта может лимитировать как перенос энергии по антенне к P700 (diffusion-limited), так и скорость самого первичного фотоакта в реакционном центре (trapping-limited).

Показано, что спад флуоресценции, измеренный с пикосекундным разрешением на образцах ФС1 с различным соотношением хлорофилл : P700, является мультиэкспоненциальным и состоит по крайней мере из 3—4 компонентов, которые необходимы для описания этой кинетики [49, 50, 133, 134]. Быстрый компонент спектра (5—10 пс), характеризующийся перераспределением энергии из области 670—700 нм в область 720—750 нм, приписан компоненту, отражающему установление равновесия по всей спектрально гетерогенной антенне (equilibration component). Позитивные компоненты (20—100 пс) описываются как компоненты улавливания энергии (trapping component), отражая достижение энергии P700 [49, 50, 100—102, 133, 142]. Измерения DAS с субпикосекундным разрешением позволили выявить компоненты 300—500 фемтосекунд, приписываемые пере-

распределению энергии в антенне, образованной валовым хлорофиллом [45]. Хотя ранее была показана способность ФС1 к небольшой переменной флуоресценции, исследования в пикосекундном интервале не смогли обнаружить зависимость кинетики миграции энергии от редокс состояния П700 при комнатной температуре [96, 105, 133, 144].

Исследование кинетики спада флуоресценции тримеров ФС1 *Spirulina* при 77 К позволило выявить процессы миграции энергии между разными пулами длинноволновых форм хлорофилла и от них к П700 [58]. Это стало возможным благодаря сужению полос испускания пулов хлорофиллов и замедлению миграции энергии при 77 К, а также замедлению транспорта электрона вследствие перевосстановления акцепторной части ФС1 дитионитом. Как уже указывалось, в этих условиях появляется полоса испускания при 760 нм, выход флуоресценции которой фотостабилен, что исключает ошибки при измерении DAS [58]. Отметим, что образованный в этих условиях триплет П700 имеет долгое время жизни (750 нс) [120] и поэтому не может вносить вклад в DAS, измеренный в пикосекундном интервале.

В отличие от кинетики спада флуоресценции при комнатной температуре, спад флуоресценции тримеров и мономеров ФС1 *Spirulina* при 77 К описывался с помощью 5 компонентов (рис. 5). Наиболее быстрый компонент (9–12 пс) связан с установлением равновесия в пигментной антенне. Компоненты 190 и 450 пс, характеризующиеся подъемом флуоресценции при 720 или 730 нм и негативным пиком при 760 нм в DAS, отражают перенос энергии от промежуточных длинноволновых форм хлорофилла с испусканием 720 и 730 нм к наиболее длинноволновой форме хлорофилла с испусканием при 760 нм [32, 57]. Отметим, что негативные компоненты обнаруживаются только у тримеров с восстановленным П700, когда реакционный центр закрыт (PA^-), и перенос энергии существенно замедлен. Если же реакционный центр закрыт (PA^+), так как П700 находится в окисленном состоянии, то происходит эффективное тушение длинноволновой флуоресценции при 760 нм, а время жизни вновь обнаруженных компонентов уменьшается с 190 до 107 пс и с 450 до 350 пс: существенное уменьшение (от 1300 до 580 пс) времени жизни наблюдается для четвертого компонента (рис. 5). Повышение температуры до 130–200 К приводит к постепенному исчезновению полос, указывающих на перенос энергии с промежуточных длинноволновых форм на наиболее длинноволновую форму [57]. Дополнительные негативные полосы в DAS наблюдаются при возбуждении флуоресценции светом 718 нм. При возбуждении флуоресценции светом 736 нм исчезает также наиболее быстрый компонент, и все четыре компонента

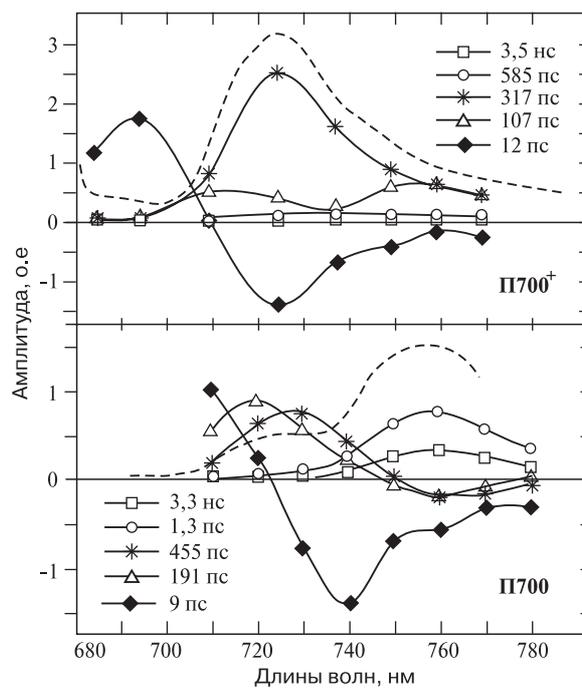


Рис. 5. DAS спектры флуоресценции тримеров фотосистемы 1 цианобактерии *Spirulina*, рассчитанные на основании измерений кинетики спада флуоресценции (77 К) при различных длинах волн испускания в условиях, когда P700 восстановлен или окислен.

с максимумом при 760 нм являются положительными и скорее всего отражают улавливание энергии P700 от пулов длинноволнового хлорофилла, расположенных на разном расстоянии от P700 [57]. Отметим, что редокс состояние P700 не влияет на кинетику спада флуоресценции мономерных комплексов ФС1 *Spirulina*.

На основании изложенных выше данных нами была предложена кинетическая модель переноса энергии от валового хлорофилла с испусканием 690 нм к наиболее длинноволновой форме с испусканием 760 нм (рис. 6), которая предусматривает наличие пулов хлорофилла, различающихся энергетически. Специфической чертой модели является параллельный перенос энергии с валового хлорофилла на длинноволновую форму с испусканием при 760 нм через промежуточные длинноволновые формы хлорофилла (с испусканием при 720

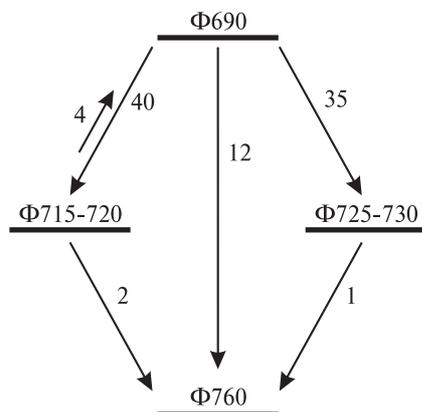


Рис. 6. Схема переноса энергии между разными пулами хлорофилла в антенне мономерного комплекса в тримере фотосистемы 1 цианобактерии *Spirulina*. Пулы хлорофиллов обозначены по полосе флуоресценции при 77 К (Φ685, Φ720, Φ730 и Φ760), стрелки указывают пути миграции энергии между пулами, цифрами у стрелок приведена скорость прямой и обратной миграции энергии (нс⁻¹).

