УДК 577.355.132

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СВЯЗЬ ФИКОЭРИТРИНА С ФОТОСИСТЕМОЙ II У КРИПТОФИТОВОЙ ВОДОРОСЛИ *Rhodomonas salina**

© 2020 И.Н. Стадничук^{1**}, Т.М. Новикова², Г.С. Минюк², В.А. Бойченко³, Ю.В. Болычевцева⁴, Е.С. Гусев¹, Е.П. Лукашев⁵

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276 Москва, Россия; электронная почта: stadnichuk@mail.ru

² ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, 299011 Севастополь, Россия

³ Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук,

142290 Пущино, Московская обл., Россия

⁴ ФИЦ Биотехнологии, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071 Москва, Россия

⁵ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

биологический факультет, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 09.04.2020 После доработки 02.05.2020 Принята к публикации 03.05.2020

Криптофитовые водоросли занимают особую пигментную нишу среди оксигенных фотосинтетиков, обладая уникальным для пластид сочетанием фикобилипротеинов и хлорофилл *a/c*-содержащей антенны. Сведения о фотосинтезе криптофит, несмотря на успехи в изучении морфологии, экологии и геносистематики, остаются недостаточными. Неизвестно соотношение фотосистем I и II (ФС I и II) и противоречивы данные о специфике участия антенных комплексов в их функционировании. В данной работе впервые удалось показать, что у криптофитовой водоросли *Rhodomonas salina* ФС I и ФС II входят в состав тилакоидных мембран в соотношении 1 : 4, в то время как известные пропорции у цианобактерий и высших растений равняются соответственно 3 : I и 1 : 1. Кроме того, выявлено, что фикобилипротеиновая антенна, представленная у *R. salina* фикоэритрином-545 (ФЭ-545), связана, в отличие от цианобактерий, только с ФС II, что означает особую пространственную укладку этих белков-пигментов, не вступающих внутри тилакоидов в контактные взаимодействия с ФС I.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: криптофиты, фикобилипротеины, фикоэритрин, хлорофилл *a*, хлорофилл *c*, фотосистема I, фотосистема II.

DOI: 10.31857/S0320972520060056

введение

Двужгутиковые криптофитовые водоросли (криптофиты) благодаря фикобилипротеинам, поглощающим свет в «зеленом окне» хлорофилла, формируемом поверхностными водорослями других групп, могут обитать в глубоких нижних слоях фитопланктона [1–3]. Криптофиты входят в разнообразную по составу представителей группу Chromoalveolates — водорослей, чьи хлоропласты имеют четыре наружные мембраны и содержат хлорофилл с (Хл с). У оксигенных фотосинтетиков фотосинтез связан с фоторазложением воды и выделением кислорода за счет взаимодействия двух фотосистем. Пигмент-белковые комплексы фотосистемы I (ФС I) и фотосистемы II (ФС II) находятся в тилакоидах криптофит и других водорослей, как и высших растений, в виде димеров ФС II и мономеров ФС I [4, 5]. Антенные комплексы, передающие поглощенную световую энергию фотосистемам, характеризуются разнообразием. Известны три типа антенн: 1) фикобилисомная у цианобактерий и красных водорослей; 2) Хл а/b-содержащая у зеленых водорослей и высших растений; 3) Хл а/с-содержащая у многочисленных групп Chromophyta. Хлорофилл *с* в составе хлорофилл *а/с*-протеина является аналогом хлорофилла *b* в Хл а/b-содержащих белках. Эти мембранные

Принятые сокращения: ФБС – фикобилисома; ФЭ-545 – фикоэритрин-545; ФС II (ФС I) – фотосистема II (фотосистема I); Хл a – хлорофилл a; Хл c – хлорофилл c; Хл a/c-протеин – хлорофилл a/c-протеин.

^{*} Первоначально английский вариант рукописи опубликован на сайте «Biochemistry» (Moscow) http://protein.bio. msu.ru/biokhimiya, в рубрике «Papers in Press», BM20-092, 01.06.2020.

^{**} Адресат для корреспонденции.

светособирающие пигмент-белковые комплексы (LHC) делятся на несколько белковых семейств. Хлорофилл a/c-комплексы криптофит входят в семейство САС-протеинов (chlorophyll a/c-proteins) [6, 7]. Общим свойством гомологичных LHC белков-пигментов является наличие до 14–15 хлорофилльных молекул. Соотношение Хл a : Хл b, как и Хл a : Хл c в LHC-семействах может быть различным, но всегда с преобладанием молекул Хл a [8]. Известно несколько хлорофиллов c: Хл c_1 , Хл c_2 , Хл c_3 и др. У большинства видов криптофит в клетках находится Хл c_2 [6, 9].

Криптофитовые водоросли уникальны добавлением к Хл а/с-протеину фикобилипротеиновой антенны. Фикобилипротеины криптофит не встречаются в цианобактериях или красных водорослях, являясь оригинальными белкамипигментами. В соответствии с окраской их делят на синие фикоцианины (ФЦ) и красные фикоэритрины (Φ Э). Семь (или, возможно, восемь) белков-пигментов двух цветовых групп обозначаются по своим длинноволновым максимумам (нм) поглощения: ФЭ-545, ФЭ-555, ФЭ-566, ФЦ-569, ФЦ-612, ФЦ-630 и ФЦ-645 [10, 11]. Окраска белков и вид спектров определяются различными сочетаниями хромофоров в составе каждого фикобилипротеина. Из шести химически идентифицированных фикобилиновых хромофоров фикоцианобилин и фикоэритробилин совпадают с установленными для красных водорослей и цианобактерий, остальные четыре – оригинальны [11]. Каждый фикобилипротеин является полипептидным гетеродимером $(\alpha_1\beta\alpha_2\beta)$, т.е. содержит две разные α -субъединицы и два идентичных β-полипептида общей массой ~60 кДа. На α-полипептидах находится по одному хромофору, на β – три хромофора, и, в итоге, в состав димера входит восемь хромофорных групп. Субъединицы β кодируются в геноме пластид, но α_1 и α_2 кодируются клеточным ядром и с помощью сигнальных пептидов транспортируются клеткой через четыре наружные мембраны внутрь хлоропласта, где собираются в димерные комплексы. При наличии лишь двух генов β-субъединицы [12] неоднократная дупликация привела к появлению большого семейства α-субъединиц, насчитывающем до 20 генов, хотя в каждый момент, зависящий условий обитания, преимущественно OT экспрессируются какие-либо две из них [13]. У цианобактерий и красных водорослей фикобилипротеины собраны в фикобилисомы – мегакомплексы массой несколько миллионов дальтон, насчитывающие несколько сот фикобилиновых хромофоров. У криптофит ($\alpha_1\beta\alpha_2\beta$)-гетеродимеры не объединяются в фикобилисомы и находятся не на стромальной поверхности тилакоидной мембраны подобно фикобилисомам, а располагаются во внутренней, люменальной части тилакоидов [14, 15].

