

УДК 577.3

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССАХ ФОТОСИНТЕЗА

### Обзор

© 2022 Г.Ю. Ризниченко<sup>1\*</sup>, Н.Е. Беляева<sup>1</sup>, И.Б. Коваленко<sup>1</sup>, Т.К. Антал<sup>2</sup>,  
С.Н. Горячев<sup>1</sup>, А.С. Маслаков<sup>1</sup>, Т.Ю. Плюснина<sup>1</sup>, В.А. Федоров<sup>1</sup>, С.С. Хрущев<sup>1</sup>,  
О.В. Яковлева<sup>1</sup>, А.Б. Рубин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет,  
119234 Москва, Россия; электронная почта: riznich46@mail.ru

<sup>2</sup> Псковский государственный университет, 180000 Псков, Россия

Поступила в редакцию 22.06.2022

После доработки 15.08.2022

Принята к публикации 15.08.2022

Представлен обзор математических моделей электронного транспорта и сопряженных процессов в фотосинтетической мембране, разработанных на кафедре биофизики биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Описаны детальные кинетические модели процессов в мембране тилакоида на основе аппарата дифференциальных уравнений. Фитирование модельных кривых по данным спектральных измерений позволило оценить значения параметров, недоступных прямому экспериментальному измерению. Вероятностный метод агентного моделирования Монте-Карло представляет широкие возможности для изучения динамики гетерогенных систем на основе правил поведения индивидуальных элементов системы. Алгоритмы упрощенного представления больших массивов данных позволили в динамике проследить за изменениями фотосинтетического аппарата в ходе роста культуры в фотобиореакторе и в целях экологического мониторинга. С помощью броуновских и молекулярных моделей описано движение и взаимодействие индивидуальных белков – переносчиков электронов, и изучена роль электростатических взаимодействий в регуляции конформационных изменений в реакционных комплексах. Разработанные нами прямые многочастичные модели в явном виде моделируют броуновскую диффузию подвижных белковых переносчиков и их электростатические взаимодействия с мультиферментными комплексами как в растворе, так и в гетерогенном интерьере биомембраны. Совместное использование методов кинетического и броуновского многочастичного и молекулярного моделирования позволяет изучать механизмы регуляции целостной системы электрон-транспортных процессов растений и водорослей на молекулярном и субклеточном уровнях.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** фотосинтез, электронный транспорт, флуоресценция, кинетические модели, броуновские многочастичные модели, молекулярное моделирование.

**DOI:** 10.31857/S0320972522100037, **EDN:** BBSUGZ

### ВВЕДЕНИЕ

Живые системы представляют собой далекие от термодинамического равновесия открытые по веществу и энергии системы. В фотосинтетической мембране происходит поглощение энергии света, инициирующей сложную совокупность взаимодействующих процессов, в основе которых лежит электронный транспорт

по так называемой фотосинтетической цепи переносчиков электрона. На первых этапах окисление фотоактивного пигмента приводит к разделению зарядов и первичному запасанию энергии в виде трансмембранного электрического потенциала. Дальнейший перенос электрона по фотосинтетической цепи сопряжен с транспортом протонов и образованием трансмембранного электрохимического потенциала.

Принятые сокращения: МЭА – метод мультиэкспоненциальной аппроксимации; Cyt  $b_6f$  – цитохромные комплексы; Fd – ферредоксин; FNR – ферредоксин-NADP<sup>+</sup>-редуктаза; Pс – пластоцианин; PQ – пластохинон; PSI и PSII – мультиферментные комплексы фотосистем I и II.

\* Адресат для корреспонденции.

Образованные в результате линейного электронного транспорта восстановленные соединения NADPH являются важнейшими кофакторами цикла фиксации углерода Кальвина–Бенсона, протоны, «закачанные» в люминальное пространство используются молекулярной машиной, АТФ-синтазой, для синтеза АТФ из ADP и неорганического фосфата [1–10].

Математические и компьютерные модели дают возможность оценивать значения параметров фотосинтетического аппарата по данным экспериментов и изучать механизмы регуляции процессов трансформации вещества и энергии при фотосинтезе. Для первичных процессов фотосинтеза экспериментально определены константы скоростей отдельных элементарных стадий как в растворах, так и в нативных системах [10]. Кинетику переноса электронов по фотосинтетической цепи и сопряженных процессов преобразования энергии в фотосинтетической мембране можно непосредственно регистрировать при возбуждении короткими мощными вспышками света с помощью спектральных методов (дифференциальная спектроскопия, флуоресцентные методы, метод электронного парамагнитного резонанса). Эти методы позволяют в реальном времени определять скорости быстрых изменений состояний отдельных компонентов системы в начальных стадиях фотосинтеза. Возможность непосредственной оценки констант скоростей элементарных реакций является существенным преимуществом системы первичных процессов фотосинтеза по сравнению с большинством биологических процессов, для которых определение констант скоростей отдельных стадий реакций представляется сложной задачей. Так, регистрируемая в биохимических экспериментах кинетика обычных ферментативных реакций отражает лишь этапы образования и распада фермент-субстратных комплексов (но не элементарных взаимодействий в них), которые протекают по квантово-химическим механизмам в наносекундном временном диапазоне.

Основные участники процесса фотосинтетического электронного транспорта – мультиферментные комплексы фотосистемы II (PSII), цитохромные комплексы (Cyt  $b_6f$ ), комплексы фотосистемы I (PSI) – встроены в бислойную липидную мембрану и обеспечивают направленный перенос электрона через фотосинтетическую мембрану (рис. 1). Посредниками между Cyt  $b_6f$  и PSI являются молекулы белка пластоцианина (Pc), диффундирующие в люмене. Восстановление молекул NADP, необходимых в цикле фиксации углерода, осуществля-

ют подвижные в строге молекулы небольшого белка ферредоксина (Fd). В последние годы методами электронной томографии и криогенной микроскопии активно изучается сложная форма гранальных и стромальных ламелл, а также гетерогенное распределение комплексов PSII, PSI, Cyt  $b_6f$  [11–14].

Первые кинетические модели фотосинтеза [15–16], как и модели других биохимических процессов, были основаны на законе действующих масс, который гласит, что скорость взаимодействия двух веществ пропорциональна произведению концентраций этих веществ. Этот закон справедлив только в случае быстрого полного перемешивания, когда достаточно большое число молекул каждого вещества свободно диффундируют в объеме. В этом случае скорость реакции можно считать пропорциональной вероятности столкновений двух молекул разного типа.