и 730 нм). Детальный анализ DAS спектров флуоресценции тримеров и мономеров фотосистемы 1 различных цианобактерий, проведенный при комнатной температуре с высоким временным разрешением, подтвердил вывод о параллельной миграции энергии от валового хлорофилла к длинноволновым формам [45]. Перенос энергии на П700 при 77 К осуществляется только через валовый хлорофилл, т. е. длинноволновые формы хлорофилла могут взаимодействовать с П700 только через валовый хлорофилл благодаря миграции энергии против термодинамического градиента (uphill energy transfer). При низких температурах такой перенос энергии существенно замедлен [137].

Следует отметить, что подобный обратный перенос энергии с длинноволновых форм бактериохлорофилла на окисленную молекулу первичного донора электрона реакционного центра наблюдался также у фотосинтетических бактерий, у которых первичный донор поглощает в более коротковолновой области, чем некоторые формы бактериохлорофилла. Так, у пурпурной бактерии *Rhodospseudomonas viridis* первичный донор поглощает при 985 нм (П985), а длинноволновый бактериохлорофилл *b* — при 1015 нм [73], тогда как у гелиобактерии *Heliobacterium chlorum* первичный донор и длинноволновый бактериохлорофилл *g* поглощают при 798 и 808 нм, соответственно [30]. При этом перенос энергии с длинноволнового бактериохлорофилла на реакционный центр, ведущий к разделению зарядов, достаточно эффективен даже при 6 К. Как и в случае тримеров ФС1 цианобактерии *Spirulina*, первичные доноры этих бактерий в окисленном состоянии очень эффективно тушат длинноволновую флуоресценцию. Это может быть обусловлено тем, что полоса поглощения первичных

доноров в окисленном состоянии расположена в более длинноволновой области, чем полоса поглощения восстановленных первичных доноров, и интеграл перекрывания полос испускания длинноволновых бактериохлорофиллов с полосами первичных доноров электрона в окисленном состоянии (P798⁺ или P985⁺) гораздо выше. Предполагается, что высокая эффективность тушения энергии реакционным центром в закрытом состоянии исключает вероятность фотодеструкции комплекса [30].

В пользу эффективной миграции энергии к длинноволновым формам хлорофилла и их участия в процессах фотосинтеза свидетельствуют спектры возбуждения флуоресценции длинноволновых форм хлорофилла и спектры действия фотоокисления P700 у тримеров и мономеров ФС1, а также спектр действия тушения флуоресценции при 760 нм тримеров, отражающего фотоокисление P700 [104, 122]. Спектры возбуждения флуоресценции тримеров и мономеров ФС1 из цианобактерий *Spirulina*, измеренные при комнатной температуре для испускания при 760 нм (тример) и 750 нм (мономер), не обнаруживают тонкой структуры и различаются лишь наличием более интенсивной широкой полосы в области 710—740 нм у тримеров [63]. Отметим, что та же тенденция обнаруживается в спектрах поглощения комплексов, измеренных при комнатной температуре: тримеры характеризуется более интенсивным поглощением в длинноволновой области по сравнению с мономерами. Для выявления роли длинноволновых форм хлорофилла в миграции энергии были измерены спектры возбуждения флуоресценции мономеров и тримеров при 77 К.

Как уже указывалось выше, P700⁺ служит эффективным тушителем флуоресценции при 760 нм. Рассмотрение перекрывания полосы окисленного P700 с полосами испускания длинноволновых хлорофиллов при 720, 730 и 760 нм указывает на то, что ферстеровский интеграл перекрывания примерно одинаков для P700 в восстановленном или окисленном состоянии с полосами промежуточных длинноволновых хлорофиллов (720 и 730 нм), как это имеет место у мономерных комплексов ФС1 у высших растений и цианобактерий. Однако величина перекрывания полос P700⁺ и наиболее длинноволновонго хлорофилла с испусканием при 760 нм исключительно высока у тримеров ФС1 (табл. 3). Периферическая локализация этой формы хлорофилла на поверхности полипептида обуславливает большое расстояние от P700. Знание величины интеграла перекрывания и времени жизни флуоресценции позволило рассчитать, что эта форма хлорофилла расположена на расстоянии 42 Å от P700 [57]. При этом дальность расстояния полностью компенсируется высоким значением интеграла перекрывания, что обеспечивает исключительно

быстрый перенос энергии с этой формы хлорофилла на P700⁺ примерно за 100 пс. Непрямой контакт наиболее длинноволновой формы хлорофилла с P700, т. е. через валовый хлорофилл, предполагался и другими авторами для *Synechococcus elongatus* [23, 43, 44, 104].

Так как флуоресценция при 760 нм (77 К) у тримеров ФС1, у которых P700 восстановлен аскорбатом, чувствительна к свету (центр открыт), спектры возбуждения флуоресценции тримеров измеряли у образцов, замороженных на свету в присутствии дитионита, чтобы акцепторная часть ФС1 находилась в восстановленном состоянии. Спектр возбуждения флуоресценции таких тримеров, измеренный для испускания при 780 нм, характеризуется длинноволновыми полосами при 710 и 736 нм, тогда как в спектре возбуждения флуоресценции мономерного комплекса, измеренного для испускания при 770 нм, обнаруживается только полоса при 710 нм [63]. Описанные спектры возбуждения флуоресценции сходны с низкотемпературными спектрами поглощения этих комплексов. Сравнение спектров поглощения и спектров возбуждения флуоресценции тримеров, измеренных при 77 К, позволило рассчитать, что эффективность миграции энергии от валового хлорофилла к хлорофиллу, поглощающему при 735 нм, равна 30%. Отметим, что при возбуждении флуоресценции тримеров ФС1 светом 735 нм обнаруживается только полоса испускания флуоресценции при 760 нм.

Спектры действия фотоокисления P700 обоих комплексов при комнатной температуре и при 77 К были измерены для образцов, у которых P700 был восстановлен аскорбатом натрия в присутствии ФМС [122]. В спектре действия тримеров при комнатной температуре обнаруживается широкая полоса в области 710—740 нм, тогда как у мономеров эта полоса отсутствует. В низкотемпературном спектре действия тримеров четко обнаруживаются длинноволновые полосы при 710 и 735 нм, тогда как в спектре мономеров ФС1 наблюдается лишь полоса при 710 нм. Следовательно, как при комнатной температуре, так и при 77 К энергия возбуждения, поглощенная длинноволновыми формами Хл710 и Хл735, эффективно используется для фотоокисления P700 [122]. Этот вывод был подтвержден данными, полученными для тримеров ФС1 *Synechococcus elongatus*, когда фотоокисление P700 наблюдалось также при освещении светом 730—750 нм; необратимое фотоокисление P700 при освещении светом 730 нм наблюдалось даже при 4 К [104]. Механизм эффективной миграции энергии от длинноволновых хлорофиллов к P700 пока неясен. Отметим, что спектр действия тушения флуоресценции при 760 нм (77 К) сходен со спектром действия фотоокисления P700: наблю-

даются полосы при 710 и 735 нм [122]. Это обстоятельство дополнительно подтверждает положение о том, что тушение флуоресценции обусловлено миграцией энергии с длинноволновой формы хлорофилла на окисленный P700.

