

СОСТОЯНИЯ 1 И 2 В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОМ АППАРАТЕ КРАСНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

© 2021 Ю.В. Большевцева^{1*}, И.В. Тропин², И.Н. Стадничук³

¹ ФИЦ Биотехнологии, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН,
119071 Москва, Россия; электронная почта: bolychev1@yandex.ru

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119991 Москва, Россия

³ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127726 Москва, Россия

Поступила в редакцию 13.05.2021

После доработки 23.06.2021

Принята к публикации 23.06.2021

У окисленных фототрофов несбалансированное поглощение света фотосистемой I (ФС I) и фотосистемой II (ФС II) нарушает взаимодействие фотосистем, влияя на линейный поток электронов между ними. У растений и зелёных водорослей дисбаланс устраняется перемещением хлорофилл *a/b*-содержащей антенны между коровыми комплексами фотосистем. Эффект отражается на флуоресценции пигментного аппарата и получил название обратимого перехода между Состояниями 1 и 2. У красных водорослей и цианобактерий, имеющих фикобилисомную антенну (ФБС), особенности формирования Состояний 1/2 после ряда лет исследований остаются неясными. Предложенные молекулярные механизмы: латеральное перемещение ФБС по поверхности тилакоидной мембраны от ФС II к ФС I, обратимое отделение ФБС от димерного комплекса ФС II, а также спилловер находят возражения, не отвечая совокупности накопленных данных. Нами осуществлена регистрация изменений в стационарных спектрах флуоресценции красных водорослей и цианобактерий в Состояниях 1/2 при комнатной температуре, что позволило предложить объяснение имеющихся противоречий. Выявлено изменение флуоресценции хлорофилла и постоянство флуоресценции ФБС, связанных с димерами ФС II, при найденном ранее обратимом отделении ФБС от мономерных комплексов ФС I, чем доказана разная роль ФБС в двух фотосистемах. Возрастание флуоресценции ФБС, принадлежащих ФС I, обусловлено изменением степени окисленности ферредоксина как переносчика электрона и увеличением доли циклического транспорта электронов в пигментном аппарате в Состоянии 1.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Состояние 1, Состояние 2, фикобилисома, флуоресценция, фотосистема I, фотосистема II, хлорофилл.

DOI: 10.31857/S0320972521070095

ВВЕДЕНИЕ

Быстрая адаптация пигментного аппарата к разному светопоглощению двух фотосистем у окисленных фототрофов, необходимая для коррекции поступления энергии к реакционным центрам ФС I и ФС II, получила название обратимого перехода из Состояния 1 в Состояние 2 [1, 2]. Состояние 1 соответствует большей доле световой энергии, получаемой ФС I, Состояние 2 возникает при преимущественном поглощении света ФС II. Впервые эффект был описан в 1969 г. у красных [3] и зелёных водорослей [4] и позднее нашёл подтверждение для цианобактерий и высших растений [1, 5].

У зелёных водорослей и растений молекулярный механизм переходных Состояний 1/2

считается установленным. В основе лежит перемещение тримеров хлорофилл *a/b*-содержащего антенного комплекса LHCP в плоскости тилакоидной мембраны при его фосфорилировании/дефосфорилировании с примыканием к коровым комплексам той или другой фотосистемы, что увеличивает или уменьшает их сечение поглощения. Процесс регулируется редокс-состоянием пула пластохинона, PQ [6, 7]. При большем поглощении света ФС II происходит восстановление PQ-пула и комплекса цитохромов *b₆f*, что ведёт к появлению дополнительного сайта окисления у образующегося пластохинола, PQH₂, в результате чего активируется специфическая киназа [8]. LHCP, фосфорилируясь киназой, отделяется от корового димерного комплекса ФС II, становясь после перемещения дополнительной антенной ФС I. В итоге реализуется Состояние 2 пигментного аппарата. При большей доле света в спектральной области поглощения ФС I формируется обратная цепь со-

Принятые сокращения: ФБС – фикобилисома; ФС II – фотосистема II; ФС I – фотосистема I.

* Адресат для корреспонденции.

бытий с участием фосфатазы (см. статью Dumas et al. [9] и ссылки к ней) и возникает Состояние 1. Процесс отражается на возрастании или падении уровня флуоресценции двух фотосистем [10].

Цианобактерии и красные водоросли по соотношению реакционных центров характеризуются в среднем примерно трёхкратным преобладанием ФС I в пигментном аппарате над ФС II [11, 12]. Кроме того, коровая антенна ФС II по количеству хлорофилла в 2,7 раза уступает антенне ФС I [13]. Для увеличения светосбора в этих группах фототрофов вместо ЛНСII служат фикобилисомы (ФБС) – водорастворимые пигмент-белковые макрокомплексы, прилегающие к стромальной стороне тилакоидной мембраны [12, 14]. Триггером Состояний 1 и 2 у всех фотосинтетиков является степень окисления PQ-пула [15, 16]. Освещение клеток светом, поглощаемым хлорофиллом, приводит у цианобактерий и красных водорослей к активизации ФС I, уменьшению активности ФС II и увеличению окисленности PQ-пула с реализацией Состояния 1. Освещение светом, поглощаемым ФБС, увеличивая долю энергии, поступающей к ФС II, ведёт к восстановлению PQ-пула и переходу пигментного аппарата в Состояние 2. У цианобактерий предложены три основные гипотезы появления двух Состояний. 1) Обратимое перемещение ФБС по поверхности тилакоидной мембраны от коровых комплексов ФС II к коровым комплексам ФС I с соответствующим усилением или ослаблением флуоресценции каждой из фотосистем. 2) Частичное отделение ФБС от тилакоидной мембраны с увеличением расстояния между ФБС и коровыми комплексами, что приводит к снижению эффективности миграции энергии от ФБС. 3) Спилловер – перемещение пигмент-белковых комплексов ФС II и ФС I в плоскости тилакоидной мембраны с появлением латеральных контактов и прямой передачей энергии между ними (см. статью Federman et al. [17] и ссылки к ней). Допускаются также механизмы, гибридные для трёх перечисленных, а также изменения флуоресценции хлорофилла в составе коровых комплексов ФС I и ФС II за счёт их структурной перестройки [18]. Например, если у всех фототрофов комплексы ФС II в тилакоидной мембране сформированы в виде димеров, то у цианобактерий комплексы ФС I существуют в виде тримеров и мономеров, и высказано предположение, что степень тримеризации может зависеть от появления Состояний 1/2 [19].

Предлагаемые гипотезы и их возможные молекулярные механизмы оставляют много вопросов, причём последние годы изучения Состоя-

ний 1/2 характеризуются как новыми успехами, так и рядом противоречий [2]. Так, мутации у цианобактерии *Synechocystis* 6803, затрагивающие аллофикоцианиновое ядро и длинноволновые терминальные эмиттеры ArcD, ArcE и ArcF в составе ФБС, от которых энергия передаётся хлорофиллу, как и ожидалось, сказываются на флуоресценции пигментного аппарата (см., например, [20, 21]), что свидетельствует об участии ФБС в образовании Состояний 1/2, но не проясняет механизма эффекта. Гипотеза обратимого перемещения ФБС по поверхности тилакоидной мембраны в Состояниях 1/2 базируется на падении и восстановлении интенсивности флуоресценции ФБС после фотовыцветания (FRAP) [18], методе, который не свободен от артефактов, вызванных избыточной энергией используемых при этом лазеров [22]. Допускались появление и распад в тилакоидной мембране некоторой части тройных суперкомплексов (ФС I–ФБС–ФС II), что может влиять на флуоресценцию. Однако доля таких доменов в сравнении с сепаратно расположенными комплексами ФС I и ФС II очень низка, что не соответствует уровню флуоресцентных изменений, наблюдаемых для Состояний 1/2 [23]. Против гипотезы спилловера, предложенной ещё в 1969 г. [1] как причины появления Состояний 1/2, серьёзным возражением является выстраивание мембранных рядов из димеров ФС II, известное по электронным микрофотографиям [24, 25]. При этом флуоресценция ФС I должна была бы падать за счёт очевидного увеличения среднего расстояния между комплексами фотосистем, в то время как, согласно низкотемпературным спектрам, падение достоверно не регистрируется [22]. Предполагалось, что обеспечивать подвижность ФБС в Состояниях 1/2 у цианобактерий могут Ser/Thr-содержащие киназы, подобно их роли в перемещении ЛНСII у растений, но после получения всех возможных делеционных Ser/Thr-киназных мутантов у цианобактерии *Synechocystis* 6803 их участие в подобных процессах не подтвердилось [26]. Поэтому механизм передачи сигнала от пластохинонового пула остаётся неясным.