Надмолекулярная организация фикобилипротеинов и их локализация в объеме тилакоидного люмена остаются под вопросом. Димеры заполняют все пространство люмена и, возможно, собираются в цилиндрические структуры, расположенные перпендикулярно к мембране тилакоида [14—16]. Структурные данные, полученные различными методами, не позволяют в настоящее время прийти к окончательным выводам о надмолекулярной архитектуре [17]. Различить детали самосборки в клетке относительно мелких (~60 кДа) димеров, подобную самосборке фикобилисом, или биохимически выделить возможные белковые макроструктуры не удается, это требует дальнейших исследований.

Вопрос об особенностях Хл а/с-протеинов сводится к изучению топографии этих белков в плоскости тилакоидной мембраны. Благодаря использованию одночастичной электронной микроскопии удалось выяснить, что Хл а/с-протеины в числе от четырех до восьми примыкают к боковым поверхностям димеров ФС II и мономеров ФС I [5], повторяя в значительной мере вид суперкомплексов Хл а/b-протеинов в составе ФС II и ФС I у высших растений и зеленых водорослей [7]. Эти данные вместе с различными спектральными исследованиями обоснованно привели к заключению о прямой передаче поглощенной энергии от Хл а/с-содержащей антенны к обеим фотосистемам. Тем более актуальным становится вопрос о роли фикобилипротеинов как антенны криптофит. Передача энергии от фикобилипротеинов к Хл а в клетке была выявлена спектроскопически, начиная с первых исследований на эту тему [18], но вопрос о возможности миграции только к ФС II или также к ФС I исследуется до сих пор. Из солюбилизированных пластид водоросли Cryptomonas rufescens в градиенте плотности сахарозы получен комплекс ФЭ-565 и ФС II [19], а из вида Chroomonas placoidea выделен комплекс, содержащий одновременно ФЦ-645 и Хл а/с-протеин [20]. Ограниченные возможности совместного выделения водорастворимых фикобилипротеинов и мембранных белков (ФС II или Хл a/cпротеин) не исключают возможности артефактов. Проблема усугубляется нехваткой сведений о соотношении двух фотосистем в пластидах криптофит и тем самым о доле антенного $X_{\pi} a$, приходящейся на каждую из них.

Существуют разные представления о возможной связи с фотосистемами и тем самым о передаче поглощаемой фикобилипротеинами

энергии к $\Phi C I$ и $\Phi C II$. Сделаны предположения о ферстеровском механизме переноса энергии напрямую или при посредничестве Хл *a/с*-протеина [21, 22]. Проводили регистрацию стационарных спектров флуоресценции или возбуждения для клеток при комнатной и низкой температуре, когда излучение относится только к Хл *a* ΦC II или к Хл *a* обеих фотосистем [23, 24]; проводили сверхбыстрые флуоресцентные измерения и глобальный спектральный анализ флуоресценции пигментов у криптофитовых водорослей в широком спектральном диапазоне [25], допускающие возможность распределения поглощенной энергии между фотосистемами.

Для решения вопроса о роли фикобилипротеинов в клетках криптофит провели сопоставление стационарных флуоресцентных измерений, оценку влияния фикобилипротеинов на степень фотоокисления реакционного центра Р700, принадлежащего ФС I, регистрацию спектров действия двух фотосистем, а также сделаны расчеты, определяющие соотношение ФС I, ФС II и антенных комплексов. Водоросли *Rhodomonas* являются удобными моделями для изучения криптофит и их фотосинтетического аппарата. Был использован вид *R. salina*, который, как и многие другие виды данного рода, содержит ФЭ-545 наряду с Хл *a/с*-протеином.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Штаммы и условия культивирования. Морскую микроводоросль *Rhodomonas salina* (Wislouch) (Стурtomonades) из коллекции ФИЦ ИнБЮМ РАН выращивали на стандартной среде Уолна в 100 мл колбах при температуре 22 °С на постоянном белом свету 30 мкМ м⁻² с⁻¹ и перемешивании культуры магнитной мешалкой. Клетки собирали центрифугированием при 180 *g* в конце логарифмической фазы роста, на 5-й или 6-й день выращивания, сразу используя в экспериментах.

Спектры поглощения и флуоресценции. Поглощение клеток *R. salina* и выделенного из них Φ Э-545 регистрировали на спектрофотометре Varian 2300 UV Vis (США). Размер кювет для минимизации светорассеяния равнялся 2 мм. Спектры флуоресценции клеток измеряли на спектрофлуориметре Fluorolog-3 («Horiba Jobin Ivon», Япония). При комнатной температуре клеточные образцы помещали в 5 мм кюветы и при 77 К – в стеклянные капилляры с внутренним диаметром 2 мм, где их оптическая плотность при 678 нм не превышала 0,1. Полуширина спектральной щели для возбуждающего и регистрируемого излучения составляла 3 нм.

Спектр каждого образца записывали 3–5 раз, усредняли, после чего вычитали вклад рассеянного света, используя математическое обеспечение флуориметра.

Получение ФЭ-545 и тилакоидных мембран. Клетки, промытые 0,01 М К-фосфатным буферным раствором, pH 6,5, дважды подвергали замораживанию-оттаиванию при -20 °C, вызывая у криптофит, не имеющих прочных клеточных стенок, выход ФЭ-545 (и других водорастворимых белков) в буферный раствор. Водонерастворимую мембранную фракцию отделяли на настольной центрифуге, собирая белок-пигмент из надосадочной жидкости высаливанием 60%-ным сульфатом аммония. После ресуспендирования и диализа в том же буферном растворе препарат наносили на ионообменную хроматографическую колонку с носителем ДЕАЕ-52 (2 × 11 см, «Whatman», США), получая очищенный ФЭ-545. Зеленую осадочную фракцию после суспендирования в 0,1 М Tris-глициновом буферном растворе (рН 8,5) собирали и после дополнительной промывки и удаления неразрушенных клеток использовали как препарат тилакоидных мембран.

Обратимое фотоокисление Р700 фиксировали по разности поглощения клеток при 810 и 870 нм с помощью двухволнового регистратора сигнала ED-P700 DW (PAM-101, Германия) [26]. Образец после темновой адаптации (10 мин) освещали галогеновой лампой KL 1500 («Schott», Германия). Свет после интерференционных фильтров BPF 680/35 или BPF 580/35 (ООО «Фотооптик», Россия) и теплового фильтра («Balzers», Лихтенштейн) выравнивали по интенсивности (500 мкМ фотонов м⁻²с⁻¹), проводя измерения в кювете толщиной 0,3 см для образцов с концентрацией Хл *a*, равной 10 мкг мл⁻¹.