Периферическая локализация ряда длинноволновых форм хлорофилла на мономерных субъединицах тримера ФС1 делает возможным обмен энергией между антеннами различных субъединиц, прежде чем энергия возбуждения достигнет P700 [63, 67, 85]. Ранее предполагалось [34], что если один из реакционных центров взаимодействующих фотосинтетических единиц находится в закрытом состоянии (т. е. окислен), то энергия возбуждения от антенны с закрытым центром может мигрировать к антенне с активным (нейтральным) центром и использоваться для его фотоокисления. Таким образом, обмен энергией между фотосинтетическими единицами позволял эффективнее использовать поглощенную энергию; зависимость скорости фотоокисления реакционного центра от интенсивности света (или соотношения P^+/P) была бы гиперболической [34]. Подобного взаимодействия не обнаружено для тримеров ФС1 *Spirulina*, так как при комнатной температуре наблюдалась линейная зависимость между скоростью фотоокисления P700 и концентрацией окисленного P700 [122]. Если бы имел место обмен энергией между субъединицами, способствующий более эффективному использованию поглощенной энергии, то исследуемая зависимость описывалась бы гиперболой.

Однако обмен энергией между мономерными субъединицами ФС1 тримера *Spirulina* был обнаружен при 77 К. В отличие от ФС1 высших растений, у которых окисленный и нейтральный P700 тушат флуоресценцию при 730 нм с одинаковой эффективностью, в тримере ФС1 цианобактерии *Spirulina* окисленный P700 является эффективным тушителем флуоресценции при 760 нм (см. табл. 3). Одновременное измерение кинетик фотоокисления P700 и тушения флуоресценции при 760 нм у тримеров ФС1 и мембран, изолированных из *Spirulina*, показало, что скорость тушения флуоресценции выше, чем скорость фотоокисления P700, хотя именно окисленный P700 тушит флуоресценцию [67, 68]. Зависимость скорости тушения флуоресценции от относительного содержания $P700^+$ ($P700^+/P700$) описывается гиперболой. По-видимому, когда P700 одной из мономерных субъединиц окислен, энергия от антенн субъединиц, у которых P700 восстановлен, мигрирует через длинноволновую форму хлорофилла (Хл735) к антенне субъединицы с $P700^+$ и эффективно тушится [67]. Следовательно, в этом случае обмен энергией ведет к увеличению не квантового выхода первичной фотохимии, а безрадиационной диссипации

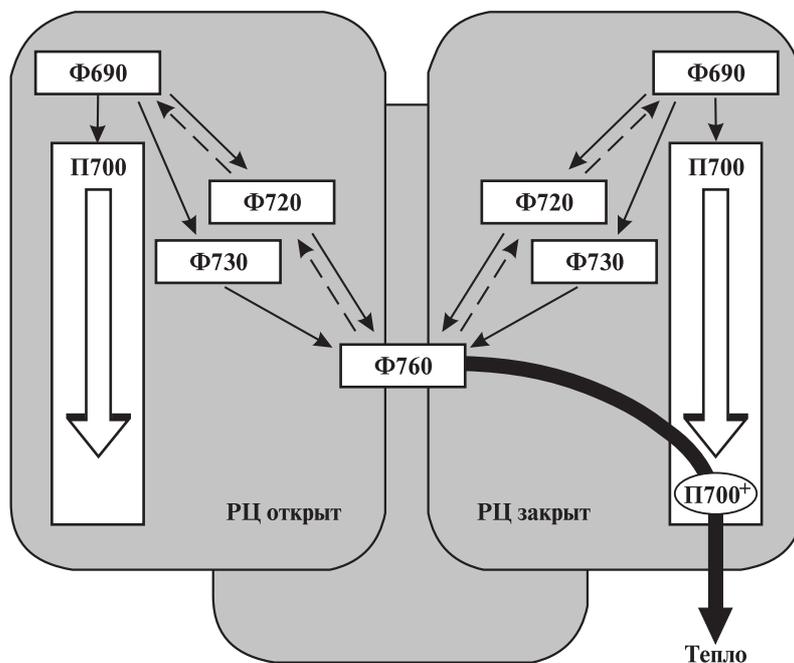


Рис. 7. Схема обмена энергией между антеннами мономерных комплексов в тримере комплекса фотосистемы I цианобактерии *Spirulina* и диссипации энергии в тепло с участием $P700^+$ (жирная стрелка).

избыточной энергии, что может служить дополнительной защитой комплекса от фотодеструкции (рис. 7).

Роль длинноволновых форм (бактерио)хлорофилла в первичных процессах фотосинтеза фотобактерий и зеленых растений долгое время оставалась неясной. Предполагалось, что эти формы хлорофилла могут передавать энергию возбуждения от валового хлорофилла на реакционный центр [50, 130], увеличивать сечение поглощения длинноволнового света при малой интенсивности света в случае культивирования плотных суспензий цианобактерий [37, 122, 131], а также защищать реакционный центр от избытка возбуждения, когда он закрыт [65, 96, 122].

Высокая эффективность фотосинтетического преобразования энергии обусловлена особой пространственной организацией антенны и сопряжением реакционного центра с антенной и первичным акцептором электрона, который имеет порфириновую природу.

Можно предположить следующую функциональную организацию длинноволновых форм хлорофилла антенны в тримере ФС1. Результаты недавних исследований позволили локализовать некоторые длинноволновые формы хлорофилла в антенне ФС1. Так как тримеры и мономеры ФС1 цианобактерии *Synechocystis* sp. содержат только две молекулы хлорофилла с поглощением при 708 нм, то обе они могут располагаться внутри комплекса [113]. Предполагается, что Хл708 состоит из хлорофилла сС (сС1) и экситонно связанной с ним молекулы хлорофилла антенны [89, 90], при этом расстояние между ними составляет 6,4 Å по сравнению 6,9 Å между хлорофиллами в П700. Интересно отметить, что в тримерах ФС1 *Synechocystis* sp. энергия возбуждения достигает от валового хлорофилла к Хл708 за 2—6,5 пс [113, 127]. Поскольку Хл708 в *Synechocystis* sp. соответствует Хл705 *Spirulina platensis*, то эта форма длинноволнового хлорофилла могла бы служить в качестве линкерного хлорофилла в реакционном центре ФС1 *Spirulina*. По-видимому, основная роль других длинноволновых форм (с полосами испускания при 730 и 760 нм), которые расположены периферически, скорее сводится к увеличению поглощения света в области 700—730 нм при недостаточной интенсивности света, или оттоку энергии от валового хлорофилла при избытке поглощенного света. Локализация этих хлорофиллов на полипептиде PsaA/PsaB пока неясна.

Таким образом, в тримерах ФС1 *Spirulina* длинноволновые формы хлорофилла Хл705 могут канализировать энергию на П700, тогда как другие длинноволновые формы хлорофилла, расположенные на периферии комплекса ФС1, увеличивают поглощение света в близкой инфракрасной области (710—730 нм) или служат акцепторами энергии от валового хлорофилла при избытке света. Когда реакционный центр закрыт, наиболее длинноволновая форма Хл735 передает энергию возбуждения окисленному П700, стимулируя диссипацию избыточной энергии в тепло.