В результате многочисленных экспериментальных исследований формировались представления о структуре фотосинтетической мембраны. В конце 60-х гг. XX века пришло понимание того факта, что компоненты фотосинтетической цепи не плавают свободно в цитоплазме. Фотосинтетические реакционные центры представляют собой мультиферментные комплексы, встроены в мембрану, а взаимодействие фотосистем PSI и PSII осуществляют подвижные переносчики. Эти представления вызвали к жизни появление моделей, где фотосинтетический реакционный центр рассматривается как единое целое. В первых таких моделях [17, 18] перенос электрона в пределах фотосинтетического реакционного центра PSII рассматривался как строго упорядоченный переход между состояниями комплекса, отличающимися зарядами на отдельных компонентах этого комплекса, при этом переход электрона с донорной на акцепторную сторону комплекса инициировался светом. В монографии Рубина и Шинкарева [19] изложены математическое обоснование и методы анализа переноса электрона в мультиферментных комплексах. Применение этого метода для описания процессов в выделенных комплексах реакционных центров бактерий и фотосистем I и II описано в статьях [20–22] и книгах [23–26].

В основу большинства моделей процессов переноса электрона в пределах PSII положена модель обратимой радикальной пары [27–29], в которой предполагается, что при освещении молекула фотосинтетического реакционного центра P680 находится в экситонном равновесии с молекулами хлорофилла антенны. Взаимодействие акцепторной части PSII описывают

согласно концепции двухэлектронного затвора (two electron gate, TEG-model) [30–31].

В качестве переменных рассматриваются концентрации состояний фотосинтетического реакционного центра [32–37]. Сравнение с экспериментом проводится по индукционным кривым флуоресценции, регистрируемым при разных режимах освещения. В ряде работ моделируются линейный и циклический пути переноса электрона через PSI [38–44], а также процессы взаимодействия с циклом фиксации углерода Кальвина–Бенсона [45–49]. Обзор моделей фотосинтетического электронного транспорта и сопряженных процессов подробно представлен в работах Stirbet et al. [10, 50] и др.

В работах нашей группы [39–41, 51–55] при описании процессов переноса электрона в пределах мультиферментных комплексов, встроенных в фотосинтетическую мембрану, используются обыкновенные дифференциальные уравнения для вероятностей состояний этих комплексов. Состояния комплекса отличаются редокс-состояниями отдельных компонентов комплекса, наличием пустых или заполненных сайтов, в которых могут заякориваться подвижные переносчики электрона (как в случае  $Q_B$  сайта PSII), наличием протонированных групп.

Константы скоростей переходов между состояниями комплекса могут быть различны для комплексов в различных конформационных состояниях, для комплексов, локализованных в гранальной или стромальной частях тилакоида, а также могут зависеть от других переменных и параметров системы (температуры, трансмембранного электрического потенциала, внешнего электрического поля и т.д.). Константы скоростей перехода между состояниями зависят также от фотоиндуцированного электрического потенциала. Переходы между состояниями системы характеризуют ориентированный граф переходов между состояниями, для вероятностей которых записываются уравнения, линейные относительно вероятностей этих состояний. При этом константы скоростей переходов между состояниями могут зависеть от условий освещения, от электрических зарядов на отдельных переносчиках, входящих в состав фотосинтетического реакционного центра [56, 57], а также от концентраций протонов в люмене и стромахе или от концентраций подвижных переносчиков (концентрации молекул пула пластохинонов (PQ) на акцепторной стороне PSII, Pс – на люминальной стороне PSI и Fd – на стромальной стороне PSI). Поэтому в общем случае уравнения, описывающие переходы между состояниями фотосинтетических мультиферментных комплексов, нелинейные.

Концентрация определенного состояния всего мультиферментного комплекса равна произведению вероятности этого состояния на концентрацию комплекса. Подробное описание метода построения графа состояний представлено в работе Rubin и Riznichenko [22], алгоритм построения графа состояний фермент-субстратного комплекса на примере комплекса Cyt  $b_6/f$ , содержащего 256 состояний, приведен в статье Устинина и соавт. [58].

Другой тип взаимодействий компонентов цепи переноса электрона проявляется на тех участках фотосинтетической электрон-транспортной цепи, где в переносе электрона принимают участие подвижные переносчики. Это взаимодействие комплекса PSII с цитохромным комплексом на уровне пластохинона, цитохромного комплекса с комплексом PSI на уровне пластоцианина, участие ферредоксина и ферредоксин-NADP<sup>+</sup>-редуктазы (FNR) в линейном и циклическом транспорте электрона на стромальной стороне PSI. В тилакоидной мембране кинетические параметры взаимодействия комплексов с подвижными переносчиками определяются как временем диффузии подвижного переносчика к соответствующему комплексу, так и вероятностью «правильной» посадки (докинга) подвижного переносчика на соответствующий сайт на донорной или акцепторной стороне комплекса. Важную роль здесь играют параметры диффузии подвижного переносчика в соответствующем компартменте (PQ – внутри мембраны, Pс – в люмене, Fd – в стромальном пространстве), а также геометрия реакционного объема. Эффективность взаимодействия в значительной мере определяется электростатическими взаимодействиями локальных зарядов атомных групп на поверхности донора и акцептора. Именно эти участки, где скорость переноса электрона зависит от пространственной организации мембраны и характера диффузии переносчиков, являются объектом регуляции со стороны целой клетки. Для описания природы взаимодействия подвижных переносчиков с фотосинтетическими мультиферментными комплексами более адекватными представляются не кинетические, а прямые методы компьютерного моделирования, способные описывать движение отдельных макромолекул и их ансамблей.

В целом, система электронного транспорта первичных процессов фотосинтеза представляет собой сложную многоуровневую систему. Происходящие в ней процессы имеют различную природу и сильно отличаются по времени. Моделирование различных процессов в единой системе первичных процессов фотосинтеза

требует разных математических и компьютерных подходов.

