

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА И СИНТЕЗА АТФ В ХЛОРОПЛАСТАХ

### Обзор

© 2021 А.В. Вершубский, А.Н. Тихонов\*

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет,  
119991 Москва, Россия; электронная почта: an\_tikhonov@mail.ru

Поступила в редакцию 28.10.2020

После доработки 29.11.2020

Принята к публикации 05.12.2020

Обзор посвящен анализу механизмов температурной регуляции электронного транспорта и синтеза АТФ в хлоропластах высших растений. Функциональное значение терморегуляции фотосинтеза определяется тем, что растения являются экотермными организмами, у которых собственная температура зависит от температуры окружающей среды. В обзоре рассмотрено влияние температуры на следующие процессы, протекающие в тилакоидных мембранах: 1) активность фотосистемы 2 и восстановление пластохинона; 2) перенос электронов от пластохинола (через цитохромный  $b_6/f$ -комплекс и пластоцианин) к фотосистеме 1; 3) трансмембранный перенос протонов; 4) синтез АТФ. Приведены данные о взаимосвязи между функциональными свойствами (фотосинтетический перенос электронов и протонов, функционирование АТФ-синтазы) и структурными характеристиками хлоропластов (микровязкость липидного бислоя тилакоидной мембраны), полученными методом электронного парамагнитного резонанса.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** фотосинтез, хлоропласты, электронный транспорт, тилакоидные мембраны, регуляция.

DOI: 10.31857/S0320972521010097

### ВВЕДЕНИЕ

У растений фотосинтез происходит в хлоропластах – энергопреобразующих органеллах растительной клетки, которые, используя энергию света, поглощаемого светособирающими антеннами фотосистемы 1 (ФС1) и фотосистемы 2 (ФС2), усваивают углекислый газ ( $\text{CO}_2$ ) и выделяют молекулярный кислород ( $\text{O}_2$ ). Энергия поглощенных квантов света мигрирует к фотореакционным центрам ФС1 и ФС2, в которых происходит разделение зарядов и инициируется перенос электронов по цепи электронного транспорта (ЦЭТ) [1, 2]. От молекул воды, разлагаемых водоокисляющим комплексом (ВОК) ФС2 ( $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+$ ), электроны пере-

носятся к  $\text{NADP}^+$ , терминальному акцептору электронов ФС1, восстанавливаемому до NADPH ( $\text{NADP}^+ + 2\text{e}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{NADPH}$ ). Перенос электронов по ЦЭТ сопряжен с созданием *транс*-тилакоидной разности электрохимических потенциалов протонов  $\Delta\mu_{\text{H}^+}$  (называемой «протон-движущей силой»), являющейся источником энергии для работы АТФ-синтазы [3, 4]. В хлоропластах основной вклад в генерацию  $\Delta\mu_{\text{H}^+}$  вносит *транс*-тилакоидная разность рН,  $\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{out}} - \text{pH}_{\text{in}}$ , где  $\text{pH}_{\text{out}}$  и  $\text{pH}_{\text{in}}$  – значения рН стромы и внутритилакоидного пространства. NADPH и АТФ – макроэргические продукты светоиндуцированных стадий фотосинтеза – используются в реакциях цикла Кальвина–Бенсона (ЦКБ) для фиксации  $\text{CO}_2$  [5].

Электрон-транспортные комплексы (ФС1, ФС2) и АТФ-синтазы ( $\text{CF}_0\text{--CF}_1$ ) неравномерно распределены между гранальными и стромальными тилакоидами [6, 7]. Тилакоиды гран обогащены комплексами ФС2; большинство ФС1 и  $\text{CF}_0\text{--CF}_1$  комплексов сосредоточено в межгранных тилакоидах, на краях и торцах гран, экспонированных в строму. Цитохромные  $b_6/f$ -комплексы распределены равномерно вдоль тилако-

Принятые сокращения: ФС1 и ФС2 – фотосистемы 1 и 2;  $\text{P}_{700}$  и  $\text{P}_{680}$  – первичные доноры электрона в ФС1 и ФС2; ЦЭТ – цепь электронного транспорта; ЭПР – электронный парамагнитный резонанс; Chl – хлорофил; DGDG – дигалактозилдиацилглицерин; Fd – ферредоксин; ISP – железо-серный белок; MGDG – моногалактозилдиацилглицерин; Pс – пластоцианин; Phe – феофитин; PQ – пластохинон;  $\text{PQH}_2$  – пластохинол.

\* Адресат для корреспонденции.

идных мембран [8]. В работе цепи переноса электронов между ФС2 и ФС1 участвуют мобильные переносчики – пластохинон (PQ) и пластоцианин (Pc), которые обеспечивают связь между удаленными электрон-транспортными комплексами. Молекулы пластохинола (PQH<sub>2</sub>), образующиеся в ФС2, переносят электроны к *b<sub>6</sub>f*-комплексам, которые, в свою очередь, восстанавливают молекулы пластоцианина. Восстановленные молекулы пластоцианина (Pc<sup>-</sup>) диффундируют во внутреннем пространстве тилакоидов, называемом люменом, обеспечивая перенос электронов от *b<sub>6</sub>f*-комплекса к окисленным центрам ФС1 (P<sub>700</sub><sup>+</sup>).

Перенос электронов по ЦЭТ между ФС2 и ФС1 и реакции синтеза АТФ чувствительны к структурным изменениям в тилакоидных мембранах хлоропластов, вызванных изменениями температуры. Важное функциональное значение терморегуляции фотосинтетических процессов в хлоропластах определяется тем, что растения являются пойкилотермными (эктотермными) организмами, у которых их собственная температура зависит от температуры окружающей среды. Термоиндуцированные структурные перестройки тилакоидных мембран влияют на активность фотосинтетических белковых комплексов, подвижность мобильных переносчиков электрона и генерацию Δψ<sub>H</sub><sup>+</sup>. Для выяснения взаимосвязи между структурными изменениями тилакоидных мембран и функциональными свойствами хлоропластов представляется интересным сравнить влияние температуры на физическое состояние («текучесть») тилакоидных мембран и на процессы электронного транспорта и синтеза АТФ в хлоропластах. В обзоре приведены данные о роли тилакоидных мембран в терморегуляции фотосинтеза и о взаимосвязи между функциональными свойствами хлоропластов (фотосинтетический перенос электронов и протонов и работа АТФ-синтазы) и структурным состоянием мембранных липидов.

### СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХЛОРОПЛАСТОВ

**Липидный бислой тилакоидной мембраны.** В хлоропластах пигмент-белковые комплексы ФС1 и ФС2 встроены в тилакоидные мембраны, образующие систему замкнутых везикул – тилакоидов. Тилакоиды окружены двуслойной оболочкой, отделяющей хлоропласт от цитоплазмы растительной клетки. Стопки уплощенных тилакоидов образуют грани, которые связаны друг

с другом посредством межгранных тилакоидов, выступающих из тилакоидов гран. Тилакоидные мембраны плотно насыщены белковыми комплексами, которые составляют ~70% от общей массы мембран. Физико-химические свойства мембранного бислоя определяются составом липидов [9, 10]. В мембранах хлоропластов присутствует β-токоферол, который повышает структуриванность мембран и их устойчивость к свободнорадикальным процессам. Липиды тилакоидов представлены галактолипидами (нейтральными липидами), фосфолипидами и сульфолипидами. В тилакоидах имеются липиды четырех основных типов: моногалактозилдиацилглицерин (MGDG), дигалактозилдиацилглицерин (DGDG), сульфохиновозилдиацилглицерин (SQDG) и фосфатидилглицерин (PG). Глицеролипиды содержат два жирнокислотных остатка, связанных с глицерином. MGDG и DGDG – основные «строительные блоки» тилакоидной мембраны, которые формируют матрицу, в которую встроены белковые комплексы. Липидный бислой служит не только «изолятором», отделяющим внутреннее пространство тилакоидов (люмен) от стромы, но также является средой, в которой диффундируют молекулы пластохинона. Липиды (прежде всего, MGDG и SQDG) участвуют в поддержании димерной структуры пигмент-белковых комплексов ФС1 и ФС2. Они также обнаружены в полости цитохромного *b<sub>6</sub>f*-комплекса, внутри которой находится хинон-связывающий центр [11].

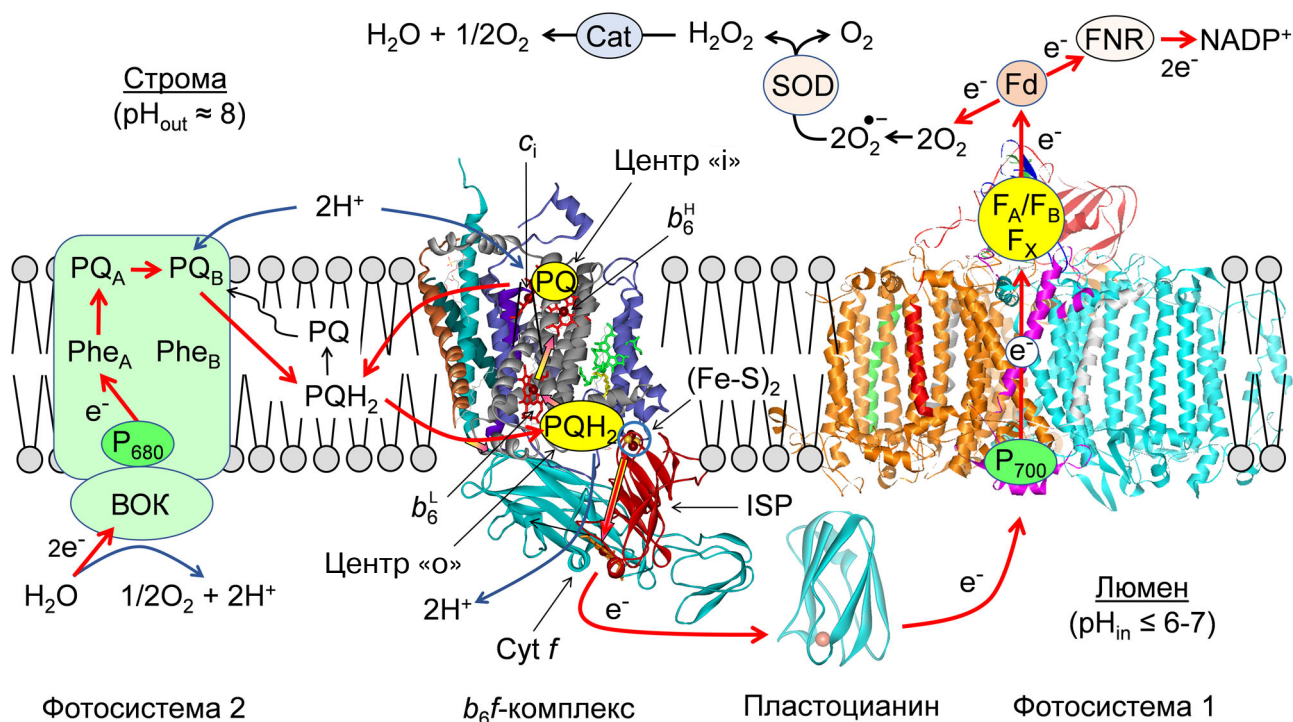
**Цепь электронного транспорта в хлоропластах.** На рис. 1 показана схема, иллюстрирующая расположение электрон-транспортных комплексов в тилакоидной мембране и их взаимодействие, обеспечивающее перенос электронов от H<sub>2</sub>O к NADP<sup>+</sup> (нециклический электронный транспорт) или к O<sub>2</sub> (псевдоциклический электронный транспорт). Транспорт электронов между ФС2 и ФС1 включает следующие стадии: 1) перенос электронов из ФС2 к *b<sub>6</sub>f*-комплексу за счет диффузии в мембране молекул пластохинола и 2) перенос электронов от *b<sub>6</sub>f*-комплекса к ФС1 за счет пластоцианина, диффундирующего внутри люмена. Скорость переноса электронов между фотосистемами определяется временем оборота пластохинона, взаимодействующего с ФС2 и *b<sub>6</sub>f*-комплексом [11–15]. Пластохинон-зависимые процессы включают в себя: 1) фотоиндуцированное восстановление PQ до PQH<sub>2</sub> в ФС2, 2) диффузию PQH<sub>2</sub> в мембране и его проникновение внутрь *b<sub>6</sub>f*-комплекса, 3) окисление PQH<sub>2</sub> в «o»-центре и восстановление PQ в «i»-центре *b<sub>6</sub>f*-комплекса. В широком диапазоне условий (рН, температура) образование PQH<sub>2</sub> и его диффузия в мембране происходят быстрее,

чем окисление  $PQH_2$  внутри  $b_6f$ -комплекса [16, 17].