VII. РАЗДЕЛЕНИЕ ЗАРЯДОВ В РЕАКЦИОННОМ ЦЕНТРЕ

Разделение зарядов в реакционном центре ФС1 происходит за 1—3 псек и сопровождается окислением одной из молекул хлорофилла П700 и восстановлением первичного акцептора электрона A_0 [137]. На основании спектральных данных было установлено, что в качестве первичного акцептора электрона функционирует молекула хлорофилла, обозначенная как A_0 [12, 99, 126]. Примерно за 20—50 псек происходит перенос электрона от A_0 к молекуле филлохинона (A_1) и последующая стабилизация электрона на F_x за 200 псек. Затем

электрон за 0,4 мкс переносится к F_A/F_B . Фотоокисленный P700 за 20 мсек воспринимает электрон от вторичных доноров электрона — пластоцианина или цитохрома c_6 .

Исследования спада флуоресценции и переходных явлений поглощения в субпикосекундном интервале позволили выявить кинетику улавливания энергии реакционным центром и разделения зарядов. Как уже указывалось выше, равновесное распределение энергии в валовом хлорофилле наступает примерно за 5—12 пс, а энергия возбуждения достигает P700 за 24—28 пс [49, 50, 53, 54]. Радикальная пара обнаруживается лишь после достижения равновесного распределения энергии в антенне. Измерения фотоиндуцированных изменений поглощения в области 640—760 нм тримеров ФС1 *Spirulina*, выполненные с 30 фс разрешением, позволили выявить как ультрабыстрые компоненты (от 100 фс до 1 пс) миграции энергии в валовом хлорофилле, так и зарегистрировать ранние стадии образования P700⁺ [54, 55]. В соответствии с расчетами, разделение зарядов в реакционном центре ФС1 происходит уже за 300—500 фс, в отличие от 3 пс для других реакционных центров и, по-видимому, является наиболее быстрым среди известных реакционных центров. На основании этих измерений нами предложена кинетическая модель, описывающая динамику возбуждения в антенне и разделение зарядов в реакционном центре в ФС1 [54, 55]: кинетика миграции энергии от валовых хлорофиллов к P700 ограничивается ее улавливанием реакционным центром (trapping-limited), а кинетика улавливания энергии от длинноволновых хлорофиллов лимитируется его переносом к P700 через хлорофиллы антенны (diffusion-limited).

VIII. ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ФОТОСИСТЕМ

Примитивные фотосинтетики, морфологически подобные современным нитчатым цианобактериям, были найдены в строматолитах, возраст которых составляет около 3,8 миллиардов лет [117]. Согласно гипотезе Опарина [6], первичная атмосфера была восстановительной. Подавляющая масса оболочки Земли была сформирована около 4 миллиардов лет назад [1]. Существуют две противоположные точки зрения на происхождение кислорода воздуха, из которого образовался озоновый слой. Согласно биологической точке зрения, примерно 95% кислорода озонового экрана имеет фотосинтетическое происхождение, тогда как геологическая точка зрения исходит из того, что большая часть кислорода, из которого был образован озоновый слой, произошла в результате фотохимического разложения воды и углекислого газа под действием коротковолнового УФ [8]. В отсутствие

озонового экрана интенсивность УФ была примерно в 100 раз выше, чем сейчас. Образовавшиеся сложные молекулы нуждались в защите от УФ. Сложилась парадоксальная ситуация: лучи Солнца, создавшие строительный материал для молекул, приведших к возникновению жизни, стали смертельно опасными для самой жизни. Поэтому первичные гетеротрофные организмы должны были в первую очередь создать систему защиты от УФ и интенсивного солнечного света.

Ранняя жизнь была сильно ограничена в выборе среды обитания и могла сохраниться только под защитой толстого слоя воды, в капиллярах между частицами почвы или в естественных пещерах. Первичный Океан содержал восстановленные соединения, которые служили источником энергии и стойким материалом для первичных гетеротрофных организмов [6]. Эти организмы должны были обитать глубоко от поверхности Океана, освещавшейся интенсивным солнечным светом, включая короткий УФ (180—240 нм), который опасен для организмов. По-видимому, способность использовать световую энергию в процессе фотосинтеза могла быть приобретена первичными организмами вследствие изменений в аппарате защиты от УФ и интенсивного солнечного света [8, 97]. В бескислородной среде короткий УФ (220 нм) способен проникать на глубину около 1 м, а УФ в области 260—280 нм — на глубину около 10 м [8], т. е. первичные организмы, чтобы не подвергнуться воздействию УФ, должны были обитать на глубине не менее 10 м. В то же время 2-метровый слой воды задерживает проникание света с длиной волны более 750 нм. Соответственно, 10-метровый слой воды прозрачен для света в спектральной области 400—630 нм (максимум пропускания при 480—500 нм), который поглощается каротиноидами, фикобилинами и частично хлорофиллами (440—480 нм). По-видимому, первичными фотосинтетиками были хлорофилл-содержащие организмы — (про)цианобактерии, светосбор которых осуществлялся главным образом каротиноидами и фикобилинами. В условиях существования на глубине 10 м и более, куда не проникает свет в области 700—900 нм, фотосинтетические бактерии не могли бы осуществлять фотосинтез с помощью бактериохлорофиллов.

На ранних этапах жизни УФ с длиной волны 280 нм мог проникать почти на 10 м, тогда как красный свет в области 680—700 нм должен был поглощаться 10 м слоем воды. По мере образования озонового экрана доступ коротковолнового УФ на поверхность Океана уменьшалась, что должно было способствовать подъему фотосинтетиков (процианобактерий) к поверхности Океана и использованию света Солнца в области 400—700 нм. ФС2 эволюционно моложе, чем ФС1: необходимость появления ФС2 и его сопряжения с ФС1 на опреде-

ленной стадии эволюции определялась дефицитом восстановленных соединений — источников доноров электрона. Способность ФС2 окислять воду появилась позже и на многие миллиарды лет решила проблему донора электронов в оксигенном фотосинтезе. Выделяемый цианобактериями кислород использовался в первую очередь для окисления Fe^{+2} в Fe^{+3} в осадочных породах, что датируется 3,5—3,8 миллиардов лет назад [117]. Фотосинтетический кислород начал выделяться в атмосферу около 2,5 миллиардов лет назад; накопление в атмосфере более 10^{-3} ПАЛ кислорода примерно 1,8 миллиардов лет назад способствовало образованию озонового экрана [8], который не пропускал короткий УФ и тем самым облегчил подъем фотосинтетиков и других бактерий на поверхность Океана и последующий их выход на сушу.

Реакционные центры всех изученных фотосинтетических организмов делятся на два типа, согласно их составу и терминальным акцепторам электрона [16, 17, 110, 119, 139]. К типу 1, включающему железо-серный кластер, относятся реакционные центры ФС1 высших растений, цианобактерий и цианобактерий-подобных прокариот (*Acaryochloris marina*), а также зеленых серобактерий (*Chlorobium limicola*) и гелиобактерий (*Heliobacterium chlorum*), которые неспособны к выделению кислорода и считаются эволюционно наиболее древними. К центрам типа 2, характеризующимся хинонным акцептором, относятся реакционные центры ФС2 высших растений, цианобактерий и цианобактерий-подобных прокариот (*Acaryochloris marina*), а также центры пурпурных (*Rhodospseudomonas viridis*) и зеленых нитчатых бактерий (*Chloroflexus aurantiacus*).