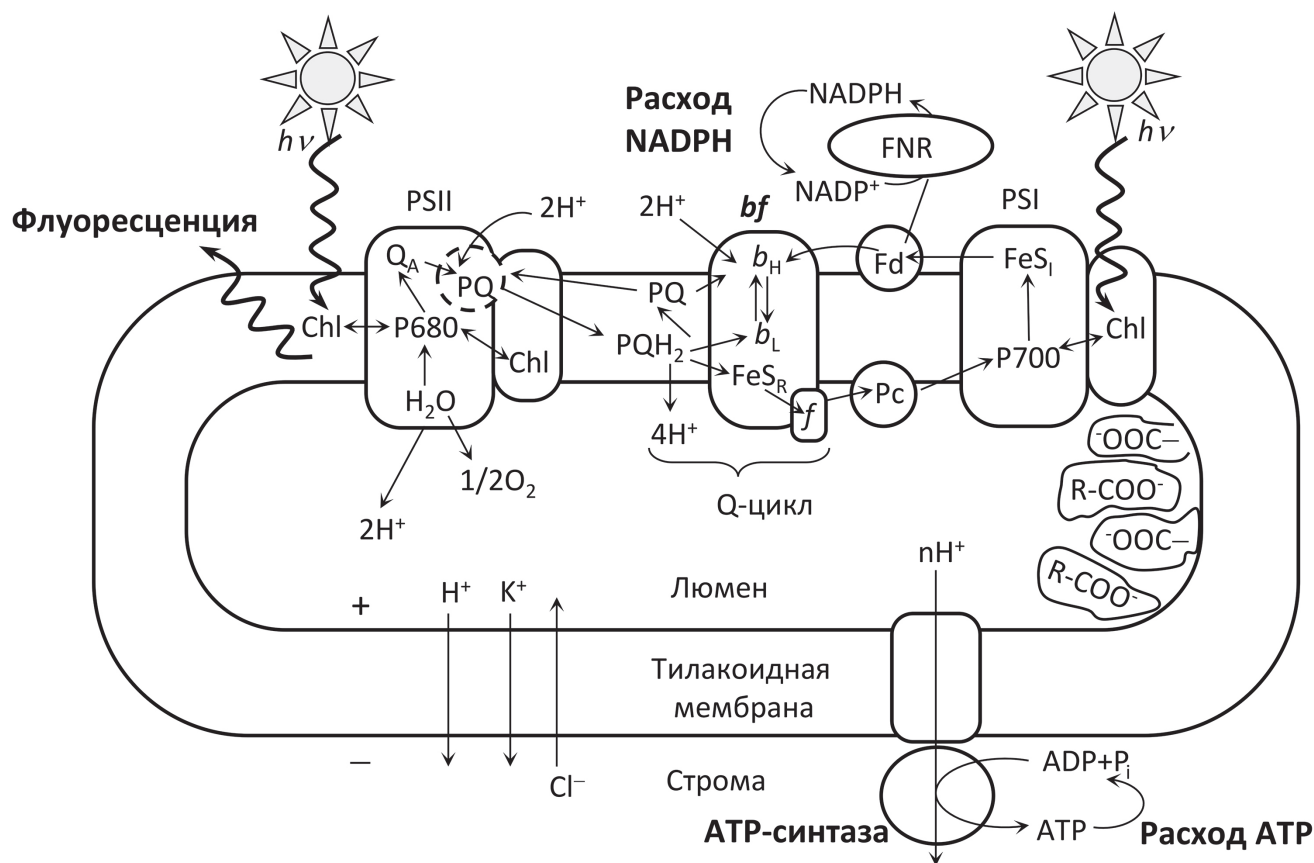
В данном обзоре мы не претендуем на полноту описания всех методов математического и компьютерного моделирования, применяемых в настоящее время для описания первичных процессов фотосинтеза. Последний подробный аналитический обзор истории развития наиболее широко развитого кинетического моделирования и современных кинетических моделей первичных процессов дан в работе Stirbet et al. [10]. В данном обзоре на примере результатов работ группы математического моделирования кафедры биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова мы пытаемся показать возможности кинетического, стохастического, многочастичного и молекулярного моделирования при воспроизведении *in silico* некоторых характеристик первичных

процессов фотосинтеза, в отношении которых имеющиеся экспериментальные данные позволяют провести верификацию моделей.

### МОДЕЛЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА И СОПРЯЖЕННЫХ ПРОЦЕССОВ В ТИЛАКОИДНОЙ МЕМБРАНЕ ЗЕЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Большинство ранних моделей фотосинтетического электронного транспорта описывали процесс переноса электрона в пределах PSII, которая является основным источником флуоресценции [32, 33, 36–38, 59–61].

В работах нашей группы [54, 55, 62] была разработана детальная модель PSII, для идентификации параметров которой были исполь-



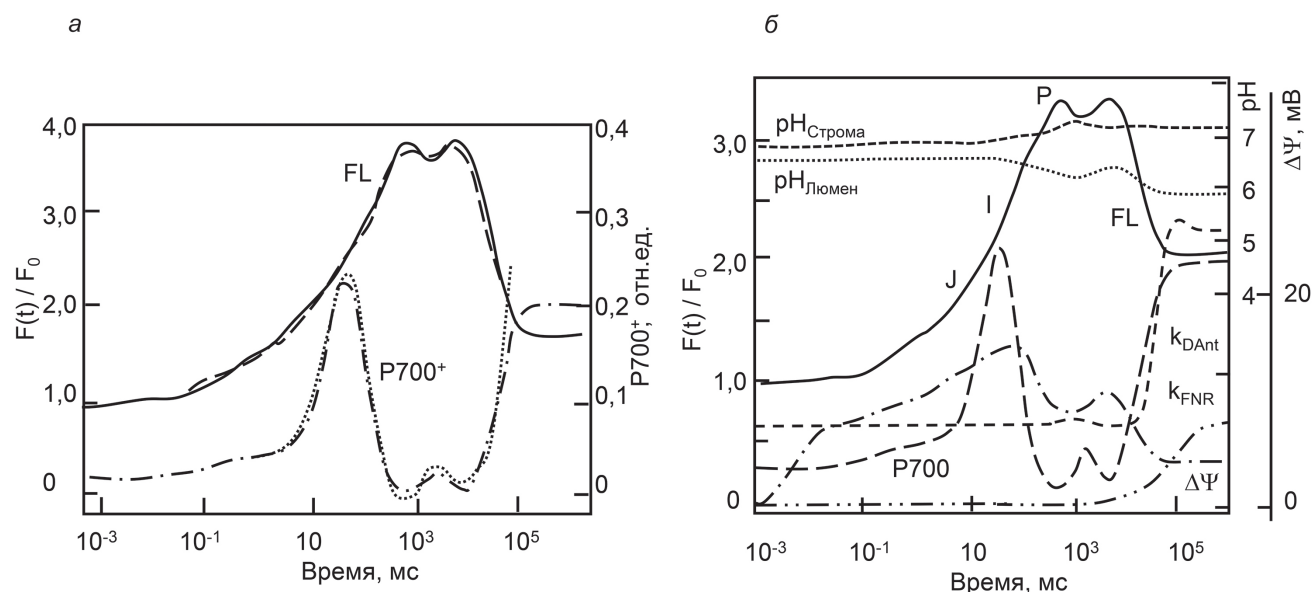
**Рис. 1.** Схема процессов, рассматриваемых в обобщенной кинетической модели первичных процессов фотосинтеза. PSI, PSII – фотосистемы I и II; *bf* – цитохромный *b<sub>6</sub>f*-комплекс; Chl – хлорофилл антенны; P680 и P700 – пигменты реакционных центров фотосистем II и I; Q<sub>A</sub> – первичный хинонный акцептор электронов PSII; *b<sub>L</sub>* и *b<sub>H</sub>* – низко- и высокопотенциальный гемы цитохрома *b*; FeS<sub>R</sub> – железосерный центр Риске; *f* – цитохром *f*; FeS<sub>I</sub> – акцепторный комплекс PSI; PQ – пластохинон; PQH<sub>2</sub> – пластохинол; Fd – ферредоксин; Pс – пластоцианин; R-COO<sup>-</sup> – буферные группы. Знаки «+» и «-» показывают, что в результате светоиндуцированных процессов люмен тилакоида заряжается положительно, а строма хлоропласта – отрицательно. Ломаные стрелки обозначают потоки квантов падающего света и флуоресценцию. Тонкими стрелками показан перенос электронов по цепи электронного транспорта и потоки ионов H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> после включения освещения [40]. Рисунок воспроизведен с изменениями с разрешения Springer Nature: Springer Nature B.V. Photosynthesis Research, 140, 1–19, doi: 10.1007/s11120-019-00627-8, «Analyzing both the fast and the slow phases of chlorophyll a fluorescence and P700 absorbance changes in dark-adapted and preilluminated pea leaves using a Thylakoid Membrane model», авторы: Belyaeva, N. E., Bulychев, A. A., Riznichenko, G. Yu., Rubин, A. B., © 2019