**Фотосистема 1** обеспечивает перенос электронов от восстановленного пластоцианина ( $Pc^-$ ) к расположенным в строме молекулам ферредоксина ( $Fd$ ) [1, 2, 13, 18, 19]. Индуцированное светом возбуждение  $P_{700}$  (первичный донор электрона) инициирует разделение зарядов: возбужденный центр  $P_{700}^+$  быстро отдает электрон первичному акцептору электрона. Акцепторы электрона расположены в виде двух квазисимметричных ветвей: две молекулы хлорофилла ( $Chl_{2A}$  и  $Chl_{3A}$ ) и одна молекула филлохинона ( $A_{1A}$ ) принадлежат к ветви А; две другие молекулы  $Chl$  ( $Chl_{2B}$  и  $Chl_{3B}$ ) и вторая молекула филлохинона ( $A_{1B}$ ) принадлежат к ветви В. Ветви А и В сходятся вблизи акцептора  $F_X$  (кластер  $[FeS]_4$ ). Индуцированный светом перенос электрона в  $\Phi C1$  не требует пространственного перемещения переносчиков и может происходить даже при низких (криогенных) температурах по механизму квантово-механического туннелирования [20, 21]. Восстановленный акцептор  $F_X$  передает электрон через два редокс-цент-

ра  $F_A$  и  $F_B$  к молекуле ферредоксина, находящейся в строме ( $F_X \rightarrow F_A \rightarrow F_B \rightarrow Fd$ ). Восстановленные молекулы ферредоксина ( $Fd^-$ ) передают электроны ферредоксин-NADP-редуктазе (FNR), обеспечивая восстановление  $NADP^+$  до  $NADPH$ .

Окисленный центр  $P_{700}^+$  принимает электрон от  $Pc^-$ , восстановленного  $b_6f$ -комплексом. Диффундируя во внутритилакоидном пространстве,  $Pc^-$  обеспечивает перенос электронов между удаленными комплексами  $b_6f$  и  $\Phi C1$ . При определенных условиях (например, в хлоропластах, адаптированных к темноте) стерические ограничения могут препятствовать перемещению молекул  $Pc^-$  внутри узкого ( $\sim 4-5$  нм) пространства люмена [22]. Толщина люмена увеличивается при освещении хлоропластов, благодаря чему латеральная диффузия  $Pc^-$  перестает лимитировать перенос электронов от  $b_6f$ -комплексов к  $\Phi C1$  [22]. Латеральная диффузия  $Pc^-$  и его окисление за счет  $\Phi C1$  происходят быстрее ( $\tau_{1/2} < 200$  мкс при комнатной температуре [13]), чем перенос электронов от  $\Phi C2$  к пластохинону и его взаимодействие с  $b_6f$ -комплексом ( $\tau_{1/2} \geq 4-20$  мс) [23, 24].



**Рис. 1.** Схема расположения  $\Phi C1$ ,  $\Phi C2$  и  $b_6f$ -комплекса в тилакоидной мембране. Красными и синими стрелками показаны пути переноса электронов и протонов.  $F_X$ ,  $F_A$  и  $F_B$  – железо-серные центры в  $\Phi C1$ ;  $Phe_A$  и  $Phe_B$  – молекулы феофитина;  $PQ$  и  $PQH_2$  – окисленная и полностью восстановленная формы пластохинона;  $PQ_A$  и  $PQ_B$  – молекулы первичного и вторичного пластохинона, связанного с  $\Phi C2$  (см. также список сокращений и пояснения в тексте). Центр связывания  $PQH_2$  «o» расположен между гемом  $b_6^L$  и  $(Fe-S)_2$ -кластером белка Риска. Центр связывания  $PQ$  «i» расположен между гемом  $b_6^H$  и гемом  $c$ . Изображения молекулярных структур  $b_6f$ -комплекса (PDB код 1Q90, [70]) и  $\Phi C1$  (PDB код 1JB0, [88]) построены с помощью пакета программ Accelrys DV (<http://www.accelrys.com>). (С цветными вариантами рис. 1, 2, 4 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: <http://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/>.)

**Фотосистема 2** работает как вода/пластохинон-оксидоредуктаза: два электрона переносятся от  $\text{H}_2\text{O}$  к PQ, восстанавливаемому до  $\text{PQH}_2$ , при этом два иона водорода поглощаются из стромы и два иона водорода выделяются в люмен в результате разложения воды ( $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_2 + 2\text{H}_{\text{in}}^+ + 2\text{e}^-$ ) [25–27]. Специальная пара молекул Chl *a*, встроенная в ядро белкового комплекса ФС2, образует первичный донор электрона,  $\text{P}_{680}$ . На акцепторной стороне ФС2 имеются две ветви кофакторов электронного переноса, ветви А и В. Возбужденный центр  $\text{P}_{680}^*$  передает электрон первичному акцептору электрона А-ветви (Chl<sub>D1</sub>), который восстанавливает вторичный акцептор электрона – феофитин (Phe):  $\text{P}_{680}^* \rightarrow \text{Chl}_{\text{D1}} \rightarrow \text{Phe}_A$ . Восстановленный  $\text{Phe}_A$  передает электрон первичному пластохинону  $\text{PQ}_A$ , прочно связанному с ФС2;  $\text{PQ}_A^-$  восстанавливает вторичный пластохинон  $\text{PQ}_B$  ( $\text{PQ}_A^- \text{PQ}_B \rightarrow \text{PQ}_A \text{PQ}_B^-$ ). Следующий электрон, донируемый возбужденным центром  $\text{P}_{680}^*$ , переходит к  $\text{PQ}_B^-$ , обеспечивая полное восстановление  $\text{PQ}_B$  до  $\text{PQ}_B^{2-}$ . После протонирования  $\text{PQ}_B^{2-}$  за счет ионов водорода, поступающих из стромы ( $\text{PQ}_B^{2-} + 2\text{H}_{\text{out}}^+ \rightarrow \text{PQ}_B\text{H}_2$ ), молекула пластохинола диссоциирует в липидную фазу тилакоидной мембраны, а ее место занимает окисленная молекула PQ ( $\text{PQ}_B\text{H}_2 + \text{PQ} \rightarrow \text{PQ}_B + \text{PQH}_2$ ).

**Цитохромный  $b_6f$ -комплекс** (пластохинол-пластоцианин-оксидоредуктаза) – связующее звено, обеспечивающее перенос электронов между ФС2 и ФС1 [11, 17]. Диффундируя в мембране, молекула  $\text{PQH}_2$  достигает  $b_6f$ -комплекс и связывается с каталитическим участком  $\text{Q}_o$ , расположенным внутри этого комплекса. Цитохромный  $b_6f$ -комплекс организован как функциональный димер. Каталитические функции каждого из мономеров осуществляются за счет четырех окислительно-восстановительных центров: железо-серного кластера  $(\text{Fe-S})_2$  белка Риске (ISP), двух гемов цитохрома  $b_6$  (низко- и высокопотенциальные гемы  $b_6^L$  и  $b_6^H$ ), а также цитохрома *f*. Молекула  $\text{PQH}_2$  проникает в хинол-связывающий портал каталитического сайта  $\text{Q}_o$ , расположенный между субъединицами цитохрома  $b_6$  и железо-серного белка. Центр  $\text{Q}_o$  ориентирован в направлении люменальной стороны тилакоидной мембраны. Молекула  $\text{PQH}_2$  отдает два электрона  $b_6f$ -комплексу, при этом два протона диссоциируют во внутритилакоидное пространство.

Согласно механизму Q-цикла Митчелла [28–30], окисление  $\text{PQH}_2$  представляет собой «бифуркационную» реакцию. В хинон-связывающем центре «о», расположенном ближе к люменальной стороне мембраны, один электрон от молекулы  $\text{PQH}_2$  переносится на  $(\text{Fe-S})_2$ -кластер белка Риске. Затем этот электрон поступает к

пластоцианину (через цитохром *f*):  $\text{PQH}_2 \rightarrow \text{ISP} \rightarrow \text{Cyt } f \rightarrow \text{Pc}$ . Другой электрон поступает от  $\text{PQH}_2$  к низкопотенциальному гему  $b_6^L$ , а затем переносится на высокопотенциальный гем  $b_6^H$ , который, в свою очередь, восстанавливает молекулу PQ в хинон-связывающем центре «i», расположенном на стромальной стороне  $b_6f$ -комплекса ( $b_6^L \rightarrow b_6^H \rightarrow \text{PQ}$ ) [29, 30]. Двукратное восстановление молекулы PQ до  $\text{PQH}_2$  в  $\text{Q}_i$ -центре сопровождается присоединением двух протонов из стромы ( $\text{PQ} + 2\text{e}^- + 2\text{H}_{\text{out}}^+ \rightarrow \text{PQH}_2$ ). Образовавшаяся молекула  $\text{PQH}_2$  уходит из  $\text{Q}_i$ -центра и перемещается к вакантному  $\text{Q}_o$ -центру, где происходит ее окисление, сопровождающееся выделением двух протонов в люмен. Таким образом,  $b_6f$ -комплекс функционирует как протонный насос, осуществляющий перенос протонов из стромы в люмен. Благодаря этому в люмен закачивается два протона в расчете на один электрон, перенесенный к ФС1,  $\text{H}^+/\text{e}^- = 2$  [28–31]. Имеются веские основания считать, что скорость окисления  $\text{PQH}_2$  определяется первой стадией окисления  $\text{PQH}_2$  [32–35]. В частности, квантово-химические расчеты показывают [36], что энергетический барьер этой реакции  $E_a \approx 60$  кДж/моль близок к эффективной энергии активации для переноса электрона от  $\text{PQH}_2$  на  $\text{P}_{700}^+$ . Депротонирование восстановленного железо-серного белка ( $\text{ISP}_{\text{red}}\text{H}^+ \rightarrow \text{ISP}_{\text{red}} + \text{H}_{\text{in}}^+$ ) и перенос электрона от  $\text{ISP}_{\text{red}}$  к цитохрому *f* обеспечивают условия для циклического функционирования  $b_6f$ -комплекса.