Установление молекулярной структуры реакционных центров с атомным разрешением позволило выявить ряд различий как в полипептидном составе, так и в переносчиках электрона и пигментной антенне у реакционных центров ФС1 и гелиобактерий, относящихся к одному типу. Так, если реакционный центр ФС1 (P700) цианобактерий содержит хлорофилла *a*, то реакционный центр гелиобактерий (P798) содержит бактериохлорофилл *g*, а центр зеленых серобактерий (P840) — бактериохлорофилл *a* [119]. Следует отметить, что основным светособирающим пигментом цианобактерий-подобных прокариотов *Acaryochloris marina* служит хлорофилл *d*, а P740 (первичный донор электрона ФС1 этого организма) представляет собой димер хлорофилла *d* [58, 93].

Общим для реакционных центров всех фотосистем является наличие у них димера хлорофилла (бактериохлорофилла) в качестве первичного донора электрона. Редокс потенциал первичных доноров электрона (P840, P798 и P740) реакционных центров типа ФС1 у

фотобактерий менее негативен, чем у P700. Кроме того, кор-антенна гелиобактерий (и зеленых серобактерий) меньше по размеру, чем антенны ФС1 цианобактерий: 15–20 молекул бактериохлорофилла на субъединицу (гомодимерный кор-комплекс) вместо 50 у ФС1 (гетеродимерный кор-комплекс). Вторичным донором электрона на люменальной стороне у гелиобактерий и зеленых серобактерий служит 4-гемовый цитохром, в противоположность пластоцианину и одногомемовому цитохрому c_6 в ФС1. Донорная часть реакционного центра гелиобактерий и зеленых серобактерий очень сходна с таковой пурпурных бактерий *Rhodospirillum rubrum* [16, 61].

Как уже отмечалось, весь хлорофилл цианобактерий локализован в кор-комплексах, так как эти организмы лишены хлорофилл-содержащих светособирающих комплексов. В последние годы у цианобактерий *Synechococcus* sp. PCC 7942 и *Synechocystis* sp. PCC 6803 были обнаружены белки, подобные белку хлорофилл-содержащих светосборщиков высших растений [92]. Предполагается, что найденный белок может рассматриваться как эволюционный предшественник семейства белков эукариот. Пока неизвестно, сколько молекул хлорофилла могут содержать эти белки. У цианобактерии *Synechocystis* sp. идентифицированы 5 генов, кодирующих малые белки, которые подобны белкам светособирающего комплекса LHC2 высших растений [38].

Долгое время два типа реакционных центров рассматривались как эволюционно независимые, хотя предполагался общий предшественник. Структурное сходство реакционных центров фотосистем служит доказательством существования такого предшественника [16, 17, 110, 119, 130]. По-видимому, кор-комплекс такого предшественника был сходен с реакционным центром ФС1 и имел гомодимерную структуру, как у современных гелиобактерий [139]. Хотя реакционные центры ФС1 и ФС2 относятся к разным типам, между ними имеется ряд аналогий. У обоих центров электрон-транспортная цепь окружена кольцом из 5 трансмембранных спиралей. Специальная пара (первичный донор электрона) представляет собой димер (бактерио)хлорофилла, а первичным акцептором электрона служит молекула того же пигмента. Кор-комплексы ФС1 и ФС2 (D1/D2 и PsaA/PsaB) имеют сходную организацию, полипептиды одинаково расположенных трансмембранных цепей высоко гомологичны [14, 110, 119, 149]. На основании данных по молекулярной организации обоих типов реакционных центров выдвинут ряд предположений о возможной эволюционной последовательности этих центров [16, 119, 138, 139]. По-видимому, наиболее древним может считаться реакционный центр типа ФС1 с гомодимерным кор-комплексом.

IX. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, хотя ФС1 цианобактерий и высших растений имеют сходную организацию и выполняют ту же функцию, ФС1 эволюционно более древних цианобактерий характеризуется рядом существенных отличий в составе полипептидов и форм антенного хлорофилла. Комплекс ФС1 в цианобактериях организован преимущественно в виде тримера, который также участвует в фотопереносе электрона и определяет исключительно высокую устойчивость этих комплексов к фотодеструкции. Важную роль в стабилизации ФС1 тримеров цианобактерий играют длинноволновые формы хлорофилла и способность $P700^+$ тримеров ФС1 эффективно тушить поглощенную энергию, когда реакционный центр закрыт и энергия не может быть использована в фотосинтезе. Другие формы длинноволнового хлорофилла передают поглощенную энергию на $P700$ через валовые хлорофиллы, увеличивая тем самым поглощение света в близкой инфракрасной области. На основании данных по пикосекундной спектроскопии предложена кинетическая модель миграции энергии в антенне тримеров ФС1. Разделение зарядов в реакционных центрах ФС1 цианобактерий происходит быстрее, чем в других известных центрах.

Автор благодарит Российский Фонд Фундаментальных Исследований за финансовую поддержку (грант 99–04–48180).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Заварзин Г.А. // Бактерии и состав атмосферы. 1984. М: Наука. 192 с.
2. Карапетян Н.В. // Биол. Мембраны. 1998. Т. 15. С. 461–471.
3. Климов В.В., Красновский А.А. // Биофизика. 1982. Т. 27. С. 186–198.
4. Климов В.В., Крахмалева И.Н., Шувалов В.А., Карапетян Н.В., Красновский А.А. // Докл. АН СССР. 1975. Т. 221. С. 1207–1210.
5. Климов В.В., Шувалов В.А., Крахмалева И.Н., Карапетян Н.В., Красновский А.А. // Биофизика 1976. Т. 41. С. 1435–1441.
6. Опарин А.И. // Возникновение жизни на Земле. 1957. М: Изд. АН СССР. 458 с.
7. Пащенко В.З., Тусов В.Б., Корватовский Б.Н., Рубин А.Б. // Докл. АН СССР. 1981. Т. 269. С. 166–169.
8. Руттен М. // Происхождение жизни. 1973. М: Мир. 411 с.
9. Шубин В.В., Безсмертная И.Н., Кляйнер Р., Карапетян Н.В. // Докл. РАН. 1996. Т. 351. С. 272–274.
10. Шубин В.В., Ефимовская Т.В., Карапетян Н.В. // Ж. Физ. Химии. 1981. Т. 55. С. 2916–2921.
11. Шубин В.В., Карапетян Н.В. // Биофизика. 1986. Т. 31. С. 21–26.
12. Шувалов В.А. // Первичное преобразование световой энергии при фотосинтезе. 1990. М: Наука. 206 с.