зованы данные регистрации флуоресценции после освещения объекта короткой (нс) насыщающей лазерной вспышкой. Проведенное фитирование результатов моделирования по экспериментальным данным позволило получить оценки тех параметров системы, которые недоступны для экспериментального подхода, в частности, константы скоростей безызлучательной релаксации в реакционном центре PSII, которые существенно зависят от интенсивности освещения [63]. При больших интенсивностях поток энергии в тепло может составлять до 30% поглощенной фотосинтетическим объектом энергии света [63], обеспечивая защиту системы от ускоренного образования активных форм кислорода. Модель PSII позволяет воспроизвести реальные кинетические изменения, проявляющиеся на нарастающем участке индукционной кривой флуоресценции в диапазоне времен от микросекунд до секунды.

Информационное значение индукционной кривой флуоресценции не исчерпывается ее нарастающим участком. Характер индукционной кривой флуоресценции в ходе роста культуры и в неблагоприятных условиях жизни ав-

тотрофных организмов существенно меняется также на более медленном «спадающем» участке. Для правильной интерпретации изменений выхода флуоресценции на больших временах необходим учет процессов переноса электронов не только в пределах PSII, но и дальнейший линейный путь электрона через цитохромный комплекс и PSI, циклический поток электронов вокруг PSI и другие альтернативные пути переноса электронов, а также сопровождающие электронный транспорт процессы нефотохимического тушения. Эти процессы с разной степенью детализации включены в модели Stirbet et al. [10, 34], Lazár [38], Belyaeva et al. [39–41] и Ebenhoh [42]. Схема процессов в фотосинтетической тилакоидной мембране, учтенных в кинетической модели, разрабатываемой нами, представлена на рис. 1 и подробно описана в работах Belyaeva et al. [39, 40]. Изначальные версии модели представлены в более ранних наших работах [22, 25].

Модель процессов в тилакоидной мембране (Т-М) включает подробную субмодель, описывающую переходы между состояниями PSII, и субмодели переходов между состояниями



**Рис. 2.** Результаты фитирования модели процессов в мембране тилакоида (а). Экспериментальные кривые флуоресценции хлорофилла *a* (---) и кривые поглощения  $\Delta A_{810}$  (.....) зарегистрированы на целых листьях *Pisum sativum*, адаптированных 15 мин в темноте, при освещении красным светом; освещенность 200 мкМ фотонов  $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$  (максимум излучения 650 нм). Время регистрации 30 с. Модельные кинетические кривые индукции флуоресценции (FL, —) и окислительно-восстановительных превращений фотоативного пигмента PSI (P700<sup>+</sup>, - · - · -) хорошо воспроизводят экспериментальные данные на временном интервале до 30 с. б – Полученные на модели динамические кривые изменения во времени характеристик энергизованного состояния фотосинтетической мембраны после включения света. Кривые индукции флуоресценции (FL, —) и редокс-превращений P700 (— · —) фитированы по экспериментальным данным (см. рис. 2, а и подпись к нему).  $\Delta\Psi(t)$  – электрический трансмембранный потенциал (— · — · —), pH люмена (.....), pH стромы (-----). Также показаны изменения во времени констант скоростей регуляторных процессов: константы скорости реакции диссипации энергии в антенне  $k_{DAnt}$  (----) и константы скорости взаимодействия Fd с FNR на акцепторной стороне PSI ( $k_{FNR}$ , - · · - · ·) [40]. Рисунок воспроизведен с изменениями с разрешения Springer Nature: Springer Nature B.V. Photosynthesis Research, 140, 1–19, doi: 10.1007/s11120-019-00627-8, «Analyzing both the fast and the slow phases of chlorophyll *a* fluorescence and P700 absorbance changes in dark-adapted and preilluminated pea leaves using a Thylakoid Membrane model», авторы: Belyaeva, N. E., Bulychev, A. A., Riznichenko, G. Yu., Rubin, A. B., © 2019

комплексов *Cyt b<sub>6</sub>f* и PSI [39, 40, 56]. Перенос электрона от *Cyt b<sub>6</sub>f* на PSI осуществляет подвижный в люмене переносчик Pс, принимающий электроны от *Cyt f* (обращенной в люмен субъединицы *Cyt b<sub>6</sub>f*) и донирующий электроны на фотоактивный пигмент P700. Акцептируют электроны с PSI подвижные в стромах молекулы Fd, которые принимают участие в линейном и циклическом электронном транспорте. Взаимодействие донорных и акцепторных компонентов комплексов с подвижными переносчиками описывается с помощью закона действующих масс. Уравнения для концентрации протонов на стромальной и люминальной стороне мембраны описывают сопряжение переноса электрона с трансмембранным переносом протонов и работу АТФ-синтазы, учитывается роль буферных групп. В модель Belyaeva et al. [40] включены нефотохимическое тушение и регуляция, связанная с активацией FNR, опосредующей как линейный транспорт электронов на NADH, так и, частично, циклический электронный поток вокруг PSI. Для фитирования модели наряду с кривыми индукции флуоресценции использованы экспериментальные кривые редокс-превращений P700 на временах от миллисекунд до 30 с (рис. 2, а).