Появление Состояний 1/2 – быстро обратимый эффект, исчезающий примерно за 30 с. Классическим методом изучения двух Состояний является фиксация при 77 К стационарных спектров флуоресценции после предварительного избирательного для ФС I или ФС II освещения клеток. При возбуждении светом 440 нм низкотемпературная флуоресценция складывается из полос ФС II при 685 и 695 нм и излучения ФС I при 720–730 нм. Возбуждение образцов светом 570–590 нм добавляет к этим полосам

максимум 660 нм, принадлежащий ФБС. Амплитуда полос, принадлежащих ФБС и, возможно, ФС II при нормировании спектров по отношению к длинноволновому максимуму ФС I возрастает в Состоянии 1 в сравнении с Состоянием 2. Вопрос безотносительного изменения собственной флуоресценции каждого комплекса: ФС I, ФС II или ФБС, остаётся при этом открытым.

Вторым методом исследования Состояний 1/2 служит РАМ-флуориметрия. Основными характеристиками излучения являются минимальный уровень модулированной флуоресценции, F_0 , при полностью открытых реакционных центрах ФС II и максимальный — F_M — при насыщающих вспышках света, и изменение этих уровней под воздействием дополнительного освещения. В Состоянии 1 сигнал F_M является более интенсивным, чем наблюдаемый для Состояния 2. Регистрация излучения ведётся в спектральной области ≥ 680 нм, где вклад ФБС в суммарную флуоресценцию остаётся значительным. Поэтому РАМ-флуориметрия не позволяет однозначно решить, ФБС или хлорофилл в большей степени влияют на F_M -уровень.

Известно, что существует недооценка роли ФБС в функционировании ФС I и её участия в феномене Состояний 1/2 [12, 27, 28]. Ранее на примере красной микроводоросли *Galdieria sulphuraria* [29] с использованием спектрофлуориметрии при 77 К нам удалось показать, что в Состоянии 1 происходит обратимое отделение ФБС от мономеров ФС I, в то время как связь ФБС с ФС II остаётся неизменной. Аналогичный вывод был сделан для ФС I у цианобактерий *Synechocystis* sp. 6803 [30]. В данной работе поставлена задача выявления изменений флуоресценции в Состояниях 1/2 отдельно для коровых комплексов ФС II и ФС I, а также для фракций ФБС, связанных с каждой из фотосистем непосредственно в физиологическом состоянии клетки без понижения температуры. В этих целях нами предложен и использован новый в подобных исследованиях методический приём быстрого измерения стационарных спектров флуоресценции при комнатной температуре. Полученные данные сопоставлены с результатами РАМ-флуориметрии, данными по фотоокислению P700 (реакционного центра ФС I) и с предыдущими низкотемпературными измерениями стационарных спектров. Мы исходим из представления об универсальности молекулярного механизма Состояний 1/2 у цианобактерий и красных водорослей, обладающих сходным пигментным аппаратом. Исследование проведено параллельно для красной микроводоросли *G. sulphuraria* и цианобактерии *Arthrospira platensis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы и условия культивирования. Клетки цианобактерии *Arthrospira (Spirulina) platensis* IPPAS P-511 из коллекции ИФР РАН выращивали в 150-мл колбах при 30 °С на постоянном белом свете 40 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹ (лампы SL 20/32-735, Китай) в свежеприготовленной среде Зарука при pH 9,6 на качалке Orbital Shaker PSU-10i («Biosan», Латвия). Аксеничную культуру термоацидофильной красной микроводоросли *G. sulphuraria* (Galdieri) Merola, штамм IPPAS P-513 из коллекции ИФР РАН выращивали в тех же условиях освещения и перемешивания при 36 °С на среде Аллен, создавая pH 2,5 за счёт добавления H₂SO₄. В обоих случаях клетки осаждали мягким центрифугированием при 180 g на 5–7 дни роста, ресуспендировали и доводили до необходимой в экспериментах оптической плотности с помощью культуральной среды.

Стационарные спектры флуоресценции суспензии клеток *G. sulphuraria* и *A. platensis* измеряли при комнатной температуре на спектрофлуориметре RF-5301 PC («Shimadzu», Япония); полуширина спектральной щели для возбуждения флуоресценции хлорофилла при 435 нм и для возбуждения ФБС при 580 нм, а также для регистрируемого излучения составляла 5 нм. Оптическая плотность образцов в красном максимуме поглощения хлорофилла при 678 нм равнялась 0,1 в кювете толщиной 3 мм. Регистрация спектра в области 600–800 нм занимала 6 с, в течение которых, как показали контрольные замеры излучения, сохранялись Состояния 1/2. Каждый спектр являлся средним из трёх измерений. Суспензию клеток выдерживали 5 мин в темноте, после чего аликвоты переносили в измерительные кюветы. Здесь, а также при измерениях флуоресценции в импульсном РАМ-режиме и при регистрации фотоокисления P700 для перевода клеток в Состояние 1 использовали освещение дальним красным светом 715 нм (20 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹, 2 мин) от управляемой светодиодной лампы (High Power Led-Lamp, control unit HPL-C, «Walz», Германия). Для реализации Состояния 2 использовали свет 580 нм (80 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹, 2 мин) от галогеновой лампы KL1500 («Schott», Германия) после интерференционного фильтра BPF 580/35 (ООО «Фотооптик», Россия) и теплового фильтра («Balzers», Лихтенштейн). Свет от источников излучения подавался через дополнительное вертикальное отверстие в кюветном отделении спектрофлуориметра с помощью световода.

Флуоресценцию клеток в импульсном режиме освещения регистрировали при помощи флуоро-

метра РАМ-101 («Walz») [31]. Для определения минимального уровня флуоресценции F_0 в приборе применён частотно-модулированный свет 650 нм (< 1 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹) с регистрацией суммарного излучения для длин волн ≥ 680 нм. Для получения максимального уровня флуоресценции F_M или F_M' использовали насыщающие 1 с импульсы света интенсивностью 5000 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹ от управляемой лампы на основе светодиодов 620 нм (High Power Led-Lamp, control unit HPL-C, «Walz»).

Фотоокисление P700, реакционного центра ФС I, регистрировали по разности поглощения клеток при 810 и 870 нм на двухволновой приставке ED-P700 DW («Walz») [32], прилагаемой к РАМ-101. Измерения, как и при импульсной регистрации флуоресценции, проводили при концентрации хлорофилла в образцах 10 мкг·мл⁻¹ [31]. Интенсивности действующего света 580, 620 и 715 нм определяли, используя измеритель мощности излучения Optical Power Meter System («Thorlabs», Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Стационарные спектры флуоресценции. При возбуждении флуоресценции клеток, находящихся в Состояниях 1 или 2, учитывали области преимущественного поглощения хлорофилла и ФБС в спектрах, которые ранее неоднократно регистрировались для *G. sulphuraria* и *A. platensis* (см., например, [12, 33]). Полоса Core хлорофилла находится на участке спектра 400–440 нм; широкая полоса поглощения 625 нм принадлежит ФБС, красный пик поглощения хлорофилла расположен при 678 нм. Спектры двух исследуемых видов обладают значительным сходством за счёт одинакового состава полудисковидных ФБС, фикобилипротеинами которых являются С-фикоцианин и аллофикоцианин [12, 33].

При возбуждении светом 580 нм, поглощаемым преимущественно ФБС, спектры флуоресценции клеток *G. sulphuraria* слагаются из излучения фикобилисомной антенны с максимумом 660 нм и возникающей за счёт миграции энергии от ФБС флуоресценции хлорофилла с максимумом при 682 нм (рис. 1, а). Как и следовало ожидать, в Состоянии 1 интенсивность флуоресценции оказывается заметно больше, чем в Состоянии 2. Разностный спектр (Состояния 1 минус Состояние 2) характеризуется единственным максимумом излучения 682 нм (рис. 1, а), положение которого указывает на принадлежность изменяющегося участка спектров хлорофиллу. При возбуждении флуоресценции светом

435 нм в спектре исчезает полоса 660 нм, относимая к ФБС, и наблюдается лишь полоса хлорофилла с максимумом 682 нм (рис. 1, б). Интенсивность флуоресценции в Состоянии 2 в сравнении с Состоянием 1 понижается, как и при возбуждении светом 580 нм, но форма спектра, в отличие от рис. 1, а, остаётся почти неизменной (сравнение рис. 1, а и 1, б). Сопоставление разностного (рис. 1, а, спектр 3) и «хлорофилльного» (рис. 1, б, спектр 2) спектров показывает, что их коротковолновые склоны полностью совпадают. Это означает, что спектральные изменения, сопровождающие обратимые Состояния 1/2, обусловлены хлорофиллом, а изменения флуоресценции ФБС не происходят. Иными словами, интенсивность флуоресценции фракции ФБС, принадлежащей ФС II, при смене Состояний 1/2 сохраняется постоянной.