13. Allen J.P., Williams J.C. // FEBS Lett. 1998. Vol. 438. P. 5—9.
14. Barber J. // Biochim. Biophys. Acta. 1998. 1365, 269—277.
15. Biggins J., Bruce D. // Photosynth. Res. 1989. Vol. 20. P. 1—34.
16. Blankenship R.E. // Photosynth. Res. 1992. Vol. 33. P. 91—111.
17. Blankenship R.E. // Trends Biochem. Sci. 1998. Vol. 23. P. 94—98.
18. Boekema E.J., Boonstra A.F., Dekker J.P., Roegner M. // J. Bioenerget. Bio-membr. 1994. Vol. 26. P. 17—29.
19. Boekema E.J., Dekker J.P., van Heel M.G., Roegner M., Saenger W., Witt I., Witt H.T. // FEBS Lett. 1987. Vol. 217. P. 283—286.
20. Boekema E.J., Dekker J.P., Roegner M., Witt I., Witt H.T., van Heel M.G. // Biochim. Biophys. Acta. 1989. Vol. 974. P. 81—87.
21. Brettel K. // Biochim. Biophys. Acta. 1997. Vol. 1318. P. 322—373.
22. Butler W.L. // Ann. Rev. Plant Physiol. 1978. Vol. 22. P. 345—378.
23. Byrdin M., Rimke I., Schlodder E., Stehlik D., Roelofs T.A. // Biophys. J. 2000. Vol. 79. P. 992—1007.
24. Chitnis V.P., Chitnis P.R. // FEBS Lett. 1993. Vol. 336. P. 330—334.
25. Chitnis R.P., Xu Q., Chitnis V.P., Ne-chusthai R. // Photosynth. Res. 1995. Vol. 44. P. 23—40.
26. Chitnis P.R. // Plant Physiol. 1996. Vol. 111. P. 661—669.
27. Chitnis V.P., Jung Y.-S., Albee L., Golbeck J.H., Chitnis P.R. // J. Biol. Chem. 1996. Vol. 271. P. 11772—11780.
28. Cometta A., Zucchelli G., Karapetyan N.V., Engelman E., Garlashi F.M., Jennings R.C. // Biophys. J. 2000. Vol. 79. P. 3235—3243.
29. Croce R., Zucchelli G., Garlashi F.M., Bassi R., Jennings R.C. // Biochemis-try. 1996. Vol. 35. P. 8572—8579.
30. Deinum G., Kramer H., Aartsma T.J., Kleinherenbrink F.A.M., Amesz J. // Biochim. Biophys. Acta. 1991. Vol. 1058. P. 339—344.
31. Doering G., Renger G., Vater J., Witt H.T. // Z. Naturforsch. 1969. 24B, P. 1139—1143.
32. Dorra D., Fromme P., Karapetyan N.V., Holzwarth A.R. // Photosynthe-sis: Mechanisms and Effects. / Ed. Gar-ab G. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1998. Vol. 1. P. 587—590.
33. Duval J.C., Thomas J.C., Choquet Y. // Biochim. Biophys. Acta. 1986. Vol. 848. P. 352—358.
34. Duysens L.N.M. // Light Emission by Plants and Bacteria. / Eds. Govindjee, Amesz J., Fork D.C. New York: Aca-demic Press. 1986. P. 4—32.
35. Engelman E., Tagliaube T., Karapetyan N.V., Garlaschi F.M., Zucchelli Z., Jennings R.C. // FEBS Lett. 2001. (in press)
36. Ford R.C., Hefli A., Engel A. // EMBO J. 1990. Vol. 9. P. 3067—3075.
37. Fromme P. // Concepts in Photobio-logy: Photosynthesis and Photomor-phogenesis. / Eds. Singhal G.S., Renger G., Sopory S.K., Irgang K.-D., Govindjee. New Delhi: Narosa Publishing House. 1999. P. 181—220.
38. Funk K., Vermaas W.F.J. // Bioche-mistry. 1999. Vol. 38. P. 9397—9404.
39. Gannt E. // The Molecular Biology of Cyanobacteria. / Ed. Bryant D.A. Dordrecht: Kluwer Academic Publi-shers. 1994. P. 119—138.
40. Garlashi F.M., Karapetyan N.V., Co-metta A., Zucchelli G., Jennings R.C. // Photosynthesis: Mechanisms and Effects. / Ed. Garab G. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1998. Vol. 1. P. 497—502.
41. Gill E.M., Wittmershas B.P. // Photo-synth. Res. 1999. Vol. 61. P. 53—64.
42. Gobets B., van Amerongen H., Monsho-wer R., Kruij J., Roegner M., van Gron-

- delle R., Dekker J.P. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1994. Vol. 1188. P. 75—85.
43. Gobets B., Dekker J.P., van Grondelle R. // *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*. / Ed. Garab G. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1998. Vol. 1. P. 503—508.
 44. Gobets B., van Stokum I.H.M., van Mourik F., Roegner M., Kruip J., Dekker J.P., van Grondelle R. // *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*. / Ed. Garab G. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1988. Vol. 1. P. 571—574.
 45. Gobets B., van Stokum I.H.M., Rogner M., Kruip J., Sschlodder E., Karapetyan N.V., Dekker J.P., van Grondelle R. // *Biophys. J.* 2001. (in press)
 46. Golbeck J.H. // *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. / Ed. Bryant D.A. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1994. P. 319—360.
 47. Golbeck J.H., Bryant D.A. // *Curr. Top. Bioenerg.* / Ed. Lee C.P. New York: Academic Press. 1991. Vol. 16. P. 83—177.
 48. Golbeck J.H. // *Organic Photochemistry and Photobiology*. / Ed. Horspool W.M. Boca Raton: CRC Press. 1995. P. 1423—1435.
 49. Hastings G., Hoshina S., Weber A.N., Blankenship R.E. // *Biochemistry*. 1995. Vol. 34. P. 15512—15522.
 50. Hastings G., Kleinherenbrink F.A.M., Lin S., Blankenship R.E. // *Biochemistry*. 1994. Vol. 33. P. 185—3192.
 51. Hayes J.M., Matsuzaki S., Ratsep M., Small G.J. // *J. Phys. Chem.* 2000. Vol. 104B. P. 5625—5633
 52. Hladik J., Sofrova D. // *Photosynth. Res.* 1991. Vol. 29. P. 171—175.
 53. Holzwarth A.R., Schatz G.H., Brock H., Bittersmann E. // *Biophys. J.* 1993. Vol. 64. P. 1813—1826.
 54. Holzwarth A.R., Dorra D., Mueller M.G., Karapetyan N.V. // *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*. / Ed. Garab G. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1998. Vol. 1. P. 417—420.
 55. Holzwarth A.R., Mueller M.G., Martin I., Karapetyan N.V., Trinkunas G. // *Ultrafast Phenomena IX*. / Eds. Elsaesser T., Fujimoto J.G., Wiersma D.A., Zinth W. Berlin: Springer. 1999. P. 678—680.
 56. Holzwarth A.R., Haehnel W., Ratajczak R., Bittersman, E., Schatz G.H. // *Current Research in Photosynthesis*. / Ed. Baltscheffsky M. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1991. P. 611—614.
 57. Holzwarth A.R., Dorra D., Karapetyan N.V. // *Biophys. J.* 2001 (in press).
 58. Hu Q., Miyashita H., Iwasaki I., Kurano N., Miyachi S., Iwaki M., Itoh S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. Vol. 95. P. 13319—13323
 59. Jansson S. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1994. Vol. 1184. P. 1—19.
 60. Jekow P., Schubert W.-D., Fromme P., Kruip J., Chitnis P.R., Roegner M., Saenger W. // *Z. Naturforsch.* 1996. Vol. 51C. P. 195—199.
 61. Karapetyan N.V. // *Origins of Life* 1975. Vol. 6. P. 253—256.
 62. Karapetyan N.V. // *Membr. Cell Biol.* 1998. Vol. 12. P. 571—584.
 63. Karapetyan N.V., Dorra D., Schweitzer G., Bezmertnaya I.N., Holzwarth A.R. // *Biochemistry* 1997. Vol. 36. P. 13830—13837.
 64. Karapetyan N.V., Dorra D., Holzwarth A.R., Kruip J., Roegner M. // *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*. / Ed. Garab G. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1998. Vol. 1. P. 583—586.
 65. Karapetyan N.V., Holzwarth A.R., Roegner M. // *FEBS Lett.* 1999. Vol. 460. P. 395—400.
 66. Karapetyan N.V., Klimov V.V., Krasnovsky A.A. // *Photosynthetica*. 1973. Vol. 7. P. 330—337.