На рис. 2, б, наряду с фитированными по экспериментальным данным кривыми индукции флуоресценции и редокс-превращений фотоактивного пигмента P700, представлены изменения во времени величины электрического потенциала на мембране, рН люмена и стромы, константы скорости нефотохимического тушения. Модель позволяет проследить в динамике соотношение этих величин и проверить имеющиеся гипотезы об их регуляторной роли.

В последние годы различными научными группами разработаны модели, учитывающие процесс миграции внешней части светособирающей антенны PSII к PSI и обратно. Эти процессы, называемые «State transition», происходят в основном при высокой интенсивности освещения. Уменьшая эффективный размер антенны и, как следствие, число квантов энергии, попадающих на реакционный центр, они предотвращают разрушительное действие интенсивного облучения. Учет этих процессов позволяет на модели качественно воспроизводить форму спадающей части индукционной кривой флуоресценции [34, 42, 44].

В нашей работе [41] при описании процессов в тилакоидной мембране цианобактерий, содержание комплексов PSI которых значительно выше количества комплексов PSII, также учитывается процесс переноса подвиж-

ной части светособирающей антенны от PSII гранальной части тилакоида к PSI – в стромальной и маргинальной ее части. Специфические светособирающие антенны цианобактерий (фикобилисомы) обладают высокой подвижностью, что позволяет этим микроорганизмам обеспечивать эффективный фотосинтез и предотвращать фотодеструкцию в широком диапазоне интенсивностей освещения. Учет этих процессов в модели позволил описать кинетику флуоресценции и фотопревращений P700 циановых бактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803 при высокой (3000 мкМ фотонов · м<sup>-2</sup> · с<sup>-1</sup>) и средней (1000 мкМ фотонов · м<sup>-2</sup> · с<sup>-1</sup>) освещенности на временах от миллисекунд до нескольких минут [41, 64].

Таким образом, кинетические модели на основе дифференциальных уравнений для вероятностей состояний фотосинтетических пигмент-белковых комплексов и уравнений химической кинетики для подвижных переносчиков и трансмембранных ионных потоков позволяют наблюдать *in silico* динамику изменения во времени величин, не наблюдаемых экспериментально, в частности, концентрации протонов на внутренней и внешней сторонах мембраны, описывать регуляторные процессы переключения электронных потоков и нефотохимического тушения флуоресценции. Модели оказались полезным инструментом для оценки параметров фотосинтетического аппарата, не поддающихся непосредственному экспериментальному измерению.

Несмотря на большое число параметров модели, лишь немногие из них могут быть свободно варьированы для установления соответствия с экспериментальными кривыми. Большое число параметров детальных моделей переноса электрона в пределах комплексов PSI, PSII и *Cyt b<sub>6</sub>f* оценены в ходе независимых экспериментов на выделенных комплексах и цитируются в литературе. Известны диапазоны их изменений для различных видов и разных условий эксперимента [65]. Значения таких параметров могут быть фиксированы при моделировании процессов в целостной фотосинтетической цепи. Этим существенно ограничивается диапазон возможного варьирования параметров в ходе фитирования модельных кривых по экспериментальным данным и делает результаты идентификации параметров по результатам фитирования более достоверными. Так, в работе Belyaeva et al. [40] параметры процессов в пределах комплексов реакционных центров PSII и PSI выбраны из приводимых в литературе диапазонов. На основе фитирования модели вновь оценены параметры зави-

сящей от времени константы, определяющей тепловые потери в процессе тушения флуоресценции в антенне PSII и характерное время активации FNR, а также концентрации буферных групп.

Системы дифференциальных уравнений, положенные в основу кинетических моделей, даны в оригинальных статьях [39–41, 62, 63]. Учет в моделях процессов нефотохимического тушения, циклического электронного транспорта вокруг PSI, реакции Меллера, связи с циклом фиксации углерода и других альтернативных электронных потоков позволяет качественно описывать особенности индукционных кривых флуоресценции для разных фотосинтезирующих видов, в том числе в условиях стресса [43, 49, 66–71].

### ВЕРОЯТНОСТНЫЕ МОДЕЛИ ТИПА МОНТЕ-КАРЛО

В эксперименте сигнал регистрируется от совокупности процессов, происходящих в суспензии клеток. При этом каждая клетка содержит миллионы электрон-транспортных цепей. В каждой из этих цепей процесс переноса электрона между соответствующими переносчиками, высвечивание кванта флуоресценции, захват протона происходит с определенной вероятностью. Метод моделирования Монте-Карло позволяет воспроизводить процессы взаимодействия между компонентами системы (агентами), которые имеют стохастический характер. Частоту событий, приводящих к изменению состояния агентов (перенос электрона с одного компонента на другой, испускание кванта флуоресценции, протонирование), можно характеризовать некоторой вероятностью. В «агентном», «корпускулярном», «атомистическом» методе моделирования общие свойства сложной системы выводятся на основе свойств и механизмов взаимодействия составляющих эти системы «агентов» — неких простейших объектов, составных элементов этой системы. Еще в 1958 г. Гарфинкель использовал метод Монте-Карло для моделирования переноса электрона в митохондриальном комплексе. Модель воспроизводила перенос электрона вдоль цепи, каждая из 17 000 цепей была представлена рядом молекул цитохромов, которые могут с некоторой вероятностью реагировать друг с другом и переходить в окисленное, восстановленное и ингибированное состояния.