Излучение хлорофилла в клетке при комнатной температуре, как известно, почти полностью принадлежит ФС II [34–36]. Часть излучения (правый склон спектров, рис. 1) обусловлена флуоресценцией ФС I. Поэтому несовпадение разностного и «хлорофилльного» спектров в их длинноволновой части (рис. 1, в) указывает, что в Состоянии 2 флуоресценция ФС II падает при остающемся неизменным излучении ФС I.

Чтобы с большей достоверностью судить об отсутствии изменений во флуоресценции ФС I, а также показать, что при смене двух Состояний флуоресцентные изменения у красных водорослей и цианобактерий происходят однотипно, спектры цианобактерии *A. platensis* были измерены в условиях, аналогичных условиям, использованным для *G. sulphuraria* (рис. 2).

ФС I в пигментном аппарате *A. platensis* обладает конститутивными наиболее длинноволновыми из известных формами хлорофилла с интенсивной флуоресценцией 760 нм [37] при 77 К, максимум которой сдвигается в область 727 нм при комнатной температуре (рис. 2, б и в). Эта особенность позволяет судить о возможности изменений флуоресценции ФС I или их отсутствии, что не удаётся с полной чёткостью зарегистрировать для *G. sulphuraria*. Отсутствие полосы 727 нм в разностном спектре (рис. 2, в) позволяет утверждать, что, в отличие от ФС II, собственная флуоресценция хлорофилла ФС I при смене двух Состояний остаётся неизменной. В коротковолновом участке спектра ~650 нм также имеются различия (рис. 2, в), которые не удаётся наблюдать в случае *G. sulphuraria* (рис. 1, в) (нельзя исключить, что эта коротковолновая флуоресценция принадлежит ФБС, но это требует дополнительного исследования).

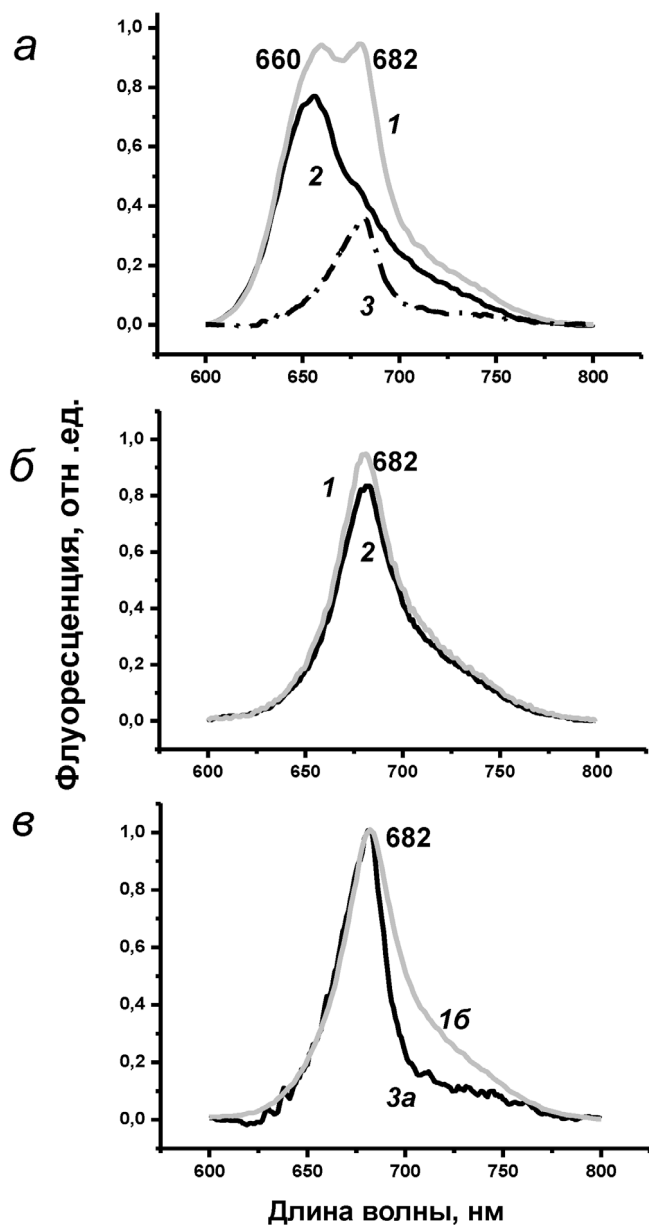


Рис. 1. Спектры флуоресценции клеток *G. sulphuraria* в Состояниях 1/2: *a* – возбуждение светом 580 нм в Состоянии 1 (1), в Состоянии 2 (2) и их разностный спектр (3); *б* – возбуждение светом 435 нм в Состоянии 1 (1) и в Состоянии 2 (2); *в* – сопоставление разностного спектра 3а (соответствует спектру 3 на панели *a*) и спектра 1б (соответствует спектру 1 на панели *б*), нормированных в максимуме 682 нм

РАМ-флуориметрия. Используемые для РАМ-измерений адаптированные к темноте клетки *G. sulphuraria* (рис. 3, *a*) и *A. platensis* (рис. 3, *б*) после освещения 2 мин светом 580 нм, 80 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹ находились в Состоянии 2. Для определения максимального уровня флуоресценции F_{M2} клетки были подвергнуты высокоинтенсивному краткому (1 с) освещению

светом 620 нм, который, как и свет 650 нм, используемый для определения F_0 , поглощается одновременно хлорофиллом и ФБС. Затем клетки были переведены в Состояние 1 после освещения их 2 мин светом 715 нм интенсивностью 20 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹. В этом случае после 1 с

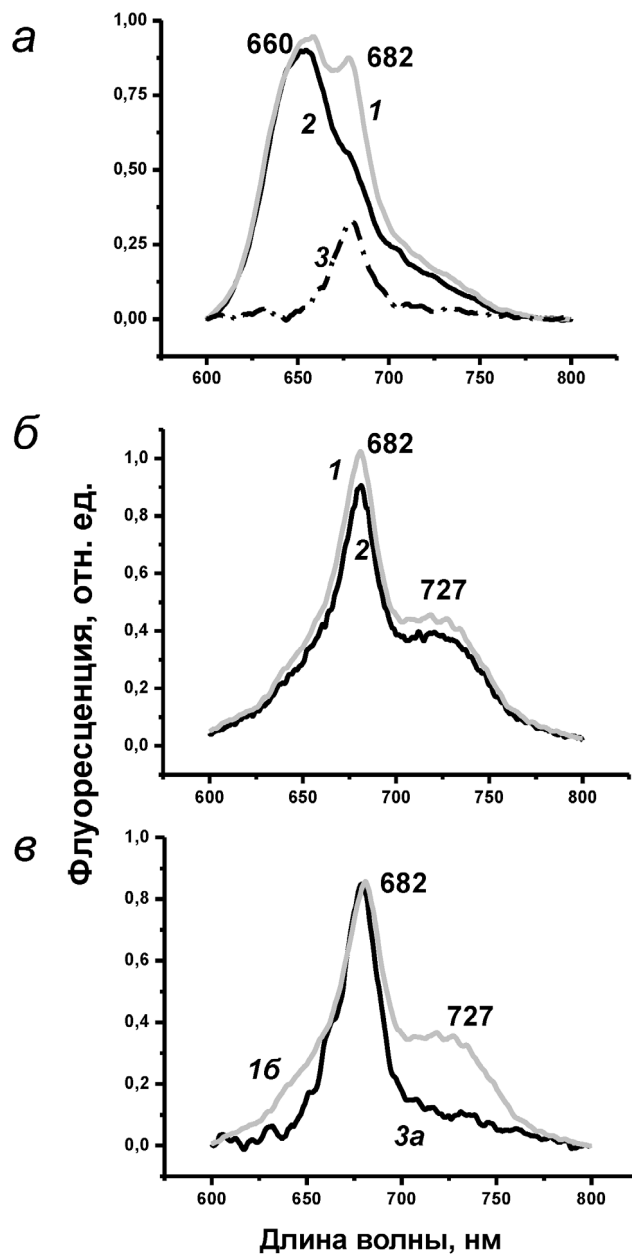


Рис. 2. Спектры флуоресценции клеток *A. platensis* в Состояниях 1/2: *a* – возбуждение светом 580 нм в Состоянии 1 (1), в Состоянии 2 (2) и их разностный спектр (3); *б* – возбуждение светом 435 нм в Состоянии 1 (1) и в Состоянии 2 (2); *в* – сопоставление разностного спектра 3а (соответствует спектру 3 на панели *a*) и спектра 1б (соответствует спектру 1 на панели *б*), нормировка в максимуме 682 нм. Стандартное отклонение интенсивности в разностных спектрах здесь и на рис. 1 $\leq 1,5\%$