Спектры действия фотосинтеза регистрировали по фотоиндуцированному парциальному выделению O_2 (ФС II) и по светозависимому поглощению кислорода (ФС I) на специализированной установке [27], сочетающей полярографию и освещение клеток вспышками монохроматического света в области от 400 до 720 нм с равной интенсивностью $0,2 \text{ мкM см}^{-2} \text{ с}^{-1}$. Темновые перерывы для восстановления исходной фотоактивности образцов составляли 40 с. Клеточную суспензию объемом 20 мкл в 50 мМ Naфосфатном буферном растворе/50 мМ КСl, pH 6,8, и с оптической плотностью 0,15 (Хл а) помещали на поверхность высокочувствительного освещаемого платинового электрода с Ag/AgClэлектродом сравнения. Для регистрации фотоактивности ФС II кислородное дыхание клеток нейтрализовали, подсвечивая образец слабым постоянным светом ≥ 700 нм. Для регистрации активности ФС I к образцу добавляли 10 мкМ

DCMU для нейтрализации активности ФС II, как подробно описано ранее [27, 28]. Спектры усредняли, проводя измерения для 3–5 независимых клеточных образцов.

Стехиометрию пигмент—белковых комплексов и соотношение ФС І/ФС ІІ рассчитывали, используя коэффициенты экстинкции ФЭ-545 Хл *а* и Хл *с* [29–31]. Соотношение ФС І и ФС II (соотношение реакционных центров ФС І/ФС ІІ) определяли, суммируя спектры действия двух фотосистем и приводя сумму к минимальному расхождению со спектром поглощения клеток *R. salina* благодаря итерациям с использованием метода наименьших квадратов в спектральной области суммирования [28, 32].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Спектры поглощения. Спектр поглощения клеток *R. salina* типичен для водорослей *Rhodomonas* (рис. 1). Полоса Соре Хл *а* находится на участке 400–440 нм, полоса Хл *с* – при 455 нм; интенсивная полоса каротиноидов, с основным из них, аллоксантином [3], расположена при 495 нм. Максимум, принадлежащий в красной области Хл с, выявляется при 635 нм, основная красная полоса Хл а – при 676 нм. Спектр поглощения ФЭ-545, выделенного из клеток *R. salina* (рис. 1), имеет характерный контур [33]. Максимум при 545 нм сопровождается близкорасположенным с ним плечом 565 нм; эти полосы характеризуют два вида («сорта») фикобилинов в составе ФЭ-545, более коротковолновый фикоэритробилин и более длинноволновый дигидробиливердин [33].



Рис. 1. Спектр поглощения клеток *R. salina* (1); спектры выделенных из клеток Φ Э-545 (2), тилакоидных мембран (3) и суммарный спектр (4) (спектр 2 + спектр 3), моделирующий спектр клеток (1)

БИОХИМИЯ том 85 вып. 6 2020



Рис. 2. Спектры флуоресценции клеток *R. salina*, измеренные при комнатной температуре (*a*) и при 77 К (*б*). Возбуждение флуоресценции при 440 нм (*1*) и при 525 нм (*2*). Спектры приравнены в наибольших максимумах излучения

В спектре целых клеток участок длинноволнового склона, принадлежащий поглощению Φ Э-545, заметно уширен за счет перекрывания с сателлитными полосами Хл *с* и Хл *а*, которые хорошо различимы также в спектре выделенного из тилакоидов Хл *a/c*-протеина [8] и в спектре действия Φ С I (см. далее). Полосы, наблюдаемые в спектре тилакоидных мембран *R. salina*, повторяют полосы в спектре поглощения целых клеток за исключением области, принадлежащей поглощению Φ Э-545 (рис. 1).

Спектры флуоресценции клеток *R. salina* (рис. 2, *a*) при комнатной температуре зарегистрированы для возбуждения при двух длинах волн: 440 нм (полосы Соре Хл *a* и Хл *c*) и 525 нм (Φ Э-545). В первом случае спектр представлен одной интенсивной полосой Φ C II при 685 нм. Более коротковолновая флуоресценция, которая могла бы теоретически принадлежать Хл *c*, не наблюдается, подобно тому, как отсутствует флуоресценция Хл *b* у высших растений. Ее отсутствие указывает на практически 100% передачу энергии от Хл *c* к Хл *a*.

Возбуждение излучения при 525 нм, в области поглощения ФЭ-545, также приводит к интенсивной флуоресценции Хл a с полным совпадением максимума 685 нм с предыдущим спектром, что означает перенос энергии от фикобилипротеиновой антенны (рис. 2, a). Наблюдаемая коротковолновая менее интенсивная полоса 588 нм принадлежит, как известно [10, 34], собственно ФЭ-545.

При понижении температуры клеток до 77 К заметного появления длинноволновой флуоресценции Φ C I в спектрах *R. salina* не происходит. Различие со спектрами, полученными при комнатной температуре, сводится к небольшому красному смещению максимума Хл *a* от 685 к 696 нм (рис. 2, δ). Изменения слишком невелики, чтобы спектрально можно было с уверенностью различить две фотосистемы. Отдельные полосы Φ C I и Φ C II неразличимы, в отличие, например, от низкотемпературной флуоресценции высших растений, поэтому возможность участия Φ Э-545 в активности Φ C I при использовании стационарных спектров флуоресценции не проясняется.

Фотоиндуцированное окисление Р700. Первичное фоторазделение заряда в реакционном центре Р700 свидетельствует о передаче поглощенной световой энергии к ФС I. Для выявления передачи необходимо сравнение степени фотоокисления Р700 для двух длин волн, при одной из которых (680 нм) свет напрямую возбуждает Хл a, и при 580 нм – преимущественно антенный комплекс ФЭ-545. Сравнение степени обратимого фотоокисления Р700 показывает, что в последнем случае сигнал уменьшается вдвое в сравнении с прямым возбуждением Хл a в составе комплекса ФС I (рис. 3). Свет 580 нм в клетках, согласно спектру поглощения (рис. 1), на 75% поглощается ФЭ-545.



Рис. 3. Фотоиндуцированные изменения поглощения реакционного центра Р700 в клетках *R. salina*, освещаемых в течение 30 с действующим светом 680 нм (*1*) или 580 нм (*2*) в отсутствие диурона. Стрелками \uparrow и \downarrow обозначены включение и выключение света

Можно допустить, что двойное падение сигнала (рис. 3) указывает на малую эффективность участия ФЭ-545 в функционировании ФС І. Падение интенсивности сопровождается замедлением кинетики фотоокисления Р700 (участки между стрелками \uparrow и \downarrow на рис. 3). Это указывает на увеличение светопоглощения со стороны ФС II при 580 нм, которое должно сопровождаться ростом линейного потока электронов от ФС II к ФС І. «Подпитка» ФС І дополнительными отрицательными зарядами выражается в снижении скорости фотоокисления Р700. В итоге при наличии признаков связи ФЭ-545 с ФС II однозначно судить, чем вызвано меньшее фотоокисление Р700 — недостаточной миграцией энергии от ФЭ-545 к ФС I, особенностями взаимодействия двух фотосистем, или иными причинами – было бы преждевременным.