67. *Karapetyan N.V., Shubin V.V., Strasser R.J.* // Photosynth. Res. 1999. Vol. 61. P. 291—301.
68. *Karapetyan N.V., Shubin V.V., Bezsmertnaya I.N., Strasser R.J.* // Photosynthesis: From Light to Biosphere / Ed. Mathis P. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1995. Vol. 2. P. 55—58.
69. *Karapetyan N.V., Shubin V.V., Vasiliev S.S., Bezsmertnaya I.N., Tusov V.B., Pashchenko V.Z.* // Research in Photosynthesis. / Ed. Murata N. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1992. Vol. 1. P. 549—552.
70. *Karapetyan N.V., Shubin V.V., Bezsmertnaya I.N., Rakhimberdieva M.G., Mazhorova L.E., Terekhova I.V., Dorra D., Holzwarth A.R., Kruip J., Roegner M., Strasser R.J.* // The Chloroplast: From Molecular Biology to Biotechnology. / Eds. Argyroudy-Akounoglou J.H., Senger H. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1999. P. 27—32.
71. *Karapetyan N.V., Swarthoff T., Rijgersberg C.P., Amesz J.* // Biochim. Biophys. Acta. 1980. Vol. 593. P. 254—260.
72. *Kawlowski A., Altenberg-Greulich B., van der Erst A., Zech S.G., Bittl R., Fromme P., Lubitz W., Stehlik D.* // J. Phys. Chem. 1998. Vol. 102. P. 8278—8287.
73. *Kleinherenbrink F.A.M., Deinum G., Otte C.C.M., Hoff A.J., Amesz J.* // Biochim. Biophys. Acta. 1992. Vol. 1099. P. 175—181.
74. *Klukas O., Schubert W.-O., Jordan P., Krauss N., Fromme P., Witt H.T., Saenger W.* // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 7351—7360.
75. *Klukas O., Schubert W.-O., Jordan P., Krauss N., Fromme P., Witt H.T., Saenger W.* // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 7361—7367.
76. *Koehne B., Trissl H.-W.* // Biochemistry. 1998. Vol. 37. P. 5494—5500.
77. *Knoetzel J., Swenden I., Simpson D.J.* // Eur. J. Biochem. 1992. Vol. 206. P. 209—215.
78. *Kok B.* // Biochim. Biophys. Acta. 1956. Vol. 22. P. 399—401.
79. *Kok B.* // Biochim. Biophys. Acta. 1961. Vol. 48. P. 527—533.
80. *Krauss N., Hinrichs W., Witt I., Fromme P., Pritzkow W., Dauter Z., Betzel C., Wilson K.S., Witt H.T.* // Nature. 1993. Vol. 361. P. 326—331.
81. *Krauss N., Schubert W.-D., Klukas O., Fromme P., Witt H.T., Saenger W.* // Nature Struct. Biol. 1996. Vol. 3. P. 965—973.
82. *Kruip J., Bald D., Boekema E.J., Roegner M.* // Photosynth. Res. 1994. Vol. 40. P. 279—286.
83. *Kruip J., Boekema E.J., Bald D., Boonstra A.F., Roegner M.* // J. Biol. Chem. 1993. Vol. 268. P. 23353—23360.
84. *Kruip J., Chitnis P.R., Lagoutte B., Roegner M., Boekema E.J.* // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 17061—17069.
85. *Kruip J., Karapetyan N.V., Terekhova I.V., Roegner M.* // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 18181—18188.
86. *Laible P.D., Zipfel W., Owens T.G.* // Biophys. J. 1994. Vol. 66. P. 844—860.
87. *Lelong C., Boekema E.J., Kruip J., Bottin H., Roegner M., Setif P.* // EMBO J. 1996. Vol. 15. P. 2160—2168.
88. *Manna P., Chitnis P.R.* // Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis. / Eds. Singhal G.S., Renger G., Sopory S.K., Irigang K.-D., Govindjee. New Delhi: Narosa Publishing House. 1999. P. 221—263.
89. *Melkozernov A.N., Lin S., Blankenship R.E.* // Biochemistry. 2000. Vol. 39. P. 1489—1498.
90. *Melkozernov A.N., Lin S., Blankenship R.E.* // J. Phys. Chem. 2000. Vol. 104B. P. 1651—1656