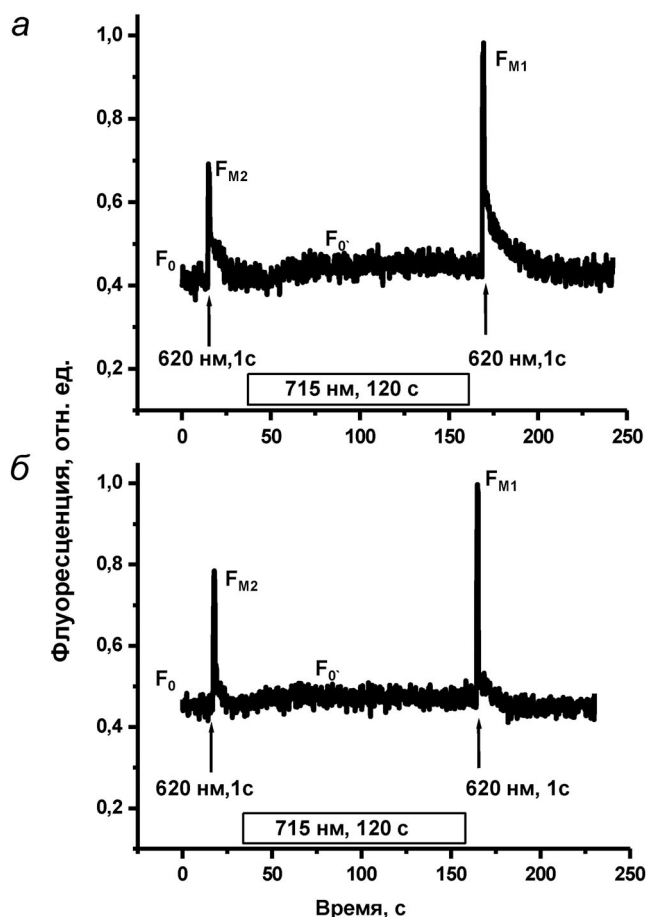


Рис. 3. РАМ-флуориметрия *G. sulphuraria* (а) и *A. platensis* (б), демонстрирующая разную интенсивность флуоресценции пигментного аппарата для клеток, находящихся в Состоянии 2 во время первой насыщающей световой вспышки (F_{M2}) и затем после перевода в Состояние 1 (F_{M1}) во время второй вспышки

вспышки света 620 нм максимальный уровень флуоресценции F_{M1} был почти вдвое выше в сравнении с уровнем F_{M2} , получаемым после вспышки той же длительности. Известное по многочисленным литературным данным некоторое увеличение значения F_0 до F_0' после насыщающей вспышки (рис. 3) пренебрежимо мало в сравнении с изменениями F_{M1} и F_{M2} [35]. Одинаковая реакция на вспышки, полученная для клеток *G. sulphuraria* (рис. 3, а) и *A. platensis* (рис. 3, б), как и в случае измерения спектров (рис. 1 и 2), указывает на однотипность процессов формирования Состояний 1/2 у цианобактерий и красных водорослей. Флуорометр РАМ-101 [35] не позволяет достоверно оценить вклад флуоресценции ФБС в регистрируемое излучение хлорофилла, однако даёт возможность сопоставить результаты флуоресцентных измерений с регистрацией степени фотоокисления Р700, характеризующей активность

ФС I при смене двух Состояний в одновременных экспериментах (Р700-приставка к флуорометру). Если вместо одиночных применяется серия насыщающих вспышек, уровни флуоресценции F_{M1} и F_{M2} снижаются за счёт появления нефотохимического тушения ФС II [2, 35, 36]. Это означает, что два световых адаптационных процесса в этих условиях реализуются одновременно. Поэтому для разграничения эффектов световой адаптации к Состояниям 1/2 и нефотохимического тушения в данной работе (рис. 3) серийные вспышки не использовались.

Фотоокисление Р700 и изменения флуоресценции. Измерения переменной и стационарной флуоресценции остаются малоинформативными в отношении активности ФС I. Как изменяется работа ФС I при переходе от Состояния 2 к Состоянию 1, когда уровень флуоресценции ФС II повышается? Сравнить изменения активности двух фотосистем в Состояниях 1/2

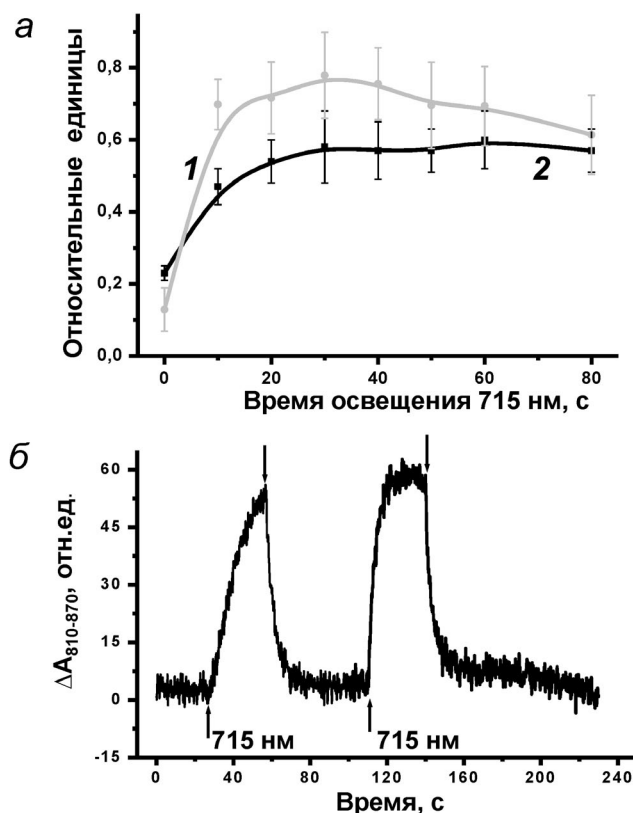


Рис. 4. Фотоокисление Р700 и переменная флуоресценция клеток *G. sulphuraria*: а — изменение относительного уровня $(\Delta A'/\Delta A_{max})$ фотоокисления Р700 (1) и выхода переменной, $\{(F_M - F_0)/F_M\}$, флуоресценции (2) в интервале времени перехода из Состояния 2 в Состояние 1 на свету 715 нм; б — кинетика фотоокисления-восстановления Р700 на свету 715 нм, регистрируемая в течение 30 с на одном образце клеток, находившихся в Состоянии 2 (первое освещение) и затем в Состоянии 1 (второе освещение). Стрелки \uparrow и \downarrow обозначают включение и выключение света

можно, сопоставляя степень фотоокисления P700, как реакционного центра ФС I, и кинетику изменения флуоресценции. Находившиеся в темноте клетки *G. sulphuraria* переводили в Состояние 2, освещая в течение 2 мин светом 580 нм, 100 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹. Затем осуществляли постепенный переход из Состояния 2 в Состояние 1, освещая образец светом 715 нм интенсивностью 20 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹, которая позволяла наблюдать кинетику перехода при увеличении времени освещения. Интервалы времени предварительного освещения светом 715 нм составляли 0 с (сразу после света 580 нм) и затем соответственно 10, 20, 30, 40, 50, 60 и 80 с; для каждой точки отсчётного времени использовали новый адаптированный к темноте образец (рис. 4, а). Относительное изменение переменной флуоресценции, $\{(F_M - F_0)/F_M\}$, регистрировали на насыщающей вспышке света 620 нм, 5000 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹ длительностью 1 с. В параллельной серии опытов активность P700 ($\Delta A'$) при переходе из Состояния 1 в Состояние 2 оценивали по отношению к максимальному уровню фотоокисления (ΔA_{\max}), достигаемому на насыщающем свете 715 нм, 3000 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹. Иными словами, свет 15 нм разной интенсивности был использован и для осуществления Состояния 1, и для фотоокисления P700. Уровень сигнала от окисленного P700 измеряли в каждой временной точке после освещения образцов светом 715 нм интенсивностью 100 мкМ фотонов·м⁻²·с⁻¹. Сравнение изменения выхода переменной флуоресценции и скорости фотоокисления P700, возможное на качественном уровне, показывает их сходное поведение (рис. 4, а). Судя по обеим временным кривым (рис. 4, а), в условиях опыта время перехода в Состояние 1 занимает ~30 сек. Поэтому применяемое нами во флуоресцентных экспериментах (рис. 1–3) предварительное двухминутное освещение светом 715 нм гарантировало смену Состояний 1/2. Хотя для количественных оценок экспериментальные данные недостаточны, очевидно, что увеличение флуоресценции ФС II после освещения 715 нм коррелирует с возрастанием скорости фотоокисления P700, т.е. с возрастанием активности ФС I. Это возможно только за счёт интенсификации циклического транспорта электрона в ФС I, осуществляемого без поступления электронов по цепи линейного транспорта от ФС II.