Спектры действия фотосинтеза. Регистрация спектров действия соответствует условиям, в которых при поглощении клеткой света ΦC II спектральное проявление активности ΦC I не сказывается, и наоборот. Поэтому контур спектра действия каждой фотосистемы повторяет спектр ее поглощения, не искажаемый присутствием в тилакоидах другой фотосистемы [27].

Спектр действия ФС II в коротковолновой области от 400 до 470 нм представляет собой суперпозицию полос, принадлежащих Хл а, Хл с и каротиноидам. В оранжево-красной области, наряду с максимумом Хл а при 676 нм и меньшим по интенсивности максимумом Хл с при 636 нм, спектр характеризуется очень интенсивной полосой 545 нм, легко распознаваемой для Φ Э-545, к которой присоединяется длинноволновое плечо 555 – 575 нм вследствие вклада, даваемого Хл a/c-протеином (рис. 4, a). Спектр действия $\Phi C I$ (рис. 4, *a*) характеризуется всеми полосами, принадлежащими Хл а и Хл с и отмеченными как в спектре поглощения клеток, так и в спектре действия ФС II, но с двумя особенностями, отличающими его от спектра ФС II. Большая относительная интенсивность синей полосы Хл с при 460 нм в сравнении со спектром ФС II означает и бо́льшую долю Хл *а/с*-протеина в составе ФС I [31]. Главной же особенностью спектра действия ФС I служит полное отсутствие спектральных признаков ФЭ-545, что самым наглядным образом свидетельствует о связи ФЭ-545 только с ФС II. Этот вывод убедительно подтверждается разностным спектром этих двух кривых (рис. 4, а, вставка), который своим контуром повторяет спектр поглощения ФЭ-545, представленный на рис. 1.

Соотношение ФС І/ФС II. Соотношение двух фотосистем в хлоропластах является нетривиальной проблемой, в решении которой с



Рис. 4. *а* – Спектры действия фотосинтеза ФС I (*1*) и ФС II (*2*), измеренные для клеток *R. salina*. Спектры нормированы в красном максимуме поглощения Хл *а* при 676–678 нм. На вставке: *3* – разность между спектрами (*2*) и (*1*); *4* – спектр поглощения ФЭ-545; δ – спектр поглощения клеток *R. salina* (*1*) и спектр, моделируемый суммой спектров действия ФС I и ФС II, представленных на рис. 4, *a* и взятых в соотношении 40 и 60% в максимуме хлорофилла (*2*)

разной степенью достоверности используются электрофорез тилакоидных мембран, атразиновая методика выявления активности ФС II и ряд вспомогательных оценок, включая фотоокисление Р700. Мы применили наиболее точный из методов - моделирование спектра поглощения суммой спектров действия, так как сумма двух спектров, взятых в соответствующей пропорции, должна повторять его контур, тем самым устанавливая соотношение двух фотосистем. Как и в случае фикобилисом, у цианобактерий [28] значимая для расчетов суммация спектров ограничена областью 500-700 нм, так как на спектральном участке 400-500 нм некоторые каротиноиды, входящие в состав фотосистем, не способны к 100% передаче энергии к Хл а, что не позволяет получить корректные результаты. В итоге осуществленного суммирования (рис. 4, б) было получено соотношение двух фотосистем, точнее, их реакционных центров, равное 4:1 в пользу ФС II. Данный результат следует из сравнения амплитуд красных полос 676–678 нм в спектрах действия, чья интенсивность пропорциональна содержанию Хл a в коровых комплексах $\Phi C I u \Phi C II$. Соотношение реакционных центров получено с учетом того, что ФС I (96 хлорофиллов [35]) содержит в 2,6 раза большую хлорофилльную антенну, чем ФС II (36 молекул хлорофилла, [36]). Реальными структурами тилакоидной мембраны являются, как уже отмечали, димеры ФС II и мономеры ФС I. Тем самым на каждый мономер $\Phi C I$ в тилакоидах *R. salina* приходится два димера ФС II.

Стехиометрия антенных пигмент-белковых комплексов в составе ФС I и ФС II. Для выяснения особенностей молекулярной организации пигментного аппарата криптофит представлялось существенным установить размеры фикоэритриновой антенны, т.е. число димеров ФЭ-545, приходящихся на каждый реакционный центр ФС II. Моделирование спектра поглощения клеток *R. salina* суммой спектра тилакоидов и спектра ФЭ показал, что оценка вклада ФЭ в спектр и определение его соотношения с Хл а возможны (рис. 1). Расчет, однако, усложняется тем, что часть Хл а в тилакоидах входит в состав Хл а/с-протеина. Поэтому одновременно с ФЭ-545 требуются данные о стехиометрии антенного комплекса Хл а/с-протеина и коровых комплексов $\Phi C II$ и $\Phi C I$. Они могут быть получены с учетом долевого вклада каждого компонента в максимумы поглощения других пигментов и использованием молярных коэффициентов экстинкции в максимумах поглощения (ФЭ-545 при 545 нм; Хл с при 636 нм и Хл а при 676-678 нм). Общая методика расчетов подробно излагается в [28].

На длинноволновом склоне спектра поглощения ФЭ-545 вследствие быстрого падения интенсивности доля пигмента в суммарном поглощении клеток *R. salina* в используемом масштабе сравнения для области \geq 600 нм практически равна нулю (рис. 1). Поэтому, если принять поглощение в максимуме ФЭ₅₄₅ в относительных величинах равным 1, можно записать, что для ФЭ-545: ФЭ₅₄₅ = 1,00; ФЭ₆₃₆ = 0,00 и ФЭ₆₇₆₋₈ = 0,00 (1). Для Хл a относительные доли поглощения, полученные из данных для пигмента в растворе и в составе корового комплекса ФС II, также известны [28]:

Хл $a_{676-8} = 1,00$; Хл $a_{636} = 0,26$ и Хл $a_{545} = 0,1$ (2);

аналогичные доли для Хл с составляют [31]:

Хл $c_{636} = 1,00$; Хл $c_{676-8} = 0,00$ и Хл $c_{545} = 0,14$ (3).

Нас интересует переход от соотношений полос (1) – (3) к молярным соотношениям пигментов и возможность контроля проводимых расчетов. Коэффициент экстинкции ФЭ-545 с учетом мол. массы ($\alpha_1\beta\alpha_2\beta$)-димера, равной 58 кДа, составляет { $\Phi \Theta_{545}$ = 730 мМ⁻¹см⁻¹ [29]. Для Хл а молярный коэффициент экстинкции *in vivo* составляет { Хл a_{676} } = 64 мМ⁻¹ см⁻¹ [30], отличаясь меньшей величиной в сравнении с экстинкцией Хл а в различных растворителях [31]. Для Хл с коэффициент экстинкции в красной полосе отличается от коэффициента Хл а вдвое меньшим значением [31], что дает для пигмента величину { Хл c_{636} } = 32 мМ⁻¹ см⁻¹. Очевидно, вклад ФЭ-545 в поглощение при 636 нм, где находится максимум полосы X_{J} а/*c*протеина, и тем более при 676-678 нм (красный максимум Хл а), согласно (1), может не учитываться; также не учитывается, согласно (3), и вклад Хл с в поглощение Хл а в его красном максимуме, что минимизирует стехиометрические расчеты.