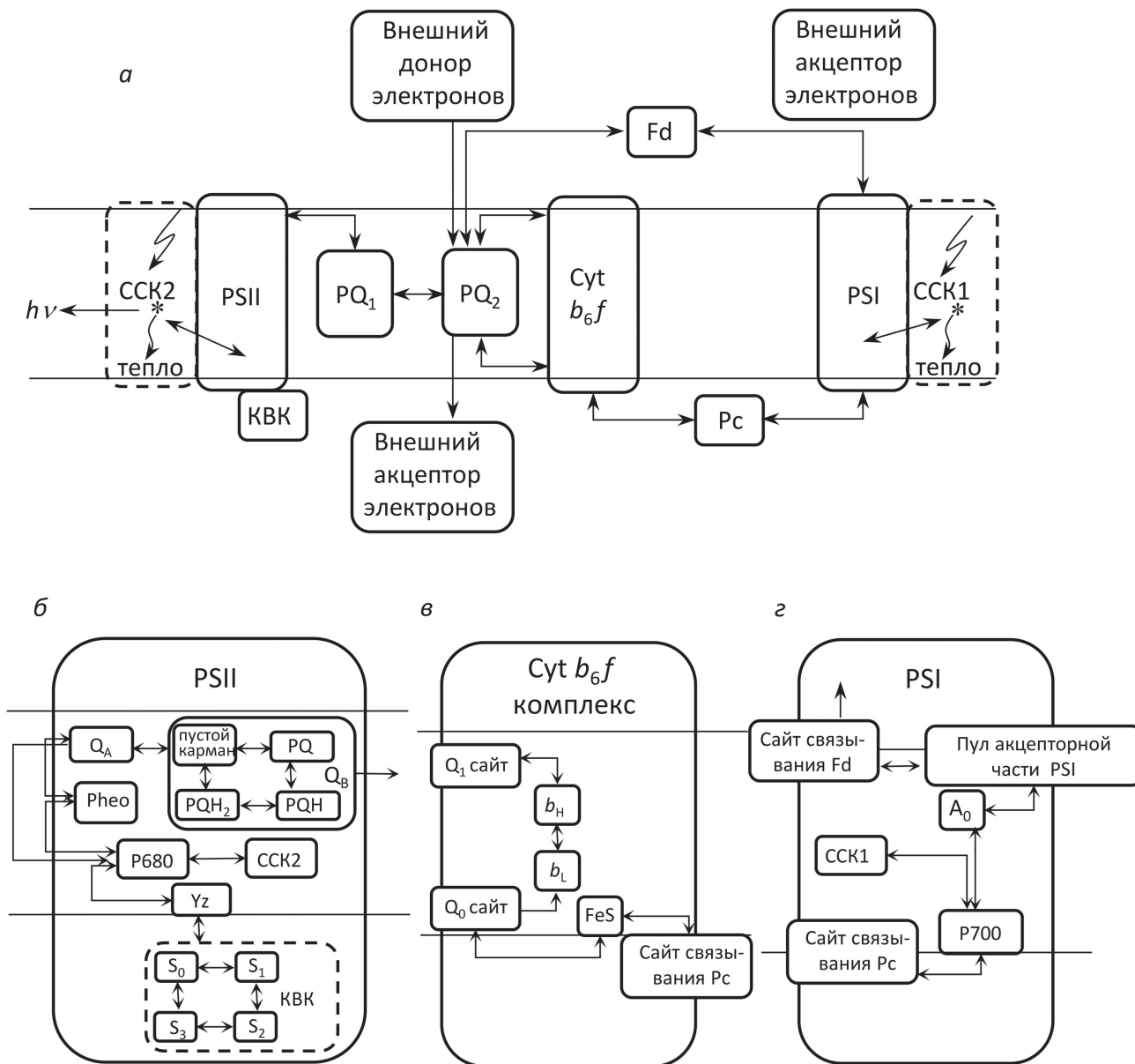
Моделирование процессов в отдельных фотосинтетических цепях ансамблей, состоящих из сотен тысяч и миллионов электрон-тран-

спортных цепей, стало возможным благодаря использованию мощностей современной вычислительной техники. Суммарный сигнал от моделируемого ансамбля имитирует сигнал, получаемый в эксперименте на суспензии клеток (хлоропластов) методами спектрометрии.

Перенос электрона между компонентами, протонирование, испускание кванта флуоресценции на каждом временном шаге расчета происходит с вероятностью, заданной в соответствии с экспериментальными данными о характерных временах происходящих процессов, с использованием датчика случайных чисел. Количество однородных событий (испусканий кванта флуоресценции или актов окисления фотоактивного пигмента) в определенном интервале времени суммируется. Модельная кинетическая кривая соответствует кривой, наблюдаемой в эксперименте. Таким образом, мы получаем кинетическую кривую для ансамбля фотосинтетических цепей, закладывая в модель данные о взаимодействии компонентов отдельных представителей этого ансамбля (агентов). На рис. 3 представлена схема процессов, происходящих в каждой из нескольких миллионов электрон-транспортных цепей, моделируемых в работах Antal et al. [70] и Маслакова [72]. Пояснения даны в подписи к рисунку.

Основанный на заданных правилах переходов между состояниями элементов, метод построения модели «Rule-based Monte Carlo» позволяет легко модифицировать структуру моделируемых цепочек переноса электрона, учитывать различия отдельных цепей и объединения фотосинтетических реакционных центров фотосистем в группы (энергетический обмен). Впервые этот метод мы применили для оценки соотношения альфа и бета ( $Q_B$ -невосстанавливающих) центров PSII в контрольных и подвергшихся тепловой обработке зеленых микроводорослях *Chlamydomonas reinhardtii* [73].

Отметим, что при моделировании изменения структуры связей переносчиков фотосинтетических цепей традиционным способом с помощью систем дифференциальных уравнений для вероятностей (концентраций) возможных состояний системы требуется многократное увеличение числа уравнений системы. Любая модификация моделируемой цепи требует здесь изменения вида многих уравнений системы, что представляет собой трудоемкую задачу. Задавая индивидуальные правила поведения для всех «агентов» системы и правила взаимодействия для любых пар переносчиков, мы можем учесть в агентной модели типа Монте-Карло любые виды гетерогенности системы. Сравнение с экспериментом мы проводили по кривым индук-