Липиды тилакоидной мембраны играют важную роль в функционировании  $b_6f$ -комплекса. В тилакоидах большинство липидов представлено галактолипидами, которые содержат полиненасыщенные жирные кислоты [9, 10, 37, 38]. Изменения в содержании ненасыщенных жирных кислот являются одним из ключевых факторов, контролирующих фотосинтетическую активность хлоропластов [39–41]. Внутри  $b_6f$ -комплекса имеется полость ( $30 \text{ \AA} \times 15 \text{ \AA} \times 25 \text{ \AA}$ ), в которую проникает молекула пластохинола [11]. Внутри этой полости имеются 23 липид-связывающих участка в расчете на один мономер димерного  $b_6f$ -комплекса из *Noctos* PCC 7120 [42]. Предполагается, что эти липиды могут определять повышенную конформационную гибкость мобильного домена ISP, несущего  $(\text{Fe-S})_2$ -кластер. Как было предположено ранее [17, 30], влияние липидов на скорость окисления пластохинола может быть опосредовано тем, что скорость диссоциации протонов и их выход в люмен контролируется состоянием липидного слоя, примыкающего к  $b_6f$ -комплексу. «Затвердевание» или «разжижение» липидного бислоя, зависящее от со-

става липидов и температуры, может влиять на скорость диссоциации протонов в люмен, благодаря чему будет изменяться скорость окисления  $\text{PQH}_2$ . Уменьшение барьера, препятствующего диссоциации протонов, должно способствовать окислению  $\text{PQH}_2$  и тем самым ускорять перенос электронов к  $\text{ФС1}$ .

**Диффузионно-контролируемые стадии переноса электронов.** Диффузия пластохинола в мембране и перемещение пластоцианина во внутри-тилакоидном пространстве – ключевые стадии переноса электронов между удаленными белковыми комплексами:  $\text{ФС2} \rightarrow \text{PQH}_2 \rightarrow b_6f \rightarrow \text{Рс} \rightarrow \text{ФС1}$ . Окисление  $\text{PQH}_2$  цитохромным  $b_6f$ -комплексом – самая медленная стадия в цепи переноса электронов от  $\text{ФС2}$  к  $\text{ФС1}$  [12, 13]. В широком диапазоне экспериментальных условий (рН, ионная сила, температура) процессы восстановления  $\text{PQ}$  до  $\text{PQH}_2$  в  $\text{ФС2}$  и диффузия  $\text{PQH}_2$  к  $b_6f$ -комплексу происходят быстрее, чем окисление  $\text{PQH}_2$ , протекающее после проникновения  $\text{PQH}_2$  внутрь цитохромного комплекса и его связывания с хинон-связывающим центром «о» [16, 17, 23, 24]. Несмотря на то, что перенос электронов к  $b_6f$ -комплексу может затрудняться из-за стерических ограничений в мембране, препятствующих диффузии  $\text{PQH}_2$  [14], имеются веские основания считать, что латеральная диффузия  $\text{PQH}_2$  не лимитирует общую скорость переноса электронов между фотосистемами. Несмотря на то, что комплексы  $\text{ФС2}$  и  $\text{ФС1}$  могут быть удалены друг от друга, большинство из них находится вблизи от  $b_6f$ -комплексов, равномерно распределенных вдоль тилакоидной мембраны [8]. Близкое расположение  $\text{ФС2}$  и  $b_6f$ -комплексов, локализованных в тилакоидных мембранах гран, минимизирует среднее расстояние, пройденное молекулами пластохинона, обеспечивая быстрый обмен  $\text{PQH}_2$  и  $\text{PQ}$  между  $\text{ФС2}$  и  $b_6f$ -комплексом [14].

Диффузия  $\text{Рс}^-$  внутри люмена, как известно, в большинстве случаев также не лимитирует общую скорость переноса электронов между фотосистемами: перенос электронов от  $b_6f$ -комплексов к  $\text{Рс}^-$  и диффузия  $\text{Рс}^-$  к  $\text{ФС1}$  происходят заметно быстрее по сравнению с окислением  $\text{PQH}_2$  цитохромным  $b_6f$ -комплексом [12, 13, 43, 44]. Как было показано в работе Kirchoff et al. [22], при определенных условиях (например, в хлоропластах, адаптированных к темноте) стерические ограничения, затрудняющие диффузию  $\text{Рс}$  в узком просвете люмена, могут замедлять перенос электронов между удаленными  $b_6f$ -комплексом и  $\text{ФС1}$ . Плотные расположенные комплексы  $\text{ФС2}$  с водорасщепляющими доменами, выступающими в просвет люмена, ограничивают пространство для миграции молекул  $\text{Рс}$ ,

размеры которых составляют  $\sim 4 \times 3 \times 3$  нм. Для эффективной диффузии  $\text{Рс}$  зазор между противоположными краями выступающих из мембран водорасщепляющих комплексов должен быть не менее 3 нм. После набухания тилакоидов, происходящего при освещении хлоропластов, просвет люмена может увеличиваться вдвое, при этом наблюдается заметное ускорение окисления цитохрома  $f$ , обусловленное ускорением диффузии  $\text{Рс}$  внутри люмена [22].

**рН-Зависимая регуляция электронного транспорта.** Скорость окисления  $\text{PQH}_2$  цитохромным комплексом контролируется значением рН люмена ( $\text{pH}_{\text{in}}$ ). Светоиндуцируемое закисление люмена, как известно [16, 45, 46], замедляет поток электронов между  $\text{ФС2}$  и  $\text{ФС1}$ . Хорошо изучены два механизма рН-зависимой регуляции электронного транспорта в хлоропластах: 1) замедление окисления  $\text{PQH}_2$   $b_6f$ -комплексом, вызванное понижением  $\text{pH}_{\text{in}}$  [16, 45–47], и 2) ослабление активности  $\text{ФС2}$  за счет усиления теплового рассеяния энергии в светособирающей антенне  $\text{ФС2}$ , известного как нефотохимическое тушение возбуждения хлорофилла [48–50]. С механизмом рН-зависимой регуляции электронного транспорта связано явление «метаболического» контроля, заключающееся в том, что поток электронов между фотосистемами зависит от «фосфатного потенциала»,  $P = [\text{ATP}] / ([\text{ADP}] \times [\text{P}_i])$ , где  $[\text{ATP}]$ ,  $[\text{ADP}]$  и  $[\text{P}_i]$  – концентрации  $\text{ATP}$ ,  $\text{ADP}$  и  $\text{P}_i$ . В зависимости от фосфатного потенциала  $\text{ATP}$ -синтаза функционирует в режиме синтеза  $\text{ATP}$  либо в режиме  $\text{ATP}$ азы (гидролиз  $\text{ATP}$ ). В состоянии «фотосинтетического контроля» («состояние 4» по Chance и Williams [51]), когда исчерпаны пулы молекул  $\text{ADP}$  и/или  $\text{P}_i$ , скорость синтеза  $\text{ATP}$  и поток протонов через  $\text{CF}_0$ – $\text{CF}_1$  ослабевают, а потому происходит достаточно сильное закисление люмена ( $\text{pH}_{\text{in}} < 6$ ), вызывающее замедление электронного транспорта между  $\text{ФС2}$  и  $\text{ФС1}$  [16, 47]. В «состоянии 3» (интенсивный синтез  $\text{ATP}$ ) скорость переноса электронов транспорта высока. В этом случае функционирование  $\text{ATP}$ -синтазы сопровождается выходом протонов из люмена в строму, а потому не происходит столь сильного закисления люмена ( $\text{pH}_{\text{in}} \geq 6$ ), которое могло бы вызывать торможение электронного транспорта между фотосистемами [16, 47].

### ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ХЛОРОПЛАСТАХ

Фотосинтетический аппарат растений чувствителен к изменениям окружающей среды.



Важную роль в адаптации фотосинтетического аппарата растений к изменениям условий окружающей среды играют явления, связанные с «краткосрочными» и «долгосрочными» изменениями свойств хлоропластов в ответ на изменения температуры [50, 52, 53]. Структурные перестройки липидных областей тилакоидных мембран — один из ключевых факторов, определяющих адаптацию фотосинтетического аппарата при изменениях температуры. Особую роль в терморегуляции энергетических процессов в хлоропластах играют изменения свойств тилакоидных мембран (соотношение насыщенных и ненасыщенных липидов), которые определяют микровязкость липидных доменов тилакоидных мембран [54, 55]. MGDG и DGDG — основные липиды тилакоидных мембран — содержат большое количество полиненасыщенных жирных кислот, что определяет пониженную микровязкость (высокую «текучесть») липидного бислоя. Адаптация фотосинтетического аппарата к низким (или высоким) температурам может происходить за счет увеличения (или уменьшения) степени десатурации жирных кислот в галактолипидах [39–41, 54, 55]. Изменения состава липидов проявляются в температурных зависимостях физических характеристик липидных мембран [56].

Соотношение между липидами разного состава — один из ключевых факторов, определяющих микровязкость мембранных липидов и их подвижность [57]. Мембраны с более высокой долей липидов, содержащих ненасыщенные жирные кислоты, имеют более низкую температуру «плавления» по сравнению с мембранами, содержащими насыщенные жирные кислоты. Соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот изменяется в зависимости от условий культивирования растений [58]. Микровязкость мембранных липидов является своеобразным «датчиком», который запускает ретроградные сигналы, контролируемые, например, экспрессию десатураз, тем самым адаптируя мембрану к температуре окружающей среды и оптимизируя преобразование энергии в фотосинтезирующих организмах [39–41].