Если последовательно рассмотреть кинетику фотоокисления P700 в течение 30 с, достаточных для фотоокисления (рис. 4, а) на одном образце клеток, находившихся в Состоянии 2, сразу после включения действующего света 715 нм

и затем повторив освещение, то окажется, что кинетика процесса в первом случае характеризуется относительно медленным окислением и восстановлением реакционного центра, но уже повторное освещение приводит к ускорению обоих процессов (рис. 4, б). Данное обстоятельство означает активизацию фотоокисления P700 и накопление катион-радикала P700⁺ за счёт увеличения интенсивности циклического транспорта электрона в ФС I и передачи электрона к первичному внешнему акцептору, которым, как известно, является ферредоксин [38, 39].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данном исследовании рассмотрены адаптационные изменения пигментного аппарата, происходящие в Состояниях 1/2 у красной микроводоросли *G. sulphuraria* и цианобактерии *A. platensis*, которые принадлежат к двум разным группам фотосинтетиков, имеющих фикобилисомную антенну. Кроме наличия ФБС, сходство пигментного аппарата *G. sulphuraria* и *A. platensis*, как у всех красных водорослей и цианобактерий, заключается в присутствии в тилакоидных мембранах димеров ФС II и мономеров ФС I. Наряду с мономерами у цианобактерий имеются тримеры ФС I; у красных водорослей мономеры ФС I обладают дополнительной хлорофилл *a*-содержащей антенной, Lhcg-протеином [40]. Как показали проведённые эксперименты, световые адаптации к Состояниям 1/2 протекают для красных водорослей и цианобактерий одинаковым образом. Логично предположить, что пигмент-белковые комплексы, которыми различаются виды, а именно тримеры ФС I и Lhcg-протеин, играют второстепенную роль в данном феномене.

Эффективность миграции энергии от ФБС к хлорофиллу, принадлежащему двум фотосистемам, близка к 100% [41]. При исследовании Состояний 1/2 наиболее важным остаётся вопрос о том, флуоресценция какого из пигмент-белковых комплексов и по каким причинам меняется в ходе освещения клеток светом разного спектрального состава. При комнатной температуре флуоресценция ФБС, принадлежащих ФС I, не должна наблюдаться [36], так как перенос энергии от ФБС происходит быстрее, чем её излучение, а собственная флуоресценция ФС I минимальна (рис. 1 и 2). Поэтому регистрируемая при комнатной температуре флуоресценция с полосой 660 нм (рис. 1 и 2) относится к клеточной фракции ФБС, связанных с ФС II. Излучение ФБС, связанных с ФС I, ясно проявляется только при низкой температуре 77 К [2, 29, 36].

Ранее благодаря низкотемпературным спектрам удалось показать, что в Состоянии 1 у красных водорослей [29] и цианобактерий [30] происходит отделение ФБС от ФС I с нарушением миграции энергии между ними. Частичное разобщение ФС I со своей фикобилисомной антенной возникает без перемещения ФБС к димерам ФС II [29, 30]. В Состоянии 2 протекает обратный процесс с быстрым восстановлением миграции.

При 77 К совпадение спектральных свойств двух фракций ФБС, принадлежащих каждой из фотосистем, не даёт возможности сделать однозначное заключение о роли ФБС, относящихся к ФС II. Нам впервые удалось выявить различия Состояний 1 и 2 в стационарных спектрах флуоресценции цианобактерий и красных водорослей при комнатной температуре. В Состоянии 1 происходит увеличение, а в Состоянии 2 — уменьшение флуоресценции хлорофилла ФС II (рис. 1 и 2). Указанием на это ранее служило измерение 77 К спектров цианобактерий при недостаточно точном сравнении с флуоресценцией добавляемого к образцам клеток внутреннего стандарта, флуоресцеина или родамина [42, 43]. Флуоресценция ФБС, связанных с ФС II, в отличие от флуоресценции хлорофилла, в ходе смены двух Состояний оказалась неизменной. Сохраняющееся постоянство флуоресценции ФБС, связанных с ФС II, очевидным образом противоречит возможности перемещения фикобилисомной макроантенны от ФС II к ФС I. Кроме того, требуется обоснование вряд ли возможного молекулярного механизма, способного к перемещению в плоскости мембраны белковых макрокомплексов массой в несколько млн дальтон, какими являются ФБС [2, 14, 18]. Спилловер, как ещё одно возможное объяснение Состояний 1/2, предполагает, что за счёт возникновения прямого контакта между комплексами двух фотосистем уменьшение флуоресценции хлорофилла ФС II должно сопровождаться передачей возбуждения и увеличением флуоресценции в ФС I, и наоборот. Постоянство флуоресценции в полосе 727 нм, относящейся у *A. platensis* к хлорофиллу ФС I, в то время как в полосе 682 нм, принадлежащей ФС II, при переходах между Состояниями происходят изменения интенсивности (рис. 2), означает отсутствие спилловера.

Схема процессов, протекающих в ФС II при смене Состояний 1/2 в пигментном аппарате, представлена на рис. 5. Постоянство флуоресценции ФБС (рис. 1 и 2) означает, что миграция энергии от ФБС к ФС II в обоих Состояниях сохраняется на одном уровне, что возможно при неизменности контакта между ФБС и димером

ФС II. Плоская поверхность и соответствие площади димера ФС II размерам ядра ФБС стабилизируют два макрокомплекса [14, 44, 45]. Их тесное взаимодействие обеспечивает синхронность формирования рядов, которые состоят из димеров ФС II, ясно различимых в Состоянии 1 на горизонтальных сколах тилакоидных мембран, и рядов, образуемых ФБС на мембранной поверхности тилакоида [24, 25]. Значение подобной топологии оставалось неясным, и лишь недавно было показано, что формирование рядов обеспечивает в них тесную состыковку соседних димеров ФС II, при которой между ними возможен обмен энергией [46]. Миграция возбуждения в рядах после поглощения кванта света, как установлено [47], увеличивает среднее время жизни возбуждённого состояния для антенного хлорофилла ФС II и подразумевает наблюдаемые (рис. 1 и 2) изменения флуоресценции. Поскольку предполагавшееся участие киназно-фосфатазной системы в реализации Состояний 1/2 у цианобактерий не нашло подтверждения [26], остаётся вопрос о возможных причинах изменения плоскостной геометрии (рис. 5, в и г) димеров ФС II в мембране тилакоидов. В Состоянии 1 при снижении активности ФС II происходит уменьшение притока электронов к пластохинону, что позволяет сбалансировать скорости восстановления и окисления переносчиков электронов между фотосистемами. В этих условиях возникает трансмембранный электрохимический потенциал (необходимый для синтеза АТФ), который образуется в результате разделения зарядов между наружной и внутренней сторонами тилакоидной мембраны. Такое состояние энергизации мембраны соответствует появлению рядов, состоящих из димеров ФС II, за которыми следуют связанные с ними ФБС, также формирующие ряды на поверхности мембраны. На свету, поглощаемом ФБС (Состояние 2), за счёт активизации ФС II возрастает приток электронов к пластохиноновому пулу, вызывая обратный процесс расформирования рядов и появление диффузно расположенных ФБС и ФС II с уменьшением уровня флуоресценции. Воздействие на то или иное расположение в мембране возможно благодаря наличию в составе полипептидов ФС II большого числа несущих заряд поверхностных аминокислотных остатков [48]. Количественные оценки эффекта для столь крупных белковых комплексов, какими являются димеры ФС II, вероятно, станут возможны в будущем.

Контактное взаимодействие ФБС с мономерами ФС I осуществляется в узком участке поверхности между двумя нижними цилиндрами ядра ФБС (рис. 6 и подробно в статье Zlenko et al.