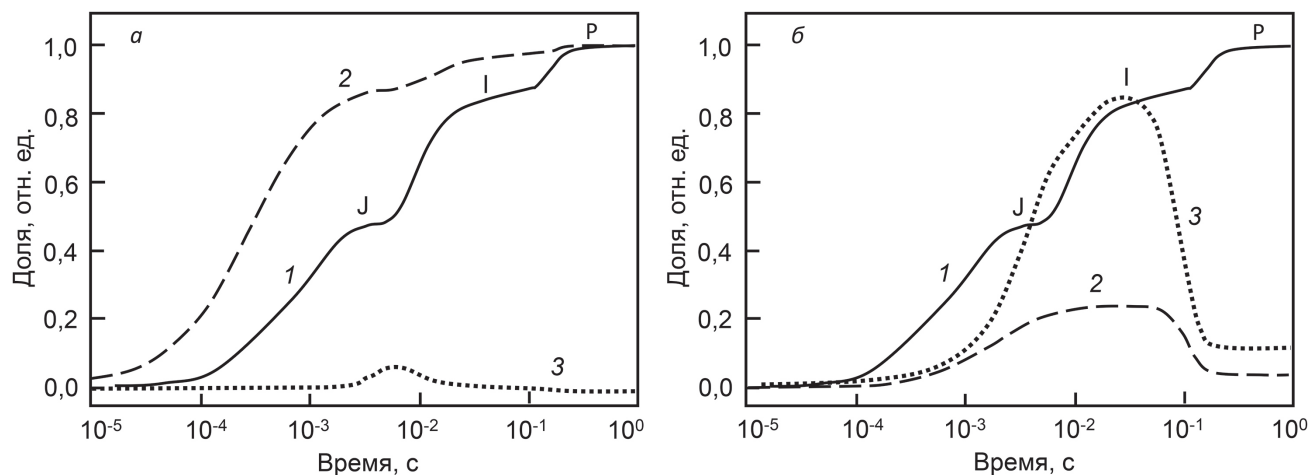
**Рис. 3.** Общая схема электрон-транспортной цепи, используемая в модели (а); внутреннее устройство PSII (б); внутреннее устройство цитохромного комплекса Cyt  $b_6f$  (в); внутреннее устройство PSI (г). CCK2 – светособирающий комплекс PSII; KVK – кислород-выделяющий комплекс; Yz – тирозин Z (донор электронов для P680-хлорофилла реакционного центра PSII); P680 – хлорофилл реакционного центра PSII с максимумом поглощения при 680 нм; Pheo – феофитин – акцептор электрона, участвующий в разделении зарядов в PSII;  $Q_A$  – первичный акцептор электрона PSII;  $Q_B$  – двухэлектронный акцептор PSII; PQ – пластохинон; пул  $PQ_1$  – пластохиноновый пул, взаимодействующий непосредственно с PSII; пул  $PQ_2$  – пластохиноновый пул, взаимодействующий с Cyt  $b_6f$ -комплексом;  $Q_0$  – сайт связывания  $PQH_2$ ;  $Q_1$  – сайт связывания PQ;  $b_L$  – низкопотенциальный гем  $b$ ;  $b_H$  – высокопотенциальный гем  $b$ ; FeS – железосерный центр Риске; Pc – пластоцианин; P700 – хлорофилл реакционного центра PSI с максимумом поглощения при 700 нм; CCK1 – светособирающий комплекс PSI;  $A_0$  – первичный акцептор PSI; пул акцепторной части PSI – совокупность переносчиков электрона PSI, следующих за первичным акцептором; Fd – ферредоксин. Рисунок воспроизведен с изменениями из статьи Маслаков (2020) [72], лицензирован под лицензией CC BY, © 2020 Маслаков А.С.

ции флуоресценции после включения света в контрольных и обработанных детергентами образцах, а также кинетике редокс-превращений P700 (A820) [70]. Число электрон-транспортных цепей в модели составляло от нескольких сот тысяч до нескольких миллионов и было сравнимо с количеством фотосинтетических цепей в

клетке микроводоросли. В модели вероятностным образом воспроизводятся процессы в отдельных фотосинтетических цепях.

На рис. 4, наряду с кинетической кривой индукции флуоресценции (а, кривая I и б, кривая I), приведены кинетические кривые для отдельных компонентов фотосинтетических це-





**Рис. 4.** Модельные индукционные кривые флуоресценции, кривые OJIP (*a*, кривая 1 и *б*, кривая 1), и изменения во времени  $Q_A^-$  (*a*, кривая 2),  $P680^+$  (*a*, кривая 3),  $Pc^-$  (*б*, кривая 2),  $P700^+$  (*б*, кривая 3). Адаптировано из статьи Antal et al. (2018) [70]. Рисунок воспроизведен с изменениями с разрешения Springer Nature: Springer Nature B.V. Photosynthesis Research, 138, 191–206, doi: 10.1007/s1120-018-0564-2, «Simulation of chlorophyll fluorescence rise and decay kinetics, and P700-related absorbance changes by using a rule-based kinetic Monte-Carlo method», авторы: Antal, T. K., Maslakov, A. S., Yakovleva, O. V., Krendeleva, T. E., Riznichenko, G. Yu., Rubin, A. B., © 2018

пей, в том числе для суммарной концентрации  $Q_A^-$  (*a*, кривая 2), которую принято считать пропорциональной количеству закрытых реакционных центров. Из модели видно, что на стадии J почти 90% фотосинтетических реакционных центров находятся в закрытом состоянии ( $Q_A^-$ ), что соответствует экспериментальной оценке перехода в закрытое состояние 90% PSII после единичной вспышки [74]. В то же время выход флуоресценции не превосходит половины максимального уровня. Такое различие обусловлено отсутствием прямой пропорциональности между уровнем флуоресценции и редокс-состоянием  $Q_A^-$ , в частности, связанным с тушением флуоресценции окисленными формами PQ, учтенным в данной модели.

Полученные к настоящему времени методом Монте-Карло результаты принципиально могут быть получены в кинетических моделях с использованием систем дифференциальных уравнений [61, 72, 73, 75], при этом метод Монте-Карло является более ресурсоемким. Однако быстрое развитие экспериментальных методов изучения структуры и усложнение представлений об организации фотосинтетического аппарата [76, 77] поставит в ближайшее время перед моделированием задачи воспроизведения процессов в сложных гетерогенных системах, для решения которых агентный метод Монте-Карло является, несомненно, более адекватным. Быстрое развитие методов информационных технологий и мощности компьютеров позволит более широко использовать этот метод для адекватного воспроизведения процессов в живой клетке.

#### АНАЛИЗ БОЛЬШИХ МАССИВОВ ДАННЫХ ФЛУОРОМЕТРИИ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО И ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Преимуществом описанных выше детальных моделей процессов переноса электрона является то обстоятельство, что их параметры представляют собой константы скоростей элементарных стадий переноса заряда между отдельными компонентами фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Однако для массовой обработки экспериментальных данных такие модели слишком сложны, поскольку идентификация параметров этих многокомпонентных моделей с помощью стандартных процедур часто оказывается неэффективной, а тщательное фитирование экспериментальных кривых требует трудоемкой ручной обработки. Для массовой обработки экспериментальных данных более пригодны упрощенные модели. В моделях, целью которых является описание связи первичных процессов с более длительными процессами метаболизма в растительной клетке, не требуется столь детальное воспроизведение экспериментальных кривых индукции флуоресценции на коротких временах. В этих случаях для описания первичных процессов фотосинтетического электронного транспорта используются упрощенные модели [45, 49, 66].