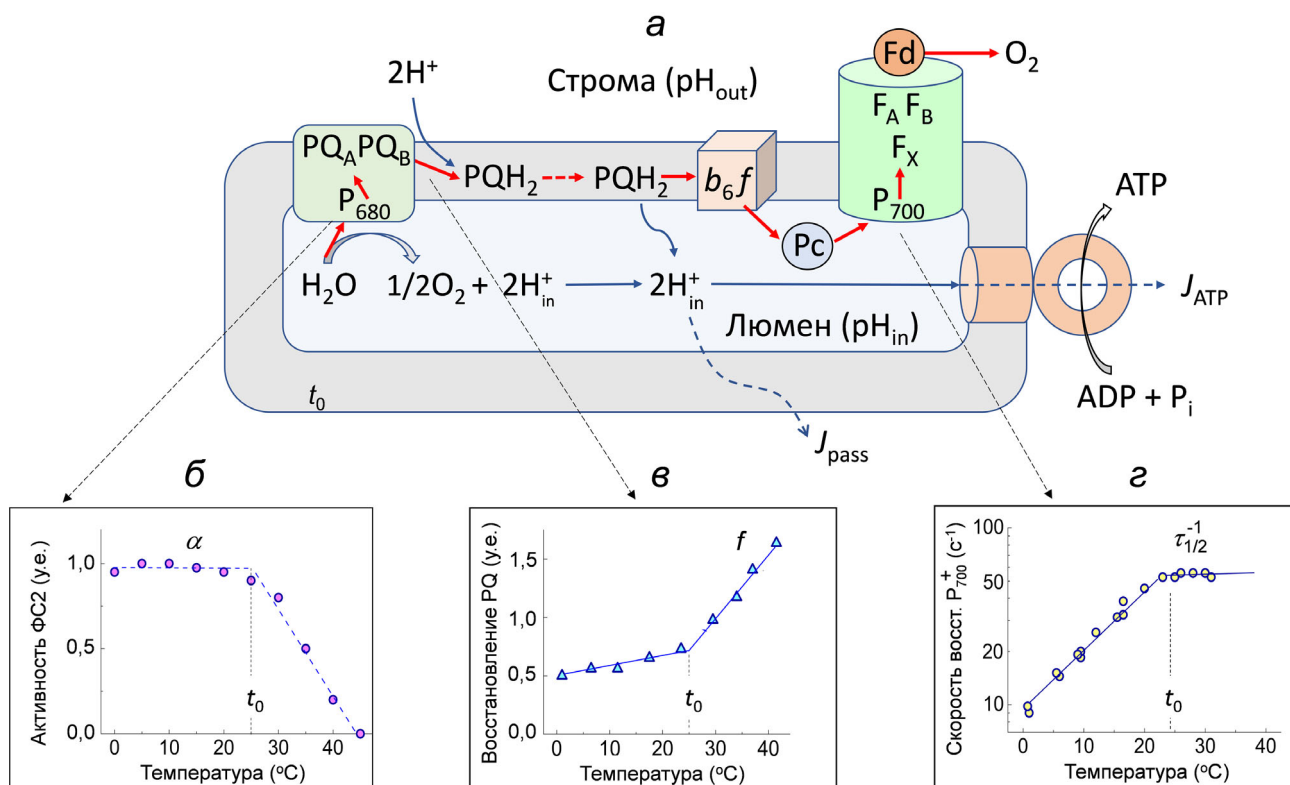
При анализе температурных зависимостей различных фотосинтетических процессов часто сравнивают данные кинетических и структурных исследований в координатах Аррениуса (зависимость логарифма измеряемой величины от обратной температуры,  $T^{-1}$ ), на основании которых определяют эффективные значения энергии активации. Примечательно, что большинство графиков Аррениуса, характеризующих различные реакции фотосинтеза, имеют характерные изломы или разрывы, которые интерпретируются как показатели структурных пере-

строек в мембранах [59–61]. Неоднозначные оценки энергий активации процессов электронного транспорта, встречающиеся в литературе, могут быть обусловлены неоднородностью биологического материала (например, разные виды растений или неодинаковые условия их культивирования).

**Влияние температуры на электронный транспорт между фотосистемами и структурное состояние тилакоидной мембраны.** На рис. 2, а изображена схема цепи переноса электронов от ФС2 к ФС1 и показаны температурные зависимости ключевых процессов, определяющих функционирование ЦЭТ между фотосистемами — срабатывание ФС2 и перенос электронов от  $PQH_2$  к  $P_{700}^+$ . На рис. 2, б–г изображены температурные зависимости процессов, отражающих фотохимическую активность ФС2 (б), перенос электронов от ФС2 к PQ (в) и перенос электронов от  $PQH_2$  к ФС1 (через цитохромный комплекс и Pс) (г). Эти зависимости были получены на основании исследований кинетики фотоиндуцированных редокс-превращений  $P_{700}$  в изолированных хлоропластах бобов класса Б, функционирующих в условиях псевдоциклического транспорта электронов:  $H_2O \rightarrow ФС2 \rightarrow PQH_2 \rightarrow b_6f \rightarrow Pс \rightarrow ФС1 \rightarrow O_2 \rightarrow H_2O$ . Результаты этих исследований подробно описаны ранее [24, 47, 62–65].

Использование метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) для изучения электронного транспорта в хлоропластах основано на том, что окисленные центры  $P_{700}^+$  дают характерный сигнал ЭПР, по интенсивности которого можно следить за кинетикой окислительно-восстановительных превращений  $P_{700}$ . Дальний красный свет ( $\lambda > 700$  нм), возбуждающий преимущественно ФС1, индуцирует окисление  $P_{700}$ . О работе ФС2 можно судить, измеряя количество электронов, поступающих в ЦЭТ в ответ на действие импульсов света различной длительности [24, 47, 62–66]. Относительное число электронов, поступающих в ЦЭТ в ответ на вспышки белого света, возбуждающего обе фотосистемы, характеризует активность ФС2. Короткий импульс света ( $\tau_s = 7$  мкс) обеспечивает однократное срабатывание ФС2. Так можно оценить влияние температуры на эффективность функционирования ФС2. Как видно из рис. 2, б, активность ФС2 слабо зависит от температуры в области 0–25 °С, но падает до нуля с повышением температуры до 45 °С.

Длительный импульс белого света ( $\tau_s = 750$  мкс) вызывает многократное срабатывание ФС2, что позволяет оценить скорость переноса электронов от ФС2 к PQ. В качестве параметра, характеризующего перенос электронов



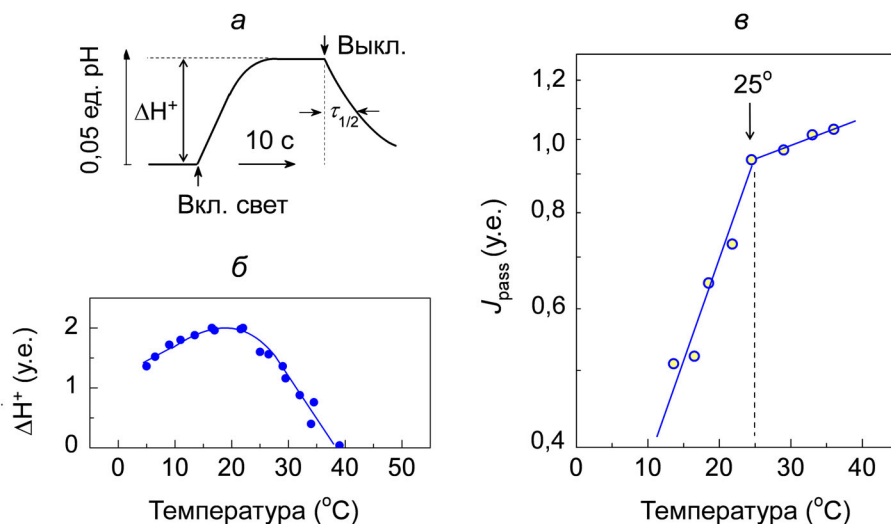
**Рис. 2.** Схема фотосинтетических процессов переноса электронов и протонов и расположения четырех основных белковых комплексов (фотосистемы 1, фотосистемы 2, цитохрома  $b_6f$  и АТФ-синтазы) в тилакоидной мембране (а). Красными стрелками показаны реакции переноса электронов, синими – пути переноса протонов. б–д – Показывает влияние температуры на разные реакции переноса электронов по ЦЭТ: активность ФС2 (б), скорость восстановления РQ (в) и скорость переноса электронов от  $QH_2$  к ФС1 (д). Графики построены по материалам исследований электронного транспорта в хлоропластах бобов класса Б, функционирующих в условиях псевдоциклического транспорта электронов:  $H_2O \rightarrow$  ФС2  $\rightarrow$  ФС1  $\rightarrow$  метилвиолген  $\rightarrow O_2 \rightarrow H_2O$ . Условия проведения экспериментов описаны ранее [24, 47, 62–65]

к РQ, можно использовать величину  $f = W_2/W_1$ , равную отношению количества электронов, поступающих в ЦЭТ за время действия длительной ( $W_2$ ) и короткой ( $W_1$ ) вспышек света [47, 62, 63, 66]. Из рис. 2, в видно, что относительное число молекул  $QH_2$ , образующихся в ответ на длительные вспышки, увеличивается с ростом температуры. Это означает, что скорость восстановления РQ, оцениваемая по величине  $f$ , возрастает с повышением температуры. Обращает на себя внимание характерный излом температурной зависимости параметра  $f$ , четко выраженный при 25 °С.

На рис. 2, д показана температурная зависимость кинетического параметра  $\tau_{1/2}^{-1}$ , характеризующего скорость переноса электронов от  $QH_2$  к окисленным центрам  $P_{700}^+$  ( $\tau_{1/2}$  – время полувосстановления  $P_{700}^+$  после окончания действия белого света). Видно, что с ростом температуры до 25 °С скорость восстановления  $P_{700}^+$  возрастает, затем  $\tau_{1/2}^{-1}$  изменяется сравнительно слабо. Учитывая, что скорость восстановления  $P_{700}^+$  определяется скоростью окисления  $QH_2$  [67],

можно утверждать, что температурная зависимость параметра  $\tau_{1/2}^{-1}$  отражает влияние температуры на скорость окисления  $QH_2$ . Обращает на себя внимание тот факт, что эта зависимость также имеет характерный излом при 25 °С. Однако, в отличие от температурной, зависимость для скорости образования  $QH_2$  (рис. 2, в), параметр  $\tau_{1/2}^{-1}$  заметно возрастает с ростом температуры до 25 °С, но слабо изменяется при температурах выше 25 °С (рис. 2, д).

**Трансмембранный перенос протонов.** Наличие характерных «изломов» на температурных зависимостях параметров, характеризующих перенос электронов по ЦЭТ между фотосистемами (рис. 2), служит отражением влияния температуры на состояние липидной мембраны. Об этом, в частности, свидетельствует тот факт, что подобные особенности проявляются также при изучении переноса протонов через тилакоидную мембрану. Рассмотрим в качестве иллюстрации данные по кинетике фотоиндуцированного поглощения протонов хлоропластами и их выхода наружу из хлоропластов в темноте. На



**Рис. 3.** Пассивный перенос протонов через тилакоидную мембрану хлоропластов. *a* – Кинетика фотоиндуцированных изменений pH в суспензии хлоропластов в метаболическом состоянии 4; *б* – температурная зависимость поглощения протонов (параметр  $\Delta H^+$ ); *в* – температурная зависимость пассивного потока протонов. Экспериментальные значения кинетических параметров, использованные для построения графиков, заимствованы из ранее опубликованной работы [64]

рис. 3, *a* показана кинетика фотоиндуцированного защелачивания ( $pH_{out} \uparrow$ ) суспензии хлоропластов бобов в «состоянии 4», когда не происходит синтеза АТФ [64]. Из рис. 3, *б* видно, что поглощение протонов ( $\Delta H^+$ ) растет с повышением температуры в диапазоне 0–25 °С, но затем монотонно уменьшается. Такая зависимость объясняется наложением двух эффектов: (1) активацией процессов переноса протонов в люмен вследствие работы ЦЭТ и (2) ускорением утечки протонов из люмена вследствие «разрыхления» тилакоидной мембраны при достаточном высоких температурах. На рис. 3, *в* показана температурная зависимость скорости утечки протонов из тилакоидов (параметр  $J_{pass}$ ). Значения  $J_{pass}$  были определены как  $J_{pass} \sim 1/\tau_{1/2}$ , где  $\tau_{1/2}$  – время полуспада  $pH_{out}$  после выключения света (рис. 3, *a*). Видно, что температурная зависимость  $J_{pass}$  имеет характерный излом при 25 °С: выход протонов из тилакоидов заметно ускоряется с ростом температуры до 25 °С, при более высоких температурах скорость утечки протонов возрастает, но значительно слабее.