Наиболее простым является определение молярных соотношений комплекса Хл a/c-протеина и коровых комплексов фотосистем. Принимая во внимание, как указывалось, вдвое меньший коэффициент экстинкции Хл c в сравнении с Хл a и соотношения амплитуд (2) и (3), молярная доля { Хл c} по отношению к доле { Хл a} для спектра поглощения D, измеряемого в единицах оптической плотности или сопоставляемого с ним спектра действия определяется формулой:

$$\{ X\pi c \} / \{ X\pi a \} = 2(D_{636} - 0, 26D_{676-8}) / 64 =$$

= 0,16(D₆₃₆ - 0,26D₆₇₆₋₈) (4).

Для тилакоидов исследуемого вида *R. salina* (рис. 1) соотношение { Хл a} /{ Хл с} , согласно (4), составило величину, равную 4,1. После проведения (дополнительно к расчету) клеточной экстракции Хл a и Хл c в 80%-ном ацетоне [8] было получено то же самое соотношение для пигментов в экстракте (данные не представлены). Результат расчета полностью совпадает с

соотношением 4: 1, найденным для близкородственного вида *R. lens* после экстракции и хроматографического разделения пигментов [8]. Полученный контрольный результат служит хорошим подтверждением возможности расчетов соотношения Хл a/Хл с в клетках *R. salina*, *R. lens* и других видов криптофитовых водорослей, содержащих ФЭ-545, не мешающий подобным спектральным оценкам.

Опираясь на полученные данные и регистрацию спектров действия, можно перейти к стехиометрии пигмент-белковых комплексов для обеих фотосистем. Состав Хл а/с-протеина [8] соответствует, по аналогии с составом Хл а/b-протеина [37], суммарному наличию 14 молекул двух пигментов, 6 молекул Хл с и 8 молекул Хл а, связанных с каждой молекулой апопротеина. Амплитуда красного максимума Хл а при 676-678 нм в спектрах действия, как и в спектре поглощения, складывается из вклада двух компонент: поглощения собственного Хл а в коровом комплексе ФС I или ФС II и поглощения молекул Хл а в составе Хл а/с-протеинов, примыкающих [5] в тилакоидной мембране к каждому коровому комплексу. С учетом упомянутого соотношения пигментов в Хл а/с-протеине, равном 6:8, после вычета из амплитуды красного максимума Хл а той доли, которая принадлежит хлорофилльным молекулам Хл а/с-протеина, нами было получено соотношение, равное 25 молекулам Хл с на каждые 72 молекулы Хл а, составляющих димер ФС II. Аналогично, согласно расчетам, выполненным для спектра действия ФС I, на каждые 96 молекул Хл a (состав мономера ФС I) приходится 35-36 молекулы Хл с. Эти соотношения, с округлением до десятых долей, позволили заключить, что каждый димер ФС II, наиболее вероятно, связан с чепигмент-белковыми комплексами тырьмя Хл a/c-протеина, а в контакте с мономерами ΦC I в тилакоидной мембране в среднем находится шесть Хл а/с-антенных комплексов. Эти расчетные результаты полностью согласуются с данными электронной микроскопии [5].

Полученный спектр действия Φ С II (рис. 4, *a*) позволил провести аналогичные расчеты молярного соотношения между хлорофилльными димерами Φ С II и Φ Э-545. Поскольку каждый димер Φ С II (72 молекулы Хл *a*), в среднем, связан с четырьмя Хл *a*/с-протеинами (32 молекулы Хл *a*), измеренная амплитуда полосы Хл *a* при 676 нм в спектре действия Φ С II должна быть уменьшена для расчетов на 40%. Одновременно вследствие вклада контура полос Хл *c* и Хл *a* в полосу 545 нм ее интенсивность, согласно (2) и (3), должна быть уменьшена на ~20%. С учетом этих спектральных поправок и молярных коэф-

фициентов экстинкции каждый димер ФС II в клетках *R. salina* получает энергию в среднем от 9 димеров ФЭ-545. В сравнении с цианобактериями эта величина представляется не слишком большой. Действительно, в составе типичной фикобилисомы, контактирующей с димером ФС II, у цианобактерий находится 250–300 фикобилиновых хромофоров [28]. Наличие до 9 димеров в нашем случае означает связь с димером ФС II лишь $8 \times 9 = 72$ хромофоров, что в 4 раза уступает «фикобилисомному» варианту. Часть этой разницы в размере фикобилипротеиной антенны для криптофит компенсируется другой антенной, Хл *а/с*-протеином [38].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Миграция поглощенной световой энергии от фикобилипротеинов к ФС II у криптофит, как и от фикобилисом у цианобактерий и красных водорослей, никогда не вызывала сомнений. В итоге многолетних исследований было выяснено, что фикобилисомы передают энергию наряду с ФС II и к ФС I [28]. Возможная аналогия с фикобилисомами наводила на мысль о подобной возможности и для криптофитовых водорослей [39]. Стационарные спектры флуоресценции и ее возбуждения указывали на преимущественное [23] или исключительное [24] взаимодействие фикобилипротеинов с ФС II. Импульсная техника и глобальный спектральный анализ при множестве измеряемых временных кинетик и построении теоретически возможных моделей переноса возбуждения указывали на наиболее вероятную возможность миграции к обеим фотосистемам [25]. Крайняя чувствительность криптофитовых водорослей как жгутиковых микроорганизмов к нарушению условий культивирования и подготовки образцов создает высокую вероятность артефактов. В работах [25, 34] на это указывает высокая интенсивность собственной флуоресценции фикобилипротеинов, значительно превышающая излучение Хл а в составе клетки, в то время как в норме ([23, 24] и данная работа, рис. 2) преобладает флуоресценция хлорофилла. Среди кинетических компонент возбуждения появляются компоненты с временами жизни, характерные для фикобилипротеинов в растворе [25, 34], но не в клетке, где энергия от антенны передается к фотосистемам. Эти данные служат индикатором нарушения контактов фикобилипротеинов с тилакоидной мембраной и потери нативности хлоропластов, что ведет в случае [25, 34] к появлению дополнительных спектральных компонент и возможным некорректным выводам. Биохимические возможности препаративного выделения фикобилипротеинов совместно с мембранными пигментными комплексами оказались ограниченными их разной гидрофобностью [19, 20]. В этих условиях было важно найти неинвазивный спектральный подход к вопросу о связи фикобилипротеинов с фотосистемами, что и было осуществлено в нашей работе. Использовали три метода: 1) низкотемпературные спектры флуоресценции клеток; 2) фотоокисление реакционного центра Р700; 3) спектры действия двух фотосистем. Первый из них из-за отсутствия длинноволновой флуоресценции у *R. salina* не дал никакого ответа. Второй из-за перекрывания спектров поглощения ФЭ-545 и Хл а/с-протеина указал лишь на ограничения в миграции к ФС I. Лишь третий из подходов, ранее не применявшийся к исследованию пигментного аппарата у криптофит, – регистрация спектров действия фотосинтетической активности – предоставил однозначный результат, указывающий на отсутствие связи ФЭ-545 с ФС I.