[44]). Три гидрофильные полипептидные субъединицы, PsaC, PsaD и PsaE, образуют на стромальной поверхности комплекса ФС I объёмный микровыступ размером 3 нм, который идеально подходит своей формой к пространственной щели между двумя нижними цилиндрами аллофиоцианина в ядре ФБС [44]. Контакт между ядром ФБС и ФС I в стерической белковой модели столь тесен, что обеспечивает расстояние между терминальными эмиттерами ФБС и ближайшими хлорофиллами в составе ФС I, которое достаточно для переноса энергии возбуждения от антенны [44]. Фосфорилирование линкерных белков и терминального эмиттера Арс Е [49] создаёт на поверхности ФБС отрицательный заряд, в то время как стромальная поверхность комплекса ФС I в области микровыступа заряжена положительно [50], что обес-

печивает электростатическое взаимодействие с ФБС (рис. 6). Тот же (PsaC–PsaD–PsaE)-выступ не позволяет ФБС вступать в контакт с тримерами ФС I из-за несовпадения их трёхмерной симметрии и билатеральной симметрии ядра ФБС [44]. Отсутствие тримеров у красных водорослей поэтому не влияет на возможность использования фикобилисомной антенны в ФС I, а у цианобактерий присутствие мономеров и тримеров ФС I служит способом регулировать соотношение фракций ФБС в составе ФС II и ФС I.

Ферредоксин, как первичный акцептор электрона в ФС I, является небольшим белком массой 11 кДа с поверхностным отрицательным зарядом, что позволяет ему размещаться в той же поверхностной области ФС I, что и ФБС [50]. Приобретая электроны от P700, ферредоксин

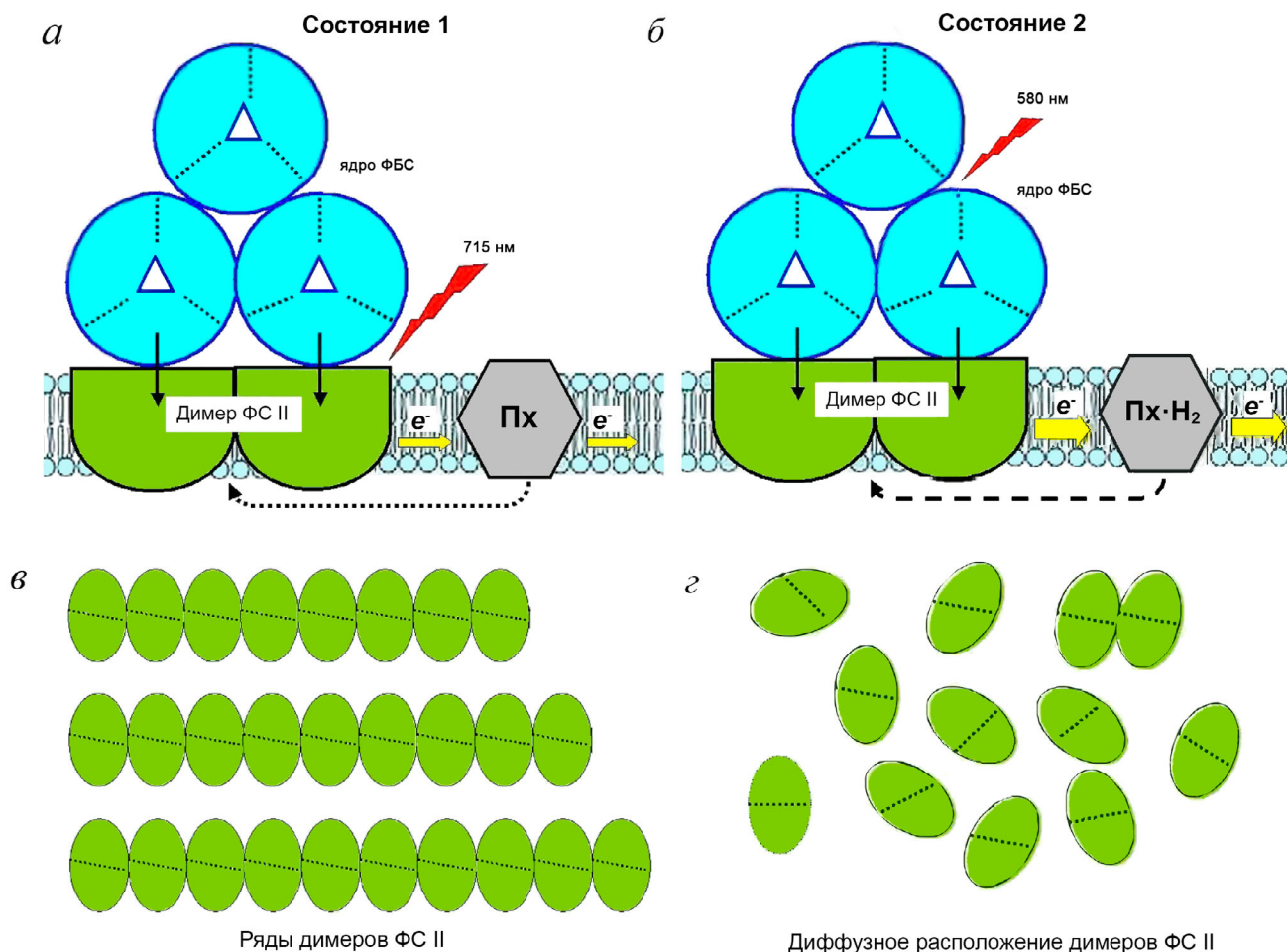


Рис. 5. Пигментный аппарат ФС II в Состояниях 1/2 (а и б). Черные стрелки обозначают миграцию энергии от ядра ФБС к димеру ФС II; красные стрелки – возбуждающий свет для перевода клеток в Состояние 1 (715 нм) и в Состояние 2 (580 нм); горизонтальные жёлтые стрелки разной толщины – линейный транспорт электрона; пунктирные стрелки – влияние окисленной (Pq) и восстановленной (PqH₂) форм пластохинона на димеры ФС II. в – Расположение димеров ФС II в плоскости тилакоидной мембраны в виде рядов в Состоянии 1 и неупорядоченное расположение в Состоянии 2 (г)

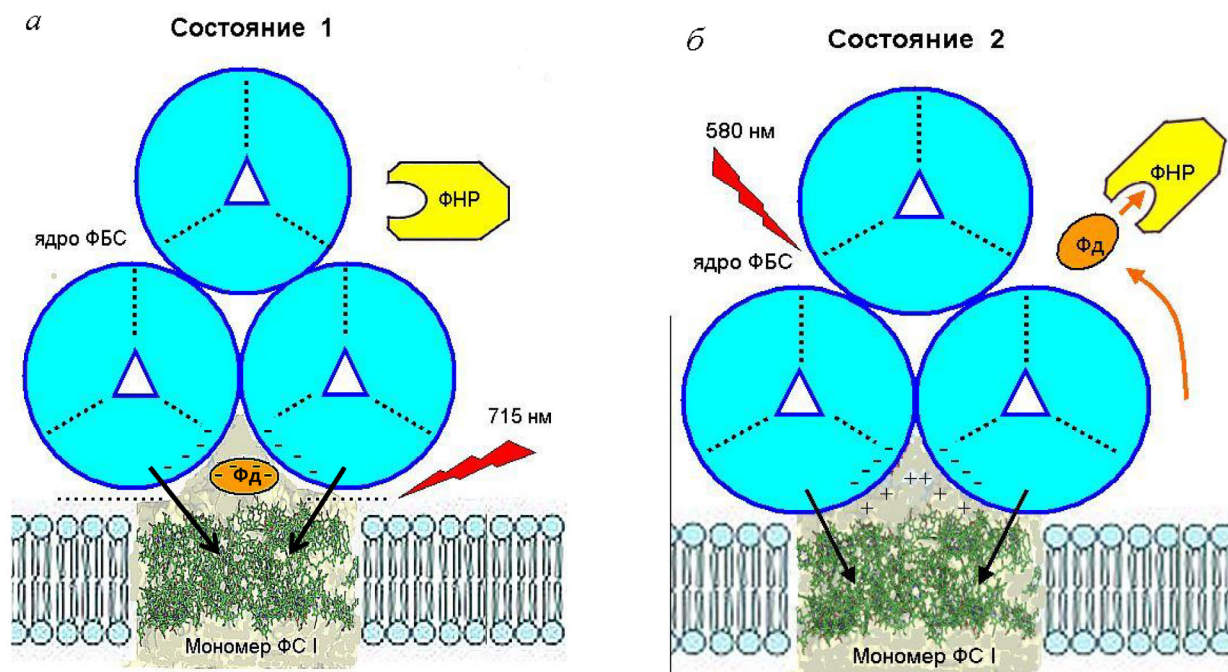


Рис. 6. Изменения в пигментном аппарате ФС I, сопровождающие переходные Состояния 1 (а) и 2 (б). Черные стрелки обозначают миграцию энергии от ядра ФБС к мономеру ФС I, красные стрелки – возбуждающий свет, горизонтальный пунктир на панели а обозначает расхождение ФБС и ФС I, уменьшающее миграцию; Фд – ферредоксин, ФНР – ферредоксин-НАДФ⁺ редуکتаза