Влияние температуры на работу ЦЭТ и процессы трансмембранного переноса протонов может быть связано со структурными изменениями в липидных областях тилакоидной мембраны. Изменение температуры может влиять на микровязкость липидных областей мембраны, ускоряя (или замедляя) диффузию молекул PQ и  $QNH_2$  в липидной части мембраны. Скорость окисления  $QNH_2$  внутри  $b_6f$ -комплекса также может контролироваться состоянием тилакоидной мембраны, поскольку окисление  $QNH_2$  –

это процесс, сопряженный с высвобождением двух протонов во внутритилакоидное пространство. Ускорение или замедление диссоциации протонов от  $QNH_2$  в люмен должно влиять на скорость окисления  $QNH_2$ .

**Окисление пластохинола определяет скорость переноса электронов между фотосистемами.** Экспериментальные данные показывают, что в диапазоне температур 0–45 °С время переноса электронов между фотосистемами определяется главным образом процессами окисления  $QNH_2$  в  $b_6f$ -комплексе, в то время как скорость образования  $QNH_2$  и его диффузии к  $b_6f$ -комплексу остаются более быстрыми, чем перенос электронов от  $QNH_2$  к  $b_6f$ -комплексу и далее к  $P_{700}^+$ . Это следует из сравнения температурных зависимостей кинетических параметров, отражающих образование  $QNH_2$  и его диффузию к  $b_6f$ -комплексу, с одной стороны, и скорость переноса электронов от  $QNH_2$  к ФС1, с другой стороны (рис. 4). Данные зависимости были получены при изучении кинетики восстановления  $P_{700}^+$  в ответ на вспышки белого света, подаваемые на фоне дальнего красного света с длиной волны  $\lambda_{max} = 707$  нм (см. схему опыта на рис. 4, *a*). Видно, что восстановление  $P_{700}^+$  после действия вспышки света происходит с задержкой (рис. 4, *б*). Длительность лаг-фазы (параметр  $\Delta\tau$ ) определяется временем образования пластохинола в ФС2 и его диффузии к  $b_6f$ -комплексу (рис. 4, *в*). Параметр  $\Delta\tau$  возрастает с понижением температуры, что свидетельствует о замедлении этих процессов при охлаждении хлоропластов. Важно отметить, однако, что во всем интервале исследуемых

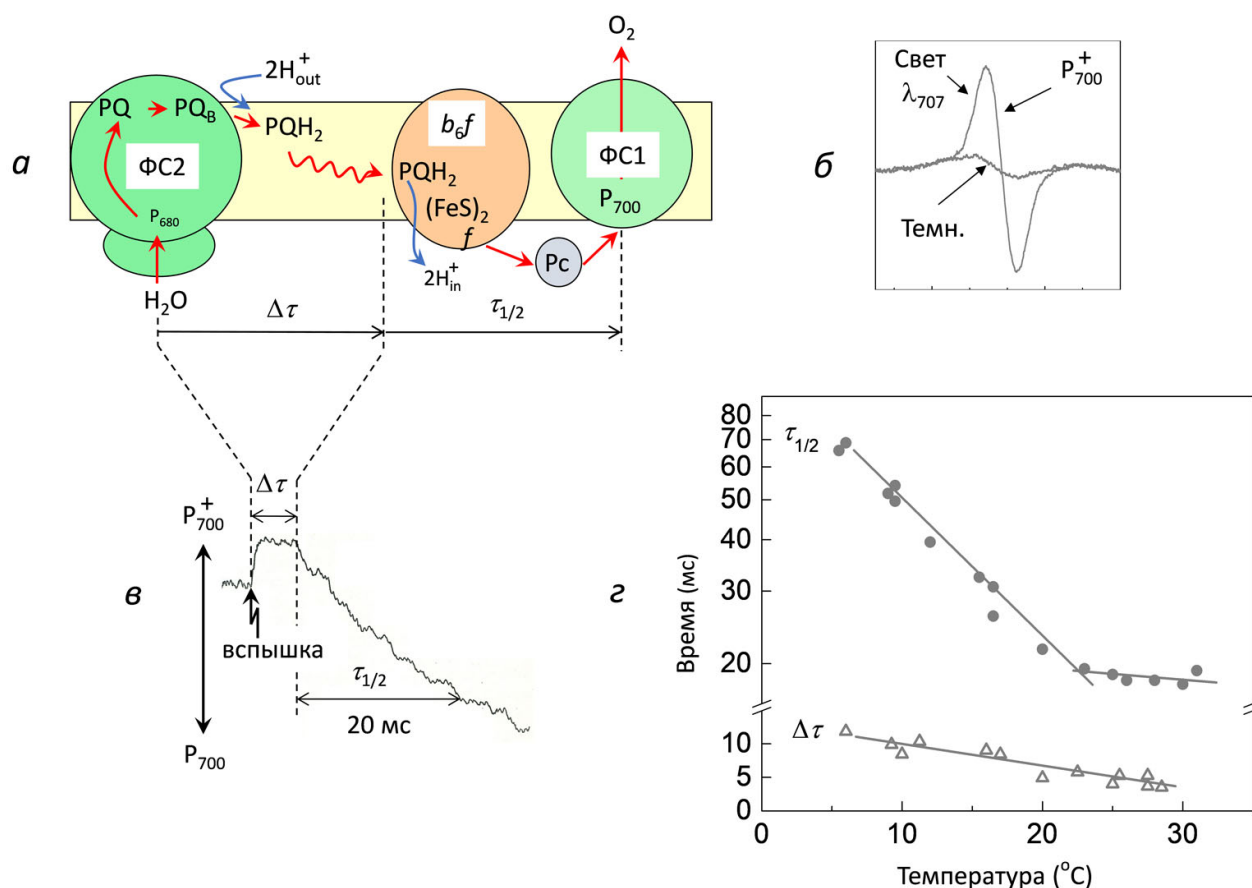


температур длительность лаг-фазы была заметно короче характерного времени восстановления  $P_{700}^+$  (параметр  $\tau_{1/2}$ ), определяемого переносом электронов от  $QH_2$  к  $b_6f$ -комплексу. Таким образом, мы можем утверждать, что именно скорость окисления  $QH_2$ , связанного с  $b_6f$ -комплексом, является стадией, лимитирующей перенос электронов между фотосистемами.

Температурная зависимость кинетического параметра  $\tau_{1/2}$ , как видно из рис. 4, *з*, имеет характерный излом при температуре  $t_0 \approx 22-25^\circ\text{C}$ . При температурах ниже  $t_0$  ускорение переноса электронов характеризуется энергией активации  $E_a^{(1)} \sim 60 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ . При температурах выше  $t_0$  стимулирующий эффект температуры незначителен ( $E_a^{(2)} \leq 3 \text{ кДж}\cdot\text{моль}^{-1}$ ). Две ветви температурной зависимости параметра  $\tau_{1/2}$  отражают суперпозицию двух эффектов: (1) ускорения окисления  $QH_2$  с ростом температуры и (2) уменьшения концентрации  $QH_2$  (донор электронов) при температурах выше  $t_0$  вследствие ослабле-

ния активности ФС2 (рис. 2, *б*). Поток электронов к  $P_{700}^+$  ослабевает с уменьшением концентрации  $QH_2$ . При температурах выше  $25-30^\circ\text{C}$  концентрация  $QH_2$  снижается и замедляется приток электронов к  $P_{700}^+$ , что проявляется как уменьшение кажущейся энергии активации.

Другая причина снижения  $E_a$  в диапазоне температур, лежащих выше  $25^\circ\text{C}$ , может быть связана с термоиндуцированными структурными изменениями в тилакоидах. Мембранные липиды – среда для латеральной диффузии молекул  $QH_2$ . Липиды, расположенные внутри цитохромного  $b_6f$ -комплекса, способствуют проникновению  $QH_2$  в хинон-связывающий портал [11, 42]. «Затвердевание» мембранных липидов, вызванное снижением температуры ( $\leq 20-25^\circ\text{C}$ ), будет препятствовать проникновению молекулы  $QH_2$  в хинон-связывающий портал, тем самым замедляя окисление пластохинола. Наоборот, «разжижение» мембранных липидов с повышением температуры должно ус-



**Рис. 4.** Окислительно-восстановительные превращения  $PQ$  и  $P_{700}$ . *а* – Показывает схему опыта по измерению характерных времен образования и окисления  $QH_2$ . *б* – Спектры ЭПР хлоропластов в темноте и при действии дальнего красного света ( $\lambda_{707}$ ); *в* – кинетика изменений величины сигнала ЭПР от окисленных центров  $P_{700}^+$  в ответ на вспышку белого света ( $\tau_{1/2} = 750 \text{ мс}$ ), подаваемую на фоне дальнего красного света ( $\lambda_{707}$ ). *з* – Показаны температурные зависимости кинетических параметров  $\Delta\tau$  (длительность лаг-фазы) и  $\tau_{1/2}$  (время полувосстановления  $P_{700}^+$ ). Графики построены на основе данных, представленных ранее [24]

корять окисление  $\text{PQH}_2$ , поскольку увеличение подвижности  $\text{PQH}_2$  в мембране будет способствовать образованию субстрат-ферментного комплекса ( $\text{PQH}_2$ - $b_6f$ ) и тем самым ускорять окисление  $\text{PQH}_2$ . После перехода большей части мембранных липидов в жидкокристаллическое состояние, стимулирующее влияние температуры на скорость переноса электронов, будет маскироваться снижением концентрации  $\text{PQH}_2$  вследствие подавления активности ФС2. С феноменологической точки зрения, это проявляется как снижение активационного барьера реакции восстановления  $\text{P}_{700}^+$ .

Рассмотрим механизмы, определяющие скорость окисления  $\text{PQH}_2$  внутри  $b_6f$ -комплекса. Окисление  $\text{PQH}_2$  сопровождается выделением протонов в люмен. Согласно модели окисления хинола (пластохинола в  $b_6f$ -комплексе или убихинола в  $bc_1$ -комплексе), предложенной в опубликованных ранее исследованиях [33, 68, 69], перенос электрона на окисленный железо-серный белок ( $\text{ISP}_{\text{ox}}$ ) сопряжен с депротонированием  $\text{PQH}_2$ . При этом электрон и протон переносятся согласованно («концертно») на  $(\text{Fe-S})_2$ -кластер и на гистидиновый остаток, координированный с  $(\text{Fe-S})_2$ -кластером [34, 35, 70–72]. Вследствие того, что окисление  $\text{PQH}_2$  сопряжено с диссоциацией ионов  $\text{H}^+$ , можно предположить, что облегчение переноса протонов в люмен с ростом температуры должно способствовать ускорению окисления  $\text{PQH}_2$ . После перехода большей части липидов в «жидкокристаллическое» состояние эффект термоиндуцированного ускорения окисления  $\text{PQH}_2$  будет выражен слабее. Последнее будет проявляться как уменьшение энергии активации реакции окисления  $\text{PQH}_2$ , проявляющееся в уменьшении наклона температурной зависимости параметра  $\tau_{1/2}^{-1}$  при температурах выше  $25^\circ\text{C}$  (рис. 2, з).