Спектр действия ФС II у водоросли *R. salina* содержит высокоинтенсивный максимум ФЭ-545, подобный полосам фикобилисом в спектрах ФС II у цианобактерий и красных водорослей [28]. В спектре действия ФС I полоса ФЭ-545, однако, не обнаруживается (рис. 4, a), и поэтому сродство фикобилипротеиновой антенны к ФС II является избирательным. Если бы в тилакоидной мембране R. salina существовал контакт между пигмент-белковыми комплексами двух фотосистем, то часть энергии от ФЭ-545 достигала бы ФС I благодаря посредничеству ФС II. Такой контакт, приводящий к «спилловеру» энергии между фотосистемами, не исключен для хлоропластов высших растений [40]. Поскольку у криптофит подобное не наблюдается, взаимодействие ФС I и ФС II происходит на уровне электрон-транспортной цепи, но не на уровне миграции энергии. Подводя итог, можно заключить, что фикобилипротеины у криптофитовых водорослей, находясь, в отличие от фикобилисом, в мелкодисперсном состоянии $(\alpha_1\beta\alpha_2\beta)$ -димеров, контактируют лишь с ФС II.

Коэффициенты диффузии фикобилипротеинов в люмене хлоропластов у криптофит указывают, что их подвижность снижена в сравнении с той, которую можно было бы ожидать при отсутствии ограничений [41]. Габариты димеров, согласно рентгеноструктурным данным, составляют $4 \times 6 \times 7$ нм [41], что почти на два порядка меньше средних размеров фикобилисом у цианобактерий, но с внесением размерной поправки коэффициенты диффузии становятся сравнимыми [41]. По аналогии с фикобилисомами, заякоренными на наружной стороне ти-

лакоидной мембраны цианобактерий, это сравнение может указывать на связь ФЭ-545 с определенными сайтами на люменальной поверхности мембран. Ограничения диффузии димеров хорошо согласуются с полученными в нашей работе данными об избирательной связи ФЭ-545 с ФС II.

Значительная часть люменальной мембранной поверхности комплексов ФС II занята не содержащим хлорофилла водоокисляющим комплексом [36], что ограничивает у криптофит площадь пигментного контакта с димерами фикобилипротеинов. Поэтому такой контакт априорно возможен как напрямую, так и с участием Хл а/с-протеинов, находящихся в латеральном соприкосновении с димерами ФС II и увеличивающих общую поверхность контакта. Однако нефотохимическое тушение, реализуемое у криптофит с помощью Хл а/с-протеина без участия фикобилипротеинов, указывает на пространственную разобщенность двух антенных комплексов в тилакоидах [42]. Полученные данные оставляют проблему открытой для дальнейших исследований. Не менее интересным представляется противоположный по смыслу вопрос о механизмах или структурах, которые препятствуют присоединению, в данном случае ФЭ-545, к поверхности ФС І. Так как Хл а/спротеины находятся и в ее составе, это, скорее, добавляет сходства с ФС II, чем способствует выяснению проблемы. Можно высказать предположение, что препятствием служит положительный поверхностный заряд ФС I, необходимый для взаимодействия с пластохиноном как участником циклического транспорта электрона.

Избирательность фикобилипротеинов по отношению к ФС II указывает на их самосборку с созданием надмолекулярной архитектуры во внутреннем пространстве тилакоида. Самосборка фикобилисом обеспечивается так называемыми линкерными, или связующими, белками, но наличие линкеров для ($\alpha_1\beta\alpha_2\beta$)-димеров не выявлено ни при их выделении, ни при анализе генома. Они могут остаться неопознанными, не имея гомологии с линкерами фикобилисом и оставляя вопрос открытым. По своей форме ($\alpha_1\beta\alpha_2\beta$)-димеры несколько напоминают блюдечко. В перспективе существует возможность виртуальной укладки подобных «блюдечек» в цилиндрические структуры, упоминаемые в электронно-микроскопической литературе [14—16]. Поперечные размеры люмена позволяют разместить в нем архитектурные блоки-цилиндры, сложенные, вероятно, из четырех, максимум, пяти «блюдечек». Тогда с каждым димерным комплексом ФС II должны состыковаться изнутри люмена по два цилиндра, собранных из димеров ФЭ-545, что не противоречит нашим расчетным данным.

Вопросы о передаче энергии от антенных комплексов к комплексам ФС I и ФС II и доля каждой из фотосистем в тилакоидах тесно связаны. У высших растений соотношение двух фотосистем близко к 1 : 1. У цианобактерий содержание ФС I в 2-3 раза превышает содержание ФС II [28]. Поэтому установленное нами для *R. salina* соотношение $\Phi C I/\Phi C II$, равное 4 : 1, говорит об особенностях транспорта электронов в тилакоидах криптофитовых водорослей. Благодаря линейному транспорту между фотосистемами в итоге световой стадии фотосинтеза происходит образование АТФ и НАДФН. Циклический перенос электрона в ФС I достаточен лишь для синтеза АТФ [43]. Поэтому увеличенная доля ФС II у криптофит означает больший биосинтез НАДФН в сравнении с высшими растениями и цианобактериями. Надо отметить, что у всех иных жгутиконосцев-фотосинтетиков этот вопрос совершенно не изучен, хотя подобный тип движения, без сомнения, должен иметь свои закономерности в протекании энергетических процессов. Дальнейшие исследования помогут выяснению, с какими биохимическими особенностями в клетках криптофит связаны эти различия.

Финансирование. Работу Новиковой Т.М. и Минюк Г.С. выполняли в рамках темы Госзадания ФИЦ ИнБЮМ № 0828-2020-0004 (АААА-А18-118021350003-6).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

 Краснова Е. Д., Пантюлин А. Н., Маторин Д. Н., Тодоренко Д. А., Белевич Т. А., Милютина И. А., Воронов Д. А. (2014) Цветение криптофитовой водоросли *Rhodomonas* sp. (Стурторнута, Ругепотоdaceae) в редокс-зоне водоемов, отделяющихся от Белого моря, *Микробиология*, **83**, 346-354, doi: 10.7868/ S0026365614030100.

 Митрофанова Е. Ю. (2015) *Chroomonas acuta* Uterm. (Стурtophyta) в Телецком озере (Алтай, Россия), *Turczaninowia*, **18**, 96-104, doi: 10.14258/turczaninowia.18.2.10.