91. *Mimuro M., Kikuchi H., Murakami A.* // Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis. / Eds. Singhal G.S., Renger G., Sopory S.K., Irrgang K.-D., Govindjee. New Delhi: Narosa Publishing House. 1999. P. 104—135.
92. *Miroshnichenko-Dolganov N.A., Bhaya D., Grossman A.R.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. Vol. 92. P. 636—640.
93. *Miyashita H., Ikemoto H., Kurano N., Adachi K., Chihara M., Miyachi S.* // Nature 1996. Vol. 383. P. 402
94. *Moskalenko A.A., Karapetyan N.V.* // Z. Naturforsch. 1996. Vol. 51C. P. 763—771.
95. *Muehlendorf U., Kruip J., Bryant D.A., Roegner M., Setif P., Boekema E.J.* // EMBO J. 1996. Vol. 15. P. 488—497.
96. *Mukerji I., Sauer K.* // Photosynthesis. Plant Biology. / Ed. Briggs W.R. New York: Alan R. Liss. 1989. Vol. 8. P. 105—122.
97. *Mulkiidjanian A.Y., Junge W.* // Photosynth. Res. 1997. Vol. 51. P. 27—42.
98. *Mullet J.E., Burke J.J., Arntzen C.J.* // Plant Physiol. 1980. Vol. 65. P. 814—822.
99. *Nuijs A.M., Shuvalov, V.A., van Gorkom, H.J., Plijter, J.J., Duysens, L.N.M.* // Biochim. Biophys. Acta. 1986. Vol. 850. P. 310—318.
100. *Owens T.G., Webb S.P., Mets L., Alberte R.S., Fleming G.R.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987. Vol. 84. P. 1532—1536.
101. *Owens T.G., Webb S.P., Mets L., Alberte R.S., Fleming G.R.* // Biophys. J. 1988. Vol. 53. P. 733—745.
102. *Owens T.G., Webb S.P., Mets L., Alberte R.S., Fleming G.R.* // Biophys. J. 1989. Vol. 56. P. 95—106.
103. *Palsson L.O., Dekker J.P., Schloder E., Monshouwer R., van Grondelle R.* // Photosynth. Res. 1996. Vol. 48. P. 239—246.
104. *Palsson L.-O., Flemming C., Gobetz B., van Grondelle R., Dekker J.P., Schloder E.* // Biophys. J. 1998. Vol. 74. P. 2611—2622.
105. *Palsson L.-O., Tjius S.F., Andersson B., Gillbro T.* // Chem. Physics. 1995. Vol. 194. P. 291—302.
106. *Pakrasi H.B.* // Ann. Rev. Genetics. 1995. Vol. 29. P. 755—776.
107. *Papageorgiou G. C.* // J. Scien. Industr. Res. 1996. Vol. 55. P. 596—617.
108. *Rakhimberdieva M.G., Boychenko V.N., Karapetyan N.V., Stadnichuk I.N.* // Biochemistry. 2001. (in press)
109. *Ratsep M., Johnson T.W., Chitnis P.R., Small G.J.* // J. Phys. Chem. 2000. Vol. 104B. P. 836—847
110. *Rhee K.-H., Morris E.D., Barber J., Kuehlbrandt W.* // Nature. 1998. Vol. 396. P. 283—286.
111. *Roegner M., Muehlenhoff U., Boekema E.J., Witt H.T.* // Biochim. Biophys. Acta. 1990. Vol. 1015. P. 415—424.
112. *Roegner M., Boekema E.J., Barber J.* // Trends Biochem. Sci. 1996. Vol. 21. P. 44—49.
113. *Savikin S., Xu W., Soukoulis V., Chitnis P.R., Struve W.S.* // Biophys. J. 1999. Vol. 76. P. 3278—3288.
114. *Savikin S., Xu W., Chitnis P.R., Struve W.S.* // Biophys. J. 2000. Vol. 79. P. 1573—1586
115. *Scheller H.V., Naver H., Moeller B.L.* // Physiol. Plantarum 1997. Vol. 100. P. 842—851.
116. *Schluchter W.M., Shen G., Zhao J., Bryant D.A.* // Photochem. Photobiol. 1996. Vol. 64. P. 53—66.
117. *Schopf J.W.* // Science. 1993. Vol. 260. P. 640—646.
118. *Schubert W.-D., Klukas O., Krauss N., Saenger W., Fromme P., Witt H.T.* // J. Mol. Biol. 1997. Vol. 272. P. 741—769.

119. Schubert W.-D., Klukas O., Saenger W., Witt H.T., Fromme P., Krauss N. // J. Mol. Biol. 1998. Vol. 280. P. 297–314.
120. Setif P., Brettel K. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. Vol. 1020. P. 323–238.
121. Shubin V.V., Bezsmertnaya I.N., Karapetyan N.V. // FEBS Lett. 1992. Vol. 309. P. 340–342.
122. Shubin V.V., Bezsmertnaya I.N., Karapetyan N.V. // J. Photochem. and Photobiol. B: Biol. 1995. Vol. 30. P. 153–160.
123. Shubin V.V., Karapetyan N.V., Krasnovsky A.A. // Photosynth. Res. 1986. Vol. 3. P. 3–12.
124. Shubin V.V., Murthy S.D.S., Karapetyan N.V., Mohanty P. // Biochim. Biophys. Acta. 1991. Vol. 1060. P. 28–36.
125. Shubin V.V., Tsuprun V.L., Bezsmertnaya I.N., Karapetyan N.V. // FEBS Lett. 1993. Vol. 334. P. 79–82.
126. Shuvalov V.A., Ke B. // FEBS Lett. 1979. Vol. 100. P. 5–8.
127. Soukoulis V.S., Savikin S., Xu W., Chitnis P.R., Struve W.S. // Biophys. J. 2000. Vol. 76. P. 2711–2717.
128. Sun J., Xu Q., Chitnis V.P., Jin P., Chitnis P.R. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 21793–21802.
129. Takahashi Y., Hirota K., Katoh S. // Photosynth. Res. 1985. Vol. 6. P. 183–192.
130. Tomitani A., Okada K., Miyashita H., Matthijs H.C.P., Ohno T., Tanaka A. // Nature. 1999. Vol. 400. P. 159–162.
131. Trissl H.-W. // Photosynth. Res. 1993. Vol. 35. P. 247–263.
132. Tsiotis G., Haase W., Mueller S., Engel A., Michel H. // Eur. J. Biochem. 1995. Vol. 231. P. 823–830.
133. Turconi S., Kruip J., Schweitzer G., Roegner M., Holzwarth A.R. // Photosynth. Res. 1996. Vol. 49. P. 263–268.
134. Turconi S., Schweitzer G., Holzwarth A.R. // Photochem. Photobiol. 1993. Vol. 57. P. 113–119.
135. Valkunas L., Liuolia V., Dekker J.P., van Grondelle R. // Photosynth. Res. 1995. Vol. 43. P. 149–154.
136. van der Lee, Bald D., Kwa S.L.S., van Grondelle R., Roegner M., Dekker J.P. // Photosynth. Res. Vol. 35. P. 311–321.
137. van Grondelle R., Dekker J.P., Gilbro T., Sundstroem Vol. // Biochim. Biophys. Acta. 1994. Vol. 1187. P. 1–65.
138. van Thor J.J., Mullineaux C.W., Matthijs H.C.P., Hellingwerf K.J. // Botanica Acta. 1998. Vol. 111. P. 1–14.
139. Vermaas W.F.J. // Photosynth. Res. 1994. Vol. 41. P. 285–294.
140. Westermann M., Ernst A., Brass S., Boeger P., Wehrmeyer W. // Arch. Microbiol. 1994. Vol. 162. P. 222–232.
141. Westermann M., Neuschaefer-Rube O., Moerschel E., Wehrmeyer W. // J. Plant Physiol. 1999. Vol. 155. P. 24–33.
142. White N.T.H., Beddard G.S., Thorne J.R.G., Feehan T.M., Keyes T.A., Heathcote P. // J. Phys. Chem. 1996. Vol. 100. P. 12086–12099.
143. Witt H.T. // Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 1996. Vol. 100. P. 1923–1942.
144. Wittmershaus B.P., Berns D.S., Huang C. // Biophys. J. 1987. Vol. 52. P. 868–878.
145. Wittmershaus B.P., Tran T.D., Panaia B. // Photosynth. Res. 1998. Vol. 57. P. 29–39.
146. Wittmershaus B.P., Woolf V.M., Vermaas W.F.I. // Photosynth. Res. 1992. Vol. 31. P. 75–87.
147. Woolf V.M., Wittmershaus B.P., Vermaas W.F.J., Tran T.D. // Photosynth. Res. 1994. Vol. 40. P. 21–34.

148. *Yang F., Shen G., Schlachter W.M., Zybaylov B., Ganago A., Golbeck J.H., Bryant D.A.* // *The Phototrophic Prokaryotes.* / Ed. Peschek G. Dordrecht: KluwerAcademic Publishers. 1999. P. 21—33.
149. *Zouni A., Witt H.-T., Kern J., Fromme P., Krauss N., Saenger W., Orth P.* // *Nature.* 2001. Vol. 409. P. 739—743.