Фактором, контролирующим скорость окисления  $\text{PQH}_2$ , могли бы служить конформационные перестройки  $\text{ISP}$  [73, 74]. После восстановления  $\text{ISP}$  его подвижный домен, содержащий  $(\text{Fe-S})_2$ -кластер, смещается к гему  $f$  и передает ему электрон. После окисления  $\text{ISP}$  мобильный домен возвращается в исходное положение. Увеличение подвижности этого домена должно сокращать время оборота  $b_6f$ -комплекса. Однако структурные и кинетические данные свидетельствуют, что при комнатных температурах подвижность мобильного домена  $\text{ISP}$  не является стадией, лимитирующей скорость переноса электрона внутри  $b_6f$ -комплекса. Значительные смещения редокс-центра  $\text{ISP}$  происходят быстро по сравнению со скоростью окисления  $\text{PQH}_2$ . При комнатных температурах перенос электрона от  $\text{ISP}_{\text{red}}$  к цитохрому  $f$  протекает с характер-

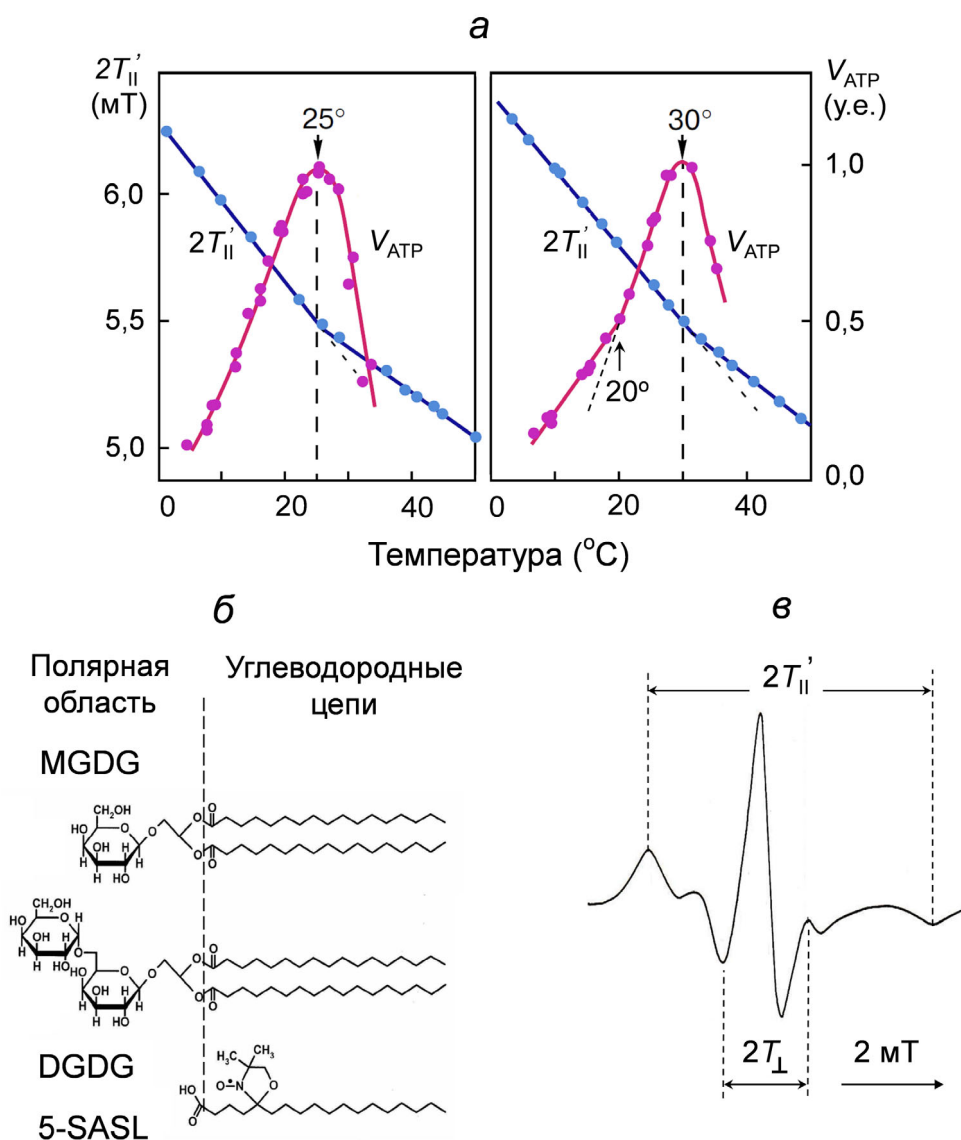
ным временем  $\approx 2$ – $4$  мс [75, 76]), которое короче времени окисления  $\text{PQH}_2$  ( $\tau_{1/2} \geq 5$ – $20$  мс [13, 23, 24, 67]). Это означает, что скорость окисления  $\text{PQH}_2$  определяется стадией переноса электрона от  $\text{PQH}_2$  к окисленному редокс-центру  $(\text{Fe-S})_2$ -кластер) после образования субстрат-ферментного комплекса  $\text{PQH}_2$ - $\text{ISP}_{\text{ox}}$ .

**Синтез АТФ, сопряженный с потоком электронов.** При изучении закономерностей работы фотосинтетического аппарата хлоропластов использование метода ЭПР дает несомненное преимущество, связанное с тем, что наряду с измерениями редокс-превращений  $\text{P}_{700}$  в тех же самых экспериментальных условиях методом ЭПР можно изучать структурные перестройки в тилакоидных мембранах [64, 77]. Для этого обычно используют парамагнитные молекулярные зонды («спиновые зонды»), которые служат индикаторами, сигнализирующими о происходящих в мембранах структурных перестройках. Ниже мы рассмотрим пример того, как с помощью липидорастворимых спиновых зондов можно следить за термоиндуцированными структурными перестройками в липидных областях тилакоидных мембран.

Рассмотрим температурные зависимости скорости фотофосфорилирования (синтез АТФ) в хлоропластах бобов класса Б. Температурные зависимости скорости образования АТФ ( $V_{\text{АТФ}}$ ) имеют колоколообразный вид (рис. 5, а). Это объясняется суперпозицией двух эффектов, вызванных увеличением температуры: 1) ускорением переноса электронов и ростом  $\Delta p\text{H}$ , с одной стороны, и 2) уменьшением потока электронов и усилением пассивной утечки протонов через мембрану в обход АТФ-синтазы, с другой стороны. Поэтому с ростом температуры синтез АТФ сначала ускоряется, а затем спадает. Температура, при которой наблюдается максимальное значение  $V_{\text{АТФ}}$ , варьирует для хлоропластов, выделенных из листьев растений, выращенных в разных условиях [64]. Следует отметить закономерность, имеющую общий характер: с повышением температуры, при которой растут растения, температура максимума зависимости  $V_{\text{АТФ}}(t)$  увеличивается, с понижением температуры — снижается. «Физиологический смысл» такой закономерности очевиден. Фотосинтетический аппарат растений адаптируется к условиям выращивания, «приспосабливаясь» к температуре окружающей среды. При этом, как было показано ранее [64, 78], существует четкая корреляция между температурными зависимостями параметров, характеризующих функциональные свойства хлоропластов (электронный транспорт, синтез АТФ) и структурные особенности тилакоидных мембран.

Корреляция между температурными зависимостями «функциональных» и «структурных» показателей тилакоидов четко прослеживается при сравнении температурных зависимостей скорости синтеза АТФ ( $V_{\text{АТФ}}$ ) и параметров спектров ЭПР липидорастворимых спиновых зондов, встроенных в тилакоидные мембраны (рис. 5). Спектры ЭПР спиновых зондов, локализованных в мембране (рис. 5, б), отражают подвижность и упорядоченность в расположении их парамагнитных фрагментов (нитроксильных радикалов) относительно мембранных липидов [77, 79, 80]. На рис. 5, в показан

спектр ЭПР спин-меченой стеариновой кислоты (5-SASL), к которой ковалентно прикреплен нитроксильный радикал. С ростом температуры, по мере «разрыхления» липидных доменов мембраны, происходит разупорядочивание спиновых зондов и ускоряется их вращение, что проявляется в изменении формы спектров ЭПР. Из рис. 5, в видно, что параметр  $2T'_{\parallel}$ , равный расстоянию между внешними экстремумами спектра ЭПР, уменьшается с ростом температуры. Это свидетельствует об увеличении подвижности молекул спинового зонда и понижении степени упорядоченности молекул липидов, ко-



**Рис. 5.** Структурно-функциональные корреляции в тилакоидных мембранах. *а* – Температурные зависимости скорости образования АТФ ( $V_{\text{АТФ}}$ ) в двух различных препаратах хлоропластов бобов класса Б, функционирующих в условиях псевдоциклического транспорта электронов, и сравнение их с температурными зависимостями «структурного» параметра  $2T'_{\parallel}$  (по материалам работы Тихонова с соавт. [64]). Значения  $2T'_{\parallel}$  определяли из спектра ЭПР спинового зонда 5-SASL, встроенного в тилакоидную мембрану. *б* – Показаны структуры MGDG, DGDG и 5-SASL. *в* – Спектр ЭПР спинового зонда 5-SASL, встроенного в мембрану, измеренный при комнатной температуре (22–24 °С)

торые окружают зонд [79]. Отметим, что температурные зависимости параметра  $2T'_{II}$ , полученные для разных препаратов хлоропластов (рис. 5, *a*, левая и правая панели), имеют «изломы» при тех же температурах, при которых скорость синтеза АТР максимальна, при 25 и 30 °С соответственно. Наличие характерного «излома» на графике температурной зависимости параметра  $2T'_{II}$  является отражением структурного перехода в мембране, обусловленного ее «плавлением» — переходом большей части липидов из упорядоченного в разупорядоченное состояние [79].

Конкретное значение температуры  $t_0$ , при которой скорость синтеза АТР максимальна, зависит от условий выращивания растений [64, 78]. Такая вариабельность может быть вызвана изменениями в составе мембранных липидов, например изменениями соотношения между ненасыщенными и насыщенными жирными кислотами [10, 39–41]. Важно подчеркнуть, что при этом сохраняется корреляция между температурными зависимостями «структурного» параметра  $2T'_{II}$  и скорости синтеза АТР. Тот факт, что температуры, при которых скорости синтеза АТР максимальны, совпадают с температурами точек перегиба на графиках «структурного» параметра  $2T'_{II}$  (рис. 5, *a*), можно рассматривать как свидетельство в пользу роли физического состояния («текучести») тилакоидной мембраны в регуляции фотосинтетических процессов в хлоропластах. Можно предположить, что установление определенного баланса между липидами с насыщенными и ненасыщенными углеводородными цепями обеспечивает поддержание оптимальных условий для эффективной работы фотосинтетического аппарата при данной температуре.

В литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что состав мембранных липидов может влиять на эффективность сопряжения электронного транспорта и синтеза АТР в хлоропластах. В качестве меры эффективности энергетического сопряжения в биоэнергетике обычно используется отношение  $P/2e$ , показывающее, сколько молекул АТР образуется в расчете на два электрона, перенесенных по цепи электронного переноса [31]. Отношение  $P/2e$ , как известно [81], варьирует в зависимости от условий получения хлоропластов. В хлоропластах бобов это отношение увеличивается с ростом температуры, достигая значения  $P/2e$  в диапазоне 0,8–1,2 при 22–25 °С (в зависимости от условий эксперимента) и остается постоянным при более высоких температурах [65]. Компьютерное моделирование температурных зависимостей процессов электронного и протонного

транспорта в хлоропластах, выполненное в рамках развитой нами модели [82, 83], позволило адекватно описать рассмотренные выше процессы и оценить вклад различных факторов в температурную регуляцию фотосинтеза [84].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фотосинтетический транспорт электронов в хлоропластах регулируется на двух участках цепи электронного транспорта: между ФС2 и ФС1 [16, 17, 45, 46] и на стадии оттока электронов от ФС1 в цикл Кальвина–Бенсона [5, 85, 86]. В настоящем обзоре мы рассмотрели процессы температурно-зависимой регуляции электрон-транспортных процессов на участке ЦЭТ между двумя фотосистемами. Основное внимание было уделено анализу функционирования пластохинонового участка между ФС2 и цитохромным  $b_6f$ -комплексом, поскольку окисление  $PQH_2$  является лимитирующей стадией переноса электронов в ЦЭТ между ФС2 и ФС1. Скорость этого процесса определяется временем окисления  $PQH_2$  в пластохинол-связывающем центре ( $Q_o$ )  $b_6f$ -комплекса, ориентированном в сторону люмена. Близкое расположение ФС2 и  $b_6f$ -комплексов в тилакоидах гран и достаточно высокая подвижность пластохинона в тилакоидной мембране способствуют образованию комплекса «субстрат–фермент» ( $PQH_2-b_6f$ ), ускоряя перенос электронов между ФС2 и  $b_6f$ -комплексом.