- Hoef-Emden, K., and Archibald, J. M. (2017) Cryptophyta (Cryptomonads), in *Handbook of the Protists* (Archibald, J. M. et al., eds), Springer International Publishing AG 2017, 851-891, doi: 10.1007/978-3-319-28149-0_35.
- Janssen, J., and Rhiel, E. (2008) Evidence of monomeric photosystem I complexes and phosphorylation of chlorophyll *a/c*-binding polypeptides in *Chroomonas* sp. strain LT (Cryptophyceae), *Intern. Microbiol.*, **11**, 171-178, doi: 10.2436/20.1501.01.57.
- Kereïche, S., Kouřil, R., Oostergetel, G. T., Fusetti, F., Boekema, E. J., Doust, A. B., Van der Weij-de Wit, C. D., and Dekker, J. P. (2008) Association of chlorophyll *a/c₂* complexes to photosystem I and photosystem II in the cryptophyte *Rhodomonas* CS24, *Biochim. Biophys. Acta*, 1777, 122-1128, doi: 10.1016/j.bbabio.2008.04.045.
- Hoffman, G. E., Sanchez-Puerta, M. V. S., and Delwiche, C. F. (2011) Evolution of light-harvesting complex proteins from Chl *c*-containing algae, *BMC Evol. Biol.*, **11**, 101, doi: 10.1186/1471-2148-11-101.
- Neilson, J. A. D., and Durnford, D. G. (2010) Structural and functional diversification of the light-harvesting complexes in photosynthetic eukaryotes, *Photosynth. Res.*, 106, 57-71, doi: 10.1007/s11120-010-9576-2.
- Ingram, K., and Hiller, R. G. (1983) Isolation and characterization of a major chlorophyll *a/c*₂ light-harvesting protein from a *Chroomonas* species (Cryptophyceae), *Biochim. Biophys. Acta*, **722**, 310-319, doi: 10.1016/0005-2728(83)90078-6.
- Schimek, C., Stadnichuk, I. N., Knaust, R., and Wehrmeyer, W. (1994) Detection of chlorophyll c₁ and magnesium-2,4-divinylpheoporphyrin a₅ monomethylester in cryptophytes, *J. Phycol.*, **30**, 621-627, doi: 10.1111/j.0022-3646.1994.00621.x.
- Hill, D. R., and Rowan, K. S. (1989) The biliproteins of the cryptophyceae, *Phycologia*, 28, 455-463, doi: 10.2216/i0031-8884-28-4-455.1.
- Glazer, A. N., Wedemayer, G. J. (1995) Cryptomonad biliproteins: an evolutionary perspective, *Photosynth. Res.*, 46, 93-105, doi: 10.1007/BF00020420.
- Broughton, M. J., Howe, C. J., and Hiller, R. G. (2006) Distinctive organization of genes for light-harvesting proteins in the cryptophyte alga *Rhodomonas*, *Gene*, **369**, 72-79, doi: 10.1016/j.gene.2005.10.026.
- Kieselbach, T., Cheregi, O., Green, B. R., and Funk, C. (2018) Proteomic analysis of the phycobiliprotein antenna of the cryptophyte alga *Guillardia theta* cultured under different light intensities, *Photosynth. Res.*, **135**, 149-163, doi: 10.1007/s11120-017-0400-0.
- Ludwig, M., and Gibbs, S. P. (1989) Localization of phycoerythrin at the lumenal surface of the thylakoid membrane in *Rhodomonas lens*, *J. Cell Biol.*, **108**, 875-884, doi: 10.1083/jcb.108.3.875.
- Spear-Bernstein, L., and Miller, K. R. (1989) Unique location of the phycobiliprotein light-harvesting pigment in the cryptophyceae, *J. Phycol.*, 25, 412-419, doi: 10.1111/j.1529-8817.1989.tb00245.x.
- Mörschel, E., and Wehrmeyer, W. (1979) Elektronenmikroskopische feinstrukturanalyse von nativen biliproteidaggregaten und deren räumliche ordnung, *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, **92**, 393-402, doi: 10.1111/j.1438-8677.1979. tb03286.x.
- Vesk, M., Dwarte, D., Fowler, S., and Hiller, R. G. (1992) Freeze fracture immunocytochemistry of light-harvesting pigment complexes in a cryptophyte, *Protoplasma*, **170**, 66-176, doi: 10.1007/BF01378791.
- Haxo, F. T., and Fork, D. C. (1959) Photosynthetically active accessory pigments of cryptomonads, *Nature*, 184, 1051-1052: doi: 10.1038/1841051a0.
- 19. Lichtlé, C., Duval, J. D., and Lemoine, Y. (1987) Comparative biochemical, functional and ultrasructural

studies of photosystem particles from a Cryptophyceae *Cryptomonas rufescens*: isolation of an active phycoerythrin particle, *Biochim. Biophys. Acta*, **894**, 76-90, doi: 10.1016/0005-2728(87)90214-3.

- Chen, M., Li, S. H., and Sun, L. (2007) A novel phycocyanin–Chl *a/c₂*–protein complex isolated from chloroplasts of *Chroomonas placoidea*, *Chinese Chem. Lett.*, 18, 1374-1378, doi: 10.1016/j.cclet.2007.09.025.
- MacColl, R., and Berns, D. S. (1978) Energy transfer studies on cryptomonad biliproteins, *Photochem. Photobiol.*, 27, 343-349, doi: 10.1111/j.1751-1097.1978.tb07610.x.
- Mimuro, M., Tamai, N., Murakami, A., Watanabe, M., Erata, M., Watanabe, M. M., Tokutomi, M., and Yamazaki, T. (1998) Multiple pathways of excitation energy flow in the photosynthetic pigment system of a cryptophyte, *Cryptomonas* sp. (CR-1), *Phycol. Res.*, 46, 155-164, doi: 10.1111/j.1440-1835.1998.tb00108.x.
- Bruce, D., Biggins, J., Steiner, T., and Thewalt, M. (1986) Excitation energy transfer in the cryptophytes. Fluorescence excitation spectra and picosecond time-resolved emission spectra of intact algae at 77 K, *Photochem. Photobiol.*, 44, 519-525, doi: 10.1111/j.1751-1097.1986.tb04702.x.
- 24. Lichtlé, C., Jupin, C. H., and Duval, I. C. (1980) Energy transfer from PS II to PS I in *Cryptomonas rufescens* (Cryptophyceae), *Biochim. Biophys. Acta*, **591**, 104-112, doi: 10.1016/0005-2728(80)90224-8.
- Van der Weij-de Wit, C. D., Doust, A. B., Van Stokkum, I. H. M., Dekker, J. P., Wilk, K. E., Curmi, P. M. G., Scholes, G. D., and Van Grondelle, R. (2006) How energy funnels from the phycoerythrin antenna complex to photosystem I and photosystem II in cryptophyte *Rhodomonas* CS24 cells, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 25066-25073, doi: 10.1021/jp061546w.
- Schreiber, U., Klughammer, C., and Neubauer, C. (1988) Measuring P700 absorbance changes around 830 nm with a new type of pulse modulation system, *Z. Naturforsch.*, 43, 686-698, doi: 10.1515/znc-1988-9-1010.
- Boichenko, V. A. (1998) Action spectra and functional antenna sizes of photosystems I and II in relation to the thylakoid membrane organization and pigment composition, *Photosynth. Res.*, 58, 163-174, doi: 10.1023/ A:1006187425058.
- 28. Rakhimberdieva, M., Boichenko, V., Karapetyan, N., and Stadnichuk, I. (2001) Interaction of phycobilisomes with photosystem II dimers and photosystem I monomers and trimers in the cyanobacterium *Spirulina platensis*, *Biochemistry*, **40**, 15780-15788, doi: 10.1021/bi010009t.
- MacColl, R., Berns, D. S., and Gibbons, O. (1976) Characterization of cryptomonad phycoerythrin and phycocyanin, *Arch. Biochem. Biophys.*, **177**, 265-275, doi: 10.1016/0003-9861(76)90436-7.
- Rögner, M., Mühlenhoff, U., Boekema, E. J., and Witt, H. (1990) Mono-, di- and trimeric PS I reaction center complexes isolated from the thermophilic cyanobacterium *Synechococcus* sp.: size, shape and activity, *Biochim. Biophys. Acta*, **1015**, 415-424, doi: 10.1016/0005-2728(90)90074-E.
- Jeffrey, S. W., and Humphrey, G. F. (1975) New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton, *Biochem. Physiol. Pflanzen*, **167**, 191-194, doi: 10.1016/S0015-3796(17)30778-3.
- Boichenko, V. A., Pinevich, A. V., and Stadnichuk, I. N. (2007) Association of chlorophyll *a/b*-binding Pcb proteins with photosystems I and II in *Prochlorothrix hollandica*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1767**, 801-806, doi: 10.1016/ j.bbabio.2006.11.001.
- 33. Doust, A. B., van Stokkum, I. H. M., Larsen, D. S., Wilk, K. E., Curmi, P. M. G., van Grondelle, R., and Scholes,