покидает поверхность ФС I, присоединяясь к ферредоксин-НАДФ⁺ оксидоредуктазе, связанной с ФБС, принадлежащей ФС I [51, 52]. В Состоянии 1, когда снижается поток электронного транспорта от ФС II, уменьшается и поступление получающих электроны молекул ферредоксина к ферредоксин-НАДФ⁺ оксидоредуктазе. Одноименные отрицательные поверхностные заряды ферредоксина и ядра ФБС приводят к эффекту расхождения ФБС и мономера ФС I и соответствующему возрастанию флуоресценции ФБС (рис. 6, а). В отличие от ФС II, расхождение возможно, так как контактная поверхность ФБС и ФС I меньше, чем в случае ФС II, а ферредоксин с его поверхностным зарядом является принадлежностью лишь ФС I. Подобно ФС II, переход между Состояниями 1/2 не требует для ФС I дополнительных затрат энергии АТФ пигментным аппаратом и автоматически регулируется соотношением долей линейного и циклического транспорта электронов.

В данной работе продемонстрирована универсальность проявления феномена Состояний 1/2 у красных водорослей и цианобактерий. В итоге работы можно утверждать, что две фракции ФБС, входящие в состав пигментного аппарата

ФС I и ФС II, при смене Состояний 1/2 ведут себя по-разному. Связь ФБС с ФС II остаётся постоянной независимо от того, в Состоянии 1 или в Состоянии 2 находится клетка. В то же время ранее полученные нами [29] и в работе Chukhutsina et al. [30] при 77 К сведения указывают на то, что в Состоянии 1 происходит обратимое отделение ФБС от ФС I. Различными являются также изменения флуоресценции собственных хлорофильных комплексов ФС I и ФС II. Выявлено, что в Состоянии 2 в сравнении с Состоянием 1 уменьшается флуоресценция хлорофилла ФС II, в то время как флуоресценция ФС I остаётся на постоянном уровне. Полученные результаты позволили предложить интерпретацию происходящих флуоресцентных изменений, как результат обратимого формирования рядов димерами ФС II в плоскости мембран тилакоидов и зависимо от активности ферредоксина транспорта электронов в ФС I.

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

- Mullineaux, C. W., and Emlyn-Jones, D. (2005) State transitions: an example of acclimation to low-light stress, *J. Exp. Bot.*, **56**, 389-393.
- Calzadilla, P. I., and Kirilovsky, D. (2020) Revisiting cyanobacterial state transitions, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **19**, 585-603.
- Murata, N. (1969) Control of excitation transfer in photosynthesis. I. Light-induced change of chlorophyll *a* fluorescence in *Porphyridium cruentum*, *Biochim. Biophys. Acta*, **172**, 242-251.
- Bonaventura, C., and Myers, J. (1969) Fluorescence and oxygen evolution from *Chlorella pyrenoidosa*, *Biochim. Biophys. Acta*, **189**, 366-383.
- Minagawa, J. (2011) State transitions – The molecular remodeling of photosynthetic supercomplexes that controls energy flow in the chloroplast, *Biochim. Biophys. Acta*, **1807**, 897-905.
- Lemeille, S., and Rochaix, J.-D. (2010) State transitions at the crossroad of thylakoid signalling pathways, *Photosynth. Res.*, **106**, 33-46.
- Pesaresi, P., Pribil, M., Wunder, T., and Leister, D. (2011) Dynamics of reversible protein phosphorylation in thylakoids of flowering plants: the roles of STN7, STN8 and TAP38, *Biochim. Biophys. Acta*, **1078**, 887-896.
- Kanervo, E., Suorsa, M., and Aro, E.-A. (2005) Functional flexibility and acclimation of the thylakoid membrane, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **4**, 1072-1080.
- Dumas, L., Zito, F., Blangy, S., Auroy, P., Johnson, X., et al. (2017) A stromal region of cytochrome *b₆f* subunit IV is involved in the activation of the Stt7 kinase in *Chlamydomonas*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 12063-12068.
- Ruban, A. V., and Johnson, M. P. (2009) Dynamics of the photosystems cross-section associated with the state transitions in higher plants, *Photosynth. Res.*, **99**, 173-183.
- Golbeck, J. H. (1994) in *The Molecular Biology of Cyanobacteria* (Bryant, D. A., ed.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 320-354.
- Rakhimberdieva, M. G., Boichenko, V. A., Karapetyan, N. V., and Stadnichuk, I. N. (2001) Interaction of phycobilisomes with photosystem II dimers and photosystem I monomers and trimers in the cyanobacterium *Spirulina platensis*, *Biochemistry*, **40**, 15780-15788.
- Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J. R., and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å, *Nature*, **473**, 55-60.
- Bald, D., Kruij, J., and Rögner, M. (1996) Supramolecular architecture of cyanobacterial thylakoid membranes: how is the phycobilisome connected with the photosystems? *Photosynth. Res.*, **49**, 103-118.
- Mullineaux, C. W., and Allen, J. F. (1990) State 1-State 2 transitions in the cyanobacterium *Synechococcus* 6301 are controlled by the redox state of electron carriers between photosystems I and II, *Photosynth. Res.*, **23**, 297-311.
- Ogawa, T., Harada, T., Ozaki, H., and Sonoike, K. (2013) Disruption of the *ndhF1* gene affects chlorophyll fluorescence through state transition in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, resulting in apparent high efficiency of photosynthesis, *Plant Cell Physiol.*, **54**, 1164-1171.
- Federman, S., Malkin, S., and Scherz, A. (2000) Excitation energy transfer in aggregates of photosystem I and photosystem II of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803: can assembly of the pigment-protein complexes control the extent of spillover? *Photosynth. Res.*, **64**, 199-207.
- Mullineaux, C. W. (2008) Phycobilisome-reaction centre interaction in cyanobacteria, *Photosynth. Res.*, **95**, 175-182.
- Li, H., Li, D., Yang, S., Xie, J., and Zhao, J. (2006) The state transition mechanism – simply depending on light- and -off in *Spirulina platensis*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1757**, 1512-1519.
- Dong, C., Tang, A., Zhao, J., Mullineaux, C. W., Shen, G., and Bryant, D. A. (2009) ApcD is necessary for efficient energy transfer from phycobilisomes to photosystem I and helps to prevent photoinhibition in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002, *Biochim. Biophys. Acta*, **1787**, 1122-1128.
- Zlenko, D. V., Elanskaya, I. V., Lukashev, E. P., Bolychevtseva, Y. V., Suzina, N. E., et al. (2019) Role of the PB-loop in ApcE and phycobilisome core function in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, *Biochim. Biophys. Acta*, **1860**, 155-166.
- McConnell, M. D., Koop, R., Vasil'ev, S., and Bruce, D. (2002) Regulation of the distribution of chlorophyll and phycobilin-absorbed excitation energy in cyanobacteria. A structure-based model for the light state transition, *Plant Physiol.*, **130**, 1201-1212.
- Strašková, A., Steinbach, G., Konert, G., Kotabová, E., Komenda, J., et al. (2019) Pigment-protein complexes are organized into stable microdomains in cyanobacterial thylakoids, *Biochim. Biophys. Acta*, **1860**, 1-15.
- Wollman, F. A. (1979) Ultrastructural comparison of *Cyanidium caldarium* wild type and III-C mutant lacking phycobilisomes, *Plant Physiol.*, **63**, 375-381.
- Mörschel, E., and Schatz, G. H. (1987) Correlation of photosystem-II complexes with exoplasmatic freeze-fracture particles of thylakoids of the cyanobacterium *Synechococcus*, *Planta*, **1723**, 145-154.
- Calzadilla, P. I., Zhan, J., Sétif, P., Lemaire, C., Solymsi, D., et al. (2019) The cytochrome *b₆f* complex is not involved in cyanobacterial state transitions, *Plant Cell*, **31**, 911-931.
- Liu, H., Zhang, H., Niedzwiedzki, D. M., Prado, M., He, G., et al. (2013) Phycobilisomes supply excitations to both photosystems in a megacomplex in cyanobacteria, *Science*, **342**, 1104-1107.
- Mullineaux, C. W. (1992) Excitation energy transfer from phycobilisomes to Photosystem I in a cyanobacterium, *Biochim. Biophys. Acta*, **1100**, 285-292.
- Stadnichuk, I. N., Bulychev, A. A., Lukashev, E. P., Sinetova, M. P., Khristin, M. S., et al. (2011) Far-red light-regulated efficient energy transfer from phycobilisomes to photosystem I in the red microalga *Galdieria sulphuraria* and photosystems-related heterogeneity of phycobilisome population, *Biochim. Biophys. Acta*, **1807**, 227-235.
- Chukhutsina, V., Bersanini, L., Aro, E. M., and Van Amerongen, H. (2015) Cyanobacterial light-harvesting phycobilisomes uncouple from photosystem I during dark-to-light transitions, *Sci. Rep.*, **5**, 1-10.
- 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.
- Rögner, M., Mühlenhoff, U., Boekema, E. J., and Witt, H. (1990) Mono-, di- and trimeric PSI reaction center complexes isolated from the thermophilic cyanobacterium *Synechococcus* sp.: size, shape and activity, *Biochim. Biophys. Acta*, **1015**, 415-424.
- Stadnichuk, I. N., Rakhimberdieva, M. G., Boichenko, V. A., Bolychevtseva, Yu. V., Karapetyan, N. V., and Selyakh, I. O. (2000) Glucose-induced inhibition of the photosynthetic pigment apparatus in heterotrophically grown alga *Galdieria*, *Rus. J. Plant Physiol. Engl. Transl.*, **47**, 585-592.
- Acuña, A. M., Snellenburg, J. J., Gwizdala, M., Kirilovsky, D., van Grondelle, R., and van Stokkum, I. H. M. (2016) Resolving the contribution of the uncoupled phycobilisomes to cyanobacterial pulse-ampli-