Результаты исследований термоиндуцированных структурных переходов в тилакоидных мембранах методом спиновых зондов согласуются с представлением о том, что адаптация фотосинтетического аппарата высших растений к температуре окружающей среды может происходить за счет изменения физико-химических свойств липидных доменов тилакоидных мембран. Соответствие температурных зависимостей функциональным и структурным характеристикам тилакоидных мембран ранее было показано методом ЭПР для различных препаратов хлоропластов бобов [64]. Изменения микровязкости липидных областей тилакоидных мембран могут происходить за счет изменения соотношения между липидами с ненасыщенными и насыщенными углеводородными цепями [40, 41]. Существование «жидкой» и «кристаллической» фаз в фотосинтетических мембранах [87] может обеспечивать оптимальные условия для функционирования фотосинтетического аппарата, когда высокая скорость электронного транспорта сочетается со способностью тилакоидной мембраны поддерживать необходимый уровень  $\Delta pH$ .

С повышением температуры могут ускоряться диффузия пластохинона и образование субстрат-ферментного комплекса  $PQH_2-b_6f$ , возрастать  $\Delta pH$  и скорость синтеза АТР. Однако при значительном повышении температуры усиливается пассивная утечка протонов из люмена в строму в обход АТР-синтазы, что вызывает падение  $\Delta pH$  и уменьшение скорости синтеза АТР. По нашим наблюдениям, изменения внешних условий (например, сезонные изменения температуры) вызывают однотипные смещения точек перегиба на графиках функциональных параметров хлоропластов (скорость восстановления  $P_{700}^+$ , синтез АТР) и параметров спектров ЭПР спиновых зондов, встроенных в тилакоидные мембраны [64]. Это может быть обусловлено варьированием соотношения липидов с насыщенными и ненасыщенными углеводородными цепями, влияющим на физико-химические свойства тилакоидных мембран. Такие изменения могут обеспечивать устойчивое функционирование фотосинтетического аппарата при колебаниях температуры окружающей среды.

**Благодарности.** Мы посвящаем нашу работу светлой памяти Александра Александровича Константинова, совместно с которым одному из авторов (А.Н.Т.) посчастливилось заниматься изучением электронного транспорта в дыхательной цепи митохондрий, используя метод ЭПР.

Авторы признательны Э.К. Рууге, А.А. Тимошину и Г.Б. Хомутову, совместно с которыми были получены данные, на которые мы ссылаемся в настоящем обзоре. Авторы благодарны анонимному рецензенту за полезные комментарии и замечания.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-04-00214).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nelson, N., and Yocum, C. F. (2006) Structure and function of photosystems I and II, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 521-565.
- Mamedov, M., Govindjee, G., Nadochenko, V., and Semenov, A. (2015) Primary electron transfer processes in photosynthetic reaction centers from oxygenic organisms, *Photosynth. Res.*, **125**, 51-63.
- Boyer, P. D. (1997) The ATP synthase – a splendid molecular machine, *Annu. Rev. Biochem.*, **66**, 717-749.
- Walker, J. E. (2013) The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown, *Biochem. Soc. Trans.*, **41**, 1-16.
- Edwards, G., and Walker, D. (1983) *C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>: Mechanisms, and Cellular and Environmental Regulation, of Photosynthesis*, Univ. of California Press, Berkeley.
- Staehelein, L. A. (2003) Chloroplast structure: from chlorophyll granules to supra-molecular architecture of thylakoid membranes, *Photosynth. Res.*, **76**, 185-196.
- Dekker, J. P., and Boekema, E. J. (2005) Supermolecular organization of the thylakoid membrane proteins in green plants, *Biochim. Biophys. Acta*, **1706**, 12-39.
- Anderson, J. M. (1982) Distribution of the cytochromes of spinach chloroplasts between the appressed membranes of grana stacks and stroma-exposed thylakoid regions, *FEBS Lett.*, **138**, 62-66.
- Boudiere, L., Michaud, M., Petroustos, D., Rébeillé, F., Falconet, D., et al. (2014) Glycerolipids in photosynthesis: composition, synthesis and trafficking, *Biochim. Biophys. Acta*, **1837**, 470-480.
- He, M., and Ding, N.-Z. (2020) Plant unsaturated fatty acids: multiple roles in stress response, *Front. Plant Sci.*, **11**, 562785, doi: 10.3389/fpls.2020.562785.
- Cramer, W. A., and Hasan, S. S. (2016) Structure-function of the cytochrome  $b_6f$  lipoprotein complex, in *Cytochrome Complexes: Evolution, Structures, Energy Transduction, and Signaling* (Cramer, W. A., and Kallas, T., eds.), Springer Link, pp. 177-207.
- Witt, H. T. (1979) Energy conversion in the functional membrane of photosynthesis. Analysis by light pulse and electric pulse methods, *Biochim. Biophys. Acta*, **505**, 355-427.
- Haehnel, W. (1984) Photosynthetic electron transport in higher plants, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 659-693.
- Kirchhoff, H., Horstmann, S., and Weis, E. (2000) Control of the photosynthetic electron transport by PQ diffusion microdomains in thylakoids of higher plants, *Biochim. Biophys. Acta*, **1459**, 148-168.
- Cardona, T., Sedoud, A., Cox, N., and Rutherford, A. W. (2012) Charge separation in photosystem II: a comparative and evolutionary overview, *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 26-43.
- Tikhonov, A. N. (2013) pH-Dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts, *Photosynth. Res.*, **116**, 511-534.
- Tikhonov, A. N. (2014) The cytochrome  $b_6f$  complex at the crossroad of photosynthetic electron transport pathways, *Plant. Physiol. Biochem.*, **81**, 163-183.
- Brettel, K. (1997) Electron transfer and arrangement of the redox cofactors in photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta*, **1318**, 322-373.
- Fromme, P., Jordan, P., and Krauss, N. (2001) Structure of photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta*, **1507**, 5-31.
- DeVault, D. (1980) Quantum mechanical tunnelling in biological systems, *Q. Rev. Biophys.*, **13**, 387-564.
- Page, C. C., Moser, C. C., Chen, X., and Dutton, P. L. (1999) Natural engineering principles of electron tunnelling in biological oxidation-reduction, *Nature*, **402**, 47-52.



22. Kirchhoff, H., Hall, C., Wood, M., Herbstová, M., Tsbari, O., et al. (2011) Dynamic control of protein diffusion within the granal thylakoid lumen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20248-20253.
23. Haehnel, W. (1976) The reduction kinetics of chlorophyll  $a_1$  as an indicator of for proton uptake between the light reactions in chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **440**, 506-521.
24. Tikhonov, A. N., Khomutov, G. B., and Ruuge, E. K. (1984) Electron transport control in chloroplasts. Effects of magnesium ions on the electron flow between two photosystems, *Photobiochem. Photobiophys.*, **8**, 261-269.
25. Zouni, A., Witt, H.T., Kern, J., Fromme, P., Krauss, N., Saenger, W., and Orth, P. (2001) Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution, *Nature*, **409**, 739-743.
26. Allakhverdiev, S. I. (2011) Recent progress in the studies of structure and function of photosystem II, *J. Photochem. Photobiol. B*, **104**, 1-8.
27. Müh, F., Glöckner, C., Hellmich, J., and Zouni, A. (2012) Light-induced quinone reduction in photosystem II, *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 44-65.
28. Mitchell, P. (1976) Possible molecular mechanisms of the protonmotive function of cytochrome systems, *J. Theor. Biol.*, **62**, 327-367.
29. Cramer, W. A., Hasan, S. S., and Yamashita, E. (2011) The Q cycle of cytochrome  $bc$  complexes: a structure perspective, *Biochim. Biophys. Acta*, **1807**, 788-802.
30. Tikhonov, A. N. (2018) The cytochrome  $b_6f$  complex: biophysical aspects of its functioning in chloroplasts, *Subcell. Biochem.*, **87**, 287-328, doi: 10.1007/978-981-10-7757-9\_10.
31. Ivanov, B. (1993) Stoichiometry of proton uptake by thylakoids during electron transport in chloroplasts, in: *Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity* (Abrol, Y. P., Mohanty, P., Govindjee, G., eds.) Springer, Dordrecht, pp. 108-128.
32. Hong, S. J., Ugulava, N., Guergova-Kuras, M., and Crofts, A. R. (1999) The energy landscape for ubihydroquinone oxidation at the  $Q_o$ -site of the  $bc_1$  complex in *Rhodobacter sphaeroides*, *J. Biol. Chem.*, **274**, 33931-33944.
33. Crofts, A. R., Guergova-Kuras, M., Kuras, R., Ugulava, N., Li, J., and Hong, S. (2000) Proton-coupled electron transfer at the  $Q_o$ -site: what type of mechanism can account for the high activation barrier? *Biochim. Biophys. Acta*, **1459**, 456-466.
34. Crofts, A. R. (2004) Proton-coupled electron transfer at the  $Q_o$ -site of the  $bc_1$  complex controls the rate of ubihydroquinone oxidation, *Biochim. Biophys. Acta*, **1655**, 77-92.
35. Crofts, A. R., Hong, S., Wilson, C., Burton, R., Victoria, D., et al. (2013) The mechanism of ubihydroquinone oxidation at the  $Q_o$ -site of the cytochrome  $bc_1$  complex, *Biochim. Biophys. Acta*, **1827**, 1362-1377.
36. Ustynyuk, L. Yu., and Tikhonov, A. N. (2018) The cytochrome  $b_6f$  complex: DFT modeling of the first step of plastoquinol oxidation by the iron-sulfur protein, *J. Organomet. Chem.*, **867**, 290-299.
37. Wada, H., and Murata, N. (2009) *Lipids in Photosynthesis: Essential and Regulatory Functions*, Springer, Dordrecht.
38. Zhou, Y., vom Dorp, K., Dörman, P., and Hölzl, G. (2016) Chloroplast lipids, in *Chloroplasts. Current Research and Future Trends*, Caister Academic Press, pp. 1-24.
39. Los, D. A., and Murata, N. (2004) Membrane fluidity and its role in the perception of environmental signals, *Biochim. Biophys. Acta*, **1666**, 142-157.
40. Los, D. A., Mironov, K. S., and Allakhverdiev, S. I. (2013) Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions, *Photosynth. Res.*, **116**, 489-509.
41. Maksimov, E. G., Mironov, K. S., Trofimova, M. S., Nechaeva, N. L., Todorenko, D. A., et al. (2017) Membrane fluidity controls redox-regulated cold stress responses in cyanobacteria, *Photosynth. Res.*, **133**, 215-223.
42. Hasan, S. S., and Cramer, W. A. (2014) Internal lipid architecture of the hetero-oligomeric cytochrome  $b_6f$  complex, *Structure*, **22**, 1-8.
43. Hope, A. B. (2000) Electron transfers amongst cytochrome  $f$ , plastocyanin and photosystem I: kinetics and mechanisms, *Biochim. Biophys. Acta*, **1456**, 5-26.
44. Santabarbara, S., Redding, K. E., and Rappaport, F. (2009) Temperature dependence of the reduction of  $P_{700}^+$  by tightly bound plastocyanin *in vivo*, *Biochemistry*, **48**, 10457-10466.
45. Kramer, D. M., Sacksteder, C. A., and Cruz, J. A. (1999) How acidic is the lumen? *Photosynth. Res.*, **60**, 151-163.
46. Foyer, C. H., Neukermans, J., Queval, G., Noctor, G., and Harbinson, J. (2012) Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression, *J. Exp. Bot.*, **63**, 1637-1661.
47. Tikhonov, A. N., Khomutov, G. B., Ruuge, E. K., and Blumenfeld, L. A. (1981) Electron transport control in chloroplasts. Effects of photosynthetic control monitored by the intrathylakoid pH, *Biochem. Biophys. Acta*, **637**, 321-333.
48. Li, Z., Wakao, S., Fischer, B. B., and Niyogi, K. K. (2009) Sensing and responding to excess light, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **60**, 239-260.
49. Demmig-Adams, B., Cohu, C. M., Muller, O., and Adams, W. W., 3rd (2012) Modulation of photosynthetic energy conversion efficiency in nature: from seconds to seasons, *Photosynth. Res.*, **113**, 75-88.
50. Horton, P. (2012) Optimization of light harvesting and photoprotection: molecular mechanisms and physiological consequences, *Phil. Trans. R. Soc. B*, **367**, 3455-3465.
51. Chance, B., and Williams, G. R. (1956) The respiratory chain and oxidative phosphorylation, *Adv. Enzymol.*, **17**, 65-134.
52. Berry, J., and Björkman, O. (1980) Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **31**, 491-543.
53. Hu, S., Ding, Y., and Zhu, C. (2020) Sensitivity and responses of chloroplasts to heat stress in plants, *Front. Plant Sci.*, **11**, 375-385, doi: 10.3389/fpls.2020.00375.
54. Quinn, P. J., and Williams, W. P. (1978) Plant lipids and their role in membrane function, *Progr. Biophys. Mol. Biol.*, **34**, 107-173.
55. Wallis, J. G., and Browse, J. (2002) Mutants of *Arabidopsis* reveal many roles for membrane lipids, *Prog. Lipid Res.*, **41**, 254-278.
56. Margolis, L. B., Tikhonov, A. N., and Vasilieva, E. Yu. (1980) Platelet adhesion to fluid and solid phospholipid membranes, *Cell*, **19**, 189-194.
57. Ford, R. C., and Barber, J. (1983) Incorporation of sterol into chloroplast thylakoid membranes and its effect on fluidity and function, *Planta*, **158**, 35-41.