G. D. (2005) Mediation of ultrafast light-harvesting by a central dimer in phycoerythrin 545 studied by transient absorption and global analysis, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 14219-14226, doi: 10.1021/jp051173j.

- Van der Weij-De Wit, C. D., Doust, A. B., Van Stokkum, I. H. M., Dekker, J. P., Wilk, K. E., Curmi, P. M. G., and Van Grondelle, R. (2008) Phycocyanin sensitizes both photosystem I and photosystem II in cryptophyte *Chroomonas* CCMP270 cells, *Biophys. J.*, 94, 2423-2433, doi: 10.1529/biophysj.107.113993.
- Jordan, P., Fromme, P., Witt, H. T., Klukas, O., Saenger, W., and Krauß, N. (2001) Three dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution, *Nature*, 411, 909-917, doi: 10.1038/35082000.
- Ferreira, K. N, Iverson, T. M., Maghlaoui, K., Barber, J., and Iwata, S. (2004) Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center, *Science*, **303**, 1831-1838, doi: 10.1126/science.1093087.
- Kühlbrandt, W., Wang, D. N., and Fujiyoshi, Y. (1994) Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography, *Nature*, **367**, 614-621, doi: 10.1038/367614a0.
- 38. Cunningham, B. R., Greenwold, M. J., Lachenmyer, E. M., Heidenreich, K. M., Davis, A. C., Dudycha, J. L., and

Richardson T. L. (2019) Light capture and pigment diversity in marine and freshwater cryptophytes, *J. Phycol.*, **55**, 552-564, doi: 10.1111/jpy.12816.

- Doust, A. B., Wilk, K. E., Curmi, P. M. G., and Scholes, G. D. (2006) The photophysics of cryptophyte light-harvesting, *J. Photochem. Photobiol. A*, 184, 1-17, doi: 10.1016/j.jphotochem.2006.06.006.
- Yokono, M., and Akimoto, S. (2018) Energy transfer and distribution in photosystem super/megacomplexes of plants, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 54, 50-56, doi: 10.1016/ j.copbio.2018.01.001.
- 41. Mirkovic, T., Wilk, K. E., Curmi, P. M. G., and Scholes, G. D. (2009) Phycobiliprotein diffusion in chloroplasts of cryptophyte *Rhodomonas* CS24, *Photosynth. Res.*, **100**, 7-17, doi: 10.1007/s11120-009-9412-8.
- 42. Kuthanová Trsková, E., Bína, D., Santabarbara, S., Sobotka, R., Kana, R., and Belgio, E. (2019) Isolation and characterization of CAC antenna proteins and photosystem I supercomplex from the cryptophytic alga *Rhodomonas salina*, *Physiol. Plant.*, **166**, 309-319, doi: 10.1111/ppl.12928.
- Dann, M., and Leister, D. (2019) Evidence that cyanobacterial SIII217 functions analogously to PGRL1 in enhancing PGR5-dependent cyclic electron flow, *Nat. Commun.*, 10, 5299, doi: 10.1038/s41467-019-13223-0.

PHYCOERYTHRIN CONNECTION WITH PHOTOSYSTEM II IN THE CRYPTOPHYTE ALGA *Rhodomonas salina**

I. N. Stadnichuk^{1**}, T. M. Novikova², G. S. Miniuk², V. A. Boichenko³, Yu. V. Bolychevtseva⁴, E. S. Gusev¹, and E. P. Lukashev⁵

¹ Timiryasev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, 127726 Moscow, Russia; E-mail: stadnichuk@mail.ru

² Kovalevski Institute of Biology of the Southern Seas of the Russian Academy of Sciences, 299011 Sevastopol, Russia

³ Institute of Fundamental Problems of Biology of the Russian Academy of Sciences, 142290 Puschino, Moscow Region, Russia

⁴ Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow, Russia

⁵ Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, 119991 Moscow, Russia

Received April 9, 2020 Revised May 2, 2020 Accepted May 3, 2020

Cryptophyte algae belong to a special group of oxygenic photosynthetic organisms containing pigment combination unique for plastids – phycobiliproteins and chlorophyll a/c-containing antenna. Despite the progress in investigation of morphological and ecological features, as well as genome-based systematics of cryptophytes, their photosynthetic apparatus remains poorly understood. The ratio of the photosystems (PS)s I and II is unknown and information on participation of the two antennal complexes in functions of the two photosystems is inconsistent. In the present work we demonstrated for the first time that the cryptophyte alga *Rhodomonas salina* had the PSI to PSII ratio in thylakoid membranes equal to 1 : 4, whereas this ratio in cyanobacteria and higher plants was known to be 3 : 1 and 1 : 1, respectively. Furthermore, it was established that contrary to the case of cyanobacteria the phycobiliprotein antenna represented by phycoerythrin-545 (PE-545) in *R. salina* was associated only with the PSII, which indicated specific spatial organization of these protein pigments within the thylakoids that did not facilitate interaction with the PSI.

Keywords: cryptophytes, phycobiliproteins, phycoerythrin, chlorophyll a, chlorophyll c, photosystem I, photosystem II