- tude modulated (PAM) fluorometry signals, *Photosynth. Res.*, **127**, 91-102.
35. Campbell, D., Hurry, V., Clarke, A. K., Gustafsson, P., and Öquist, G. (1998) Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **62**, 667-683.
 36. Remelli, W., and Santabarbara, S. (2018) Excitation and emission wavelength dependence of fluorescence spectra in whole cells of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803: influence on the estimation of Photosystem II maximal quantum efficiency, *Biochim. Biophys. Acta*, **1859**, 1207-1222.
 37. Shubin, V. V., Murthy, S. D. S., Karapetyan, N. V., and Mohanty, P. (1991) Origin of the 77 K variable fluorescence at 758 nm in the cyanobacterium *Spirulina platensis*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1060**, 28-36.
 38. Matthijs, H. C. P., Jeanjean, R., Yermenko, N., Huisman, J., Joset, F., and Hellingwerf, K. J. (2002) Hypothesis: versatile function of ferredoxin-NADP⁺ reductase in cyanobacteria provides regulation for transient photosystem I-driven cyclic electron flow, *Funct. Plant Biol.*, **29**, 201-210.
 39. Alcantara-Sanchez, F., Leyva-Castillo, L. E., Lopez, C., de la Vara L. G., and Gómez-Lojero, C. (2017) Distribution of isoforms of ferredoxin-NADP⁺ reductase (FNR) in cyanobacteria in two growth conditions, *Intern. J. Biochem. Cell Biol.*, **85**, 123-134.
 40. Tian, L., Liu, Z., Wang, F., Shen, L., Chen, J., et al. (2017) Isolation and characterization of PSI-LHCI super-complex and their sub-complexes from a red alga *Cyanidioschyzon merolae*, *Photosynth. Res.*, **133**, 201-214.
 41. Glazer, A. N. (1989) The light guide. Directional energy transfer in a photosynthetic antenna, *J. Biol. Chem.*, **264**, 1-4.
 42. El Bissati, K., Delphin, E., Murata, N., Etienn, A.-L., and Kirilovsky, D. (2000) Photosystem II fluorescence quenching in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803: involvement of two different mechanisms, *Biochim. Biophys. Acta*, **1457**, 229-242.
 43. Stadnichuk, I. N., Lukashov, E. P., and Elanskaya, I. V. (2009) Fluorescence changes accompanying short-term light adaptations in photosystem I and photosystem II of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 and phycobiliprotein-impaired mutants: state 1/state2 transitions and carotenoid-induced quenching of phycobilisomes, *Photosynth. Res.*, **99**, 227-241.
 44. Zlenko, D. V., Krasilnikov, P. M., and Stadnichuk, I. N. (2016) Structural modeling of the phycobilisome core and its association with the photosystems, *Photosynth. Res.*, **130**, 347-356.
 45. Krasilnikov, P. M., Zlenko, D. V., and Stadnichuk, I. N. (2020) Rates and pathways of energy migration from the phycobilisome to the photosystem II and to the orange carotenoid protein in cyanobacteria, *FEBS Lett.*, **594**, 1145-1154.
 46. Zlenko, D. V., Galochkina, T. V., Krasilnikov, P. M., and Stadnichuk, I. N. (2017) Coupled rows of PBS cores and PSII dimers in cyanobacteria: symmetry and structure, *Photosynth. Res.*, **133**, 245-260.
 47. Voloshina, O. V., Bolychevtseva, Y. V., Kuzminov, F. I., Gorbunov, M. Y., Elanskaya, I. V., and Fadeev, V. V. (2016) Photosystem II activity of wild type *Synechocystis* PCC 6803 and its mutants with different plastoquinone pool redox state, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 858-870.
 48. Karge, O., Bondar, A. N., and Dau, H. (2014) Cationic screening of charged surface groups (carboxylates) affects electron transfer steps in photosystem-II water oxidation and quinone reduction, *Biochim. Biophys. Acta*, **1837**, 1625-1634.
 49. Piven, I., Ajlani, G., and Sokolenko, A. (2005) Phycobilisome linker proteins are phosphorylated in *Synechocystis* sp. PCC 6803, *J. Biol. Chem.*, **280**, 21667-21672.
 50. Nelson, N., and Junge, W. (2015) Structure and energy transfer in photosystems of oxygenic photosynthesis, *Annu. Rev. Biochem.*, **84**, 659-683.
 51. Morsy, F. M., Nakajima, M., Yoshida, T., Fujiwara, T., Sakamoto, T., and Wada, K. (2008) Subcellular localization of ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase in phycobilisome retaining oxygenic photosynthetic organisms, *Photosynth. Res.*, **95**, 73-85.
 52. Vershubskii, A. V., Mishanin, V. I., and Tikhonov, A. N. (2014) Modeling of the Photosynthetic electron transport regulation in cyanobacteria, *Biochemistry (Moscow) Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.*, **8**, 262-278.

STATE 1 AND STATE 2 IN THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF RED MICROALGAE AND CYANOBACTERIA

Yu. V. Bolychevtseva^{1*}, I. V. Tropin², and I. N. Stadnichuk³

¹ *Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, 119071 Moscow, Russia; E-mail: bolychev1@yandex.ru*

² *Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*

³ *Timiryasev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, 127726 Moscow, Russia*

Light absorption of different intensity and quality by photosystem I (PSI) and photosystem II (PSII) gives rise to changes of intersystem electron transport diminishing the effectiveness of photosynthesis. In plants and green algae, this redox imbalance is loosened by molecular mechanism called State 1/State 2 transitions which trigger the movement of the light-harvesting LHClI antenna and change the fluorescence properties of the pigment apparatus. Contrary, in phycobilisome (PBS)-containing photosynthetics, cyanobacteria and red algae, the cause of State 1/State 2 transitions is not well understood. None of published hypothesis of spillover, of lateral reversible PBS migration from PSI to the PSII, and the PBS detachment from the surface of PSII do not explain completely the sum of fluorescence data. Here, we demonstrate the possibility of State 1/State 2 measurements using stationary fluorescence spectra at the room temperature that remove the existing contradictions. It was estimated that in State II the fluorescence of PSII dimers in thylakoids diminished reversibly while the fluorescence of PBS connected with the PSII stayed unchanged. The increase of PSI fluorescence in State I is due to the detachment of PBS from the surface of PSI monomers. The rate of fluorescence changes is regulated by the redox state of plastoquinone and ferredoxin pools together with the rate of linear and cyclic electron transport.

Keywords: State 1, State 2, fluorescence, photosystem I, photosystem II, phycobilisome(s), chlorophyll