58. Sawada, S., and Miyachi, S. (1974) Effects of growth temperature on photosynthetic carbon metabolism in green plants. I. Photosynthetic activities of various plants acclimatized to varied temperatures, *Plant Cell Physiol.*, **15**, 111-120.
59. Murata, N., and Fork, D. C. (1977) Temperature dependence of the light-induced spectral shift of carotenoids in *Cyanidium caldarium* and higher plant leaves. Evidence for an effect of the physical phase of chloroplast membrane lipids on the permeability of the membranes to ions, *Biochim. Biophys. Acta*, **461**, 365-378.
60. Nolan, W. G. (1980) Effect of temperature on electron transport activities of isolated chloroplasts, *Plant Physiol.*, **66**, 234-237.
61. Nolan, W. G. (1981) Effect of temperature on proton efflux from isolated chloroplast thylakoids, *Plant Physiol.*, **67**, 1259-1263.
62. Тихонов А. Н., Хомутов Г. Б., Рууге Э. К. (1980) Исследование электронного транспорта в фотосинтетических системах. IX. Температурная зависимость кинетики окислительно-восстановительных превращений  $P_{700}$  при освещении хлоропластов вспышками света различной длительности, *Молек. биология*, **14**, 157-171.
63. Хомутов Г. Б., Тихонов А. Н., Рууге Э. К. (1981) Исследование электронного транспорта в фотосинтетических системах. XI. Эффекты фотосинтетического контроля: влияние энергизации тилакоидной мембраны на скорость электронного транспорта в хлоропластах бобов, *Молек. биология*, **15**, 182-198.
64. Тихонов А. Н., Тимошин А. А., Блюменфельд Л. А. (1983) Кинетика электронного транспорта, перенос протонов и фотофосфорилирование в хлоропластах и их связь термоиндуцированными структурными перестройками тилакоидной мембраны, *Молек. биология*, **17**, 1236-1248.
65. Тимошин А. А., Тихонов А. Н., Блюменфельд Л. А. (1984) Термоиндуцированный структурный переход АТФ-синтазы – фактор, регулирующий энергетическое сопряжение в хлоропластах, *Биофизика*, **29**, 338-349.
66. Tikhonov, A. N., and Vershubskii, A. V. (2017) Connectivity between electron transport complexes and modulation of photosystem II activity in chloroplasts, *Photosynth. Res.*, **133**, 103-114.
67. Stiehl, H. H., and Witt, H. T. (1969) Quantitative treatment of the function of plastoquinone in photosynthesis, *Z. Naturforsch. B*, **24**, 1588-1598.
68. Brandt, U. (1996) Bifurcated ubihydroquinone oxidation in the cytochrome  $bc_1$  complex by proton-gated charge transfer, *FEBS Lett.*, **387**, 1-6.
69. Link, T. A. (1997) The role of the “Rieske” iron sulfur protein in the hydroquinone oxidation ( $Q_p$ ) site of the cytochrome  $bc_1$  complex: the “proton-gated affinity change” mechanism, *FEBS Lett.*, **412**, 257-264.
70. Stroebel, D., Choquet, Y., Popot, J.-L., and Picot, D. (2003) An atypical haem in the cytochrome  $b_6f$  complex, *Nature*, **426**, 413-418.
71. Kurisu, G., Zhang, H., Smith, J. L., and Cramer, W. A. (2003) Structure of the cytochrome  $b_6f$  complex of oxygenic photosynthesis: tuning the cavity, *Science*, **302**, 1009-1014.
72. Zu, Y., Manon, M.-J., Couture, M. M.-J., Kolling, D. R. J., Crofts, A. R., et al. (2003) Reduction potentials of Rieske clusters: importance of the coupling between oxidation state and histidine protonation state, *Biochemistry*, **42**, 12400-12408.
73. Zhang, Z., Huang, L., Shulmeister, V. M., Chi, Y. I., Kim, K. K., et al. (1998) Electron transfer by domain movement in cytochrome  $bc_1$ , *Nature*, **392**, 677-684.
74. Hasan, S. S., Stofleth, J. T., Yamashita, E., and Cramer, W. A. (2013) Lipid-induced conformational changes within the cytochrome  $b_6f$  complex of oxygenic photosynthesis, *Biochemistry*, **52**, 2649-2654.
75. Gong, X.-S., Chung, S., and Fernandez-Velasco, J. G. (2001) Electron transfer and stability of the cytochrome  $b_6f$  complex in a small domain deletion mutant of cytochrome  $f$ , *J. Biol. Chem.*, **276**, 24365-24371.
76. Yan, J., and Cramer, W. A. (2003) Functional insensitivity of the cytochrome  $b_6f$  complex to structure changes in the hinge region of the Rieske iron-sulfur protein, *J. Biol. Chem.*, **278**, 20926-20933.
77. Tikhonov, A. N., and Subczynski, W. K. (2005) Application of spin labels to membrane bioenergetics (photosynthetic systems of higher plants), in *Biological Magnetic Resonance* (Eaton, S. S., Eaton, G. R., and Berliner, L. J., eds.) Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 147-194.
78. Кукушкин А. К., Тихонов А. Н. (1988) *Лекции по биофизике фотосинтеза высших растений*, Изд-во МГУ, Москва.
79. Griffith, O. H., and Jost, P. C. (1976) Lipid spin labels in biological membranes, in *Spin Labeling: Theory and Applications*, Academic Press, New York-London, pp. 456-524.
80. Ligeza, A., Tikhonov, A. N., Hyde, J. S., and Subczynski, W. K. (1998) Oxygen permeability of thylakoid membranes: electron paramagnetic resonance spin labeling study, *Biochim. Biophys. Acta*, **1365**, 453-463.
81. Heise, K.-P., and Harnischfeger, G. (1978) Correlation between photosynthesis and plant lipid composition, *Z. Naturforsch.*, **33**, 537-546.
82. Tikhonov, A. N., and Vershubskii, A. V. (2014) Computer modeling of electron and proton transport in chloroplasts, *BioSystems*, **121**, 1-21.
83. Vershubskii, A. V., Trubitsin, B. V., Priklonskii, V. I., and Tikhonov, A. N. (2017) Lateral heterogeneity of the proton potential along the thylakoid membranes of chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **1859**, 388-401.
84. Tikhonov, A. N., and Vershubskii, A. V. (2020) Temperature-dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts *in vitro* and *in silico*, *Photosynth. Res.*, **146**, 299-329.
85. Рыжиков С. Б., Тихонов А. Н. (1988) Регуляция скорости переноса электрона в фотосинтетических мембранах высших растений, *Биофизика*, **33**, 642-646.
86. Tikhonov, A. N. (2015) Induction events and short-term regulation of electron transport in chloroplasts: an overview, *Photosynth. Res.*, **125**, 65-94.
87. Schneider, A. R., and Geissler, P. L. (2013) Coexistence of fluid and crystalline phases of proteins in photosynthetic membranes, *Biophys. J.*, **105**, 1161-1170.
88. 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.

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ASPECTS  
OF ELECTRONIC TRANSPORT THERMOREGULATION  
AND ATP SYNTHESIS IN CHLOROPLASTS**

**Review**

**A. V. Vershubskii, and A. N. Tikhonov\***

*Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; E-mail: an\_tikhonov@mail.ru*

The review is focused on analysis of the mechanisms of temperature-dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts of higher plants. Importance of photosynthesis thermoregulation is determined by the fact that plants are ectothermic organisms, whose own temperature depends on the ambient temperature. The review discusses the effects of temperature on the following processes in thylakoid membranes: (i) photosystem 2 activity and plastoquinone reduction; (ii) electron transfer from plastoquinol (via the cytochrome  $b_6f$  complex and plastocyanin) to photosystem 1; (iii) transmembrane proton transfer; and (iv) ATP synthesis. The data on the relationship between the functional properties of chloroplasts (photosynthetic transfer of electrons and protons, functioning of ATP synthase) and structural characteristics of membrane lipids (fluidity) obtained by electron paramagnetic resonance studies are presented.

*Keywords:* photosynthesis, chloroplasts, electron transport, thylakoid membranes, temperature-dependent regulation