Развитие методов автоматической регистрации позволяет получать сотни и тысячи индукционных кривых флуоресценции в ходе роста культуры в фотобиореакторе или в процессе автоматического наблюдения за природ-

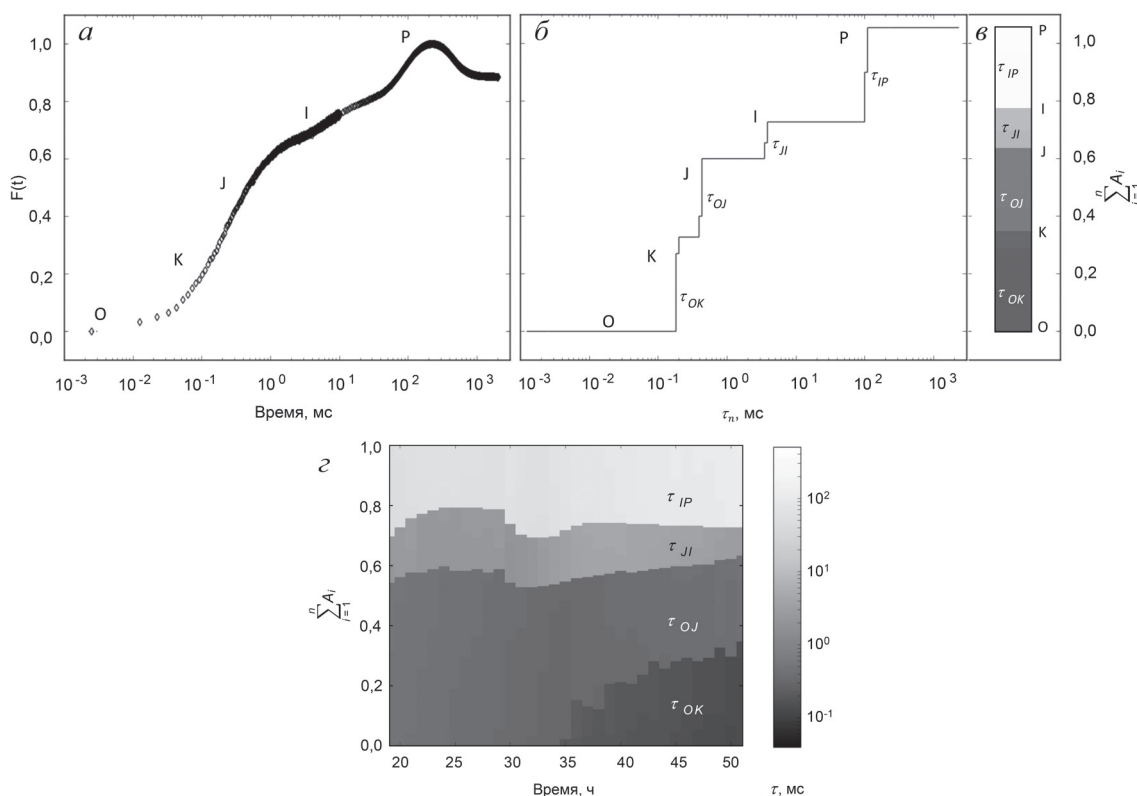
ными системами [70]. Чтобы понять, какие изменения происходят в фотосинтетическом аппарате фотосинтезирующих объектов с течением времени, необходимо проанализировать форму этих кривых. Для автоматического анализа больших массивов данных удобно использовать упрощенные модели.

**Анализ фаз индукционной кривой флуоресценции.** Индукционную кривую флуоресценции хлорофилла принято рассматривать состоящей из двух или трех временных фаз (или стадий), которые обычно разделяются соответственно с наблюдаемыми точками перегиба на временной индукционной кривой. Наиболее хорошо изучена первая быстрая стадия (до сотен миллисекунд), обозначаемая в литературе буквами ОЖР (рис. 5, а). Стандартные обозначения на кривой: О (origin, исходная точка), первый минимальный уровень флуоресценции, J и I – промежуточные перегибы, Р (peak) – максимальное значение интенсивности флуоресценции, пик. В отличие от последующих более медленных стадий, нарастающая стадия ОЖР довольно хо-

рошо воспроизводится. Именно поэтому большинство работ по анализу массовых измерений индукционной кривой флуоресценции сосредоточено на воспроизведении в модели стабильно наблюдаемой в опытах формы кривой ОЖР.

Во многих случаях нарастающий участок индукционной кривой флуоресценции ОЖР может быть достаточно хорошо аппроксимирован суммой трех экспонент [78–81]. Strasser и Strasser [82] предложили формализованный метод расчета характеристик энергетических потоков (ЖР-тест) по амплитудам фаз индукционной кривой, используя значения амплитуд в фиксированные моменты времени (2 мс – для ОЖ и 30 мс – для ЖI), а также наклон кривой в начальный момент времени. Вычисляемые на основе этого метода величины широко используются для оценки нарушений фотосинтетического аппарата как для культур в фотобиореакторе [83, 84], так и для сельскохозяйственных культур [85].

В обзоре Stirbet et al. [86] обсуждаются возможности использования ЖР-теста для оценки



**Рис. 5.** Пример применения метода мультиэкспоненциальной аппроксимации (МЭА) для анализа кривых индукции флуоресценции хлорофилла *a* голодающей по азоту культуры *Chlorella vulgaris*. *a* – ОЖР-кривая; *b* – результат ее разложения на экспоненты в начале культивации; *в* – представление амплитуд мультиэкспоненциального разложения в виде столбца теплокарты. Характерные времена идентифицированных фаз:  $\tau_{OK} \sim 0,15\text{--}0,25$  мс;  $\tau_{OJ} \sim 0,4\text{--}0,5$  мс;  $\tau_{JI} \sim 2,6\text{--}4,2$  мс;  $\tau_{IP} \sim 55\text{--}130$  мс. *г* – Теплокарта компонентного состава ОЖР-кривых в ходе культивации, по оси абсцисс отложено время в часах. Ширина и цвет полос отражают амплитуду и время жизни экспоненциальных компонентов индукционной кривой. По оси ординат слева – шкала амплитуд. Воспроизведено из статьи [88] под лицензией CC BY-NC-ND, © 2020 Plyusnina, T., Khrushev, S., Degtereva, N., Konyukhov, I., Solovchenko, A., Kouzmanova, M., Goltsev, V., Riznichenko, G., Rubin, A.

устойчивости фотосинтезирующих организмов к различным стрессовым факторам. Одно из ограничений его применения связано с тем, что времена индивидуальных фаз индукционной кривой не являются фиксированными. Поэтому хотя ОЈР-тест достаточно хорошо работает для зеленых растений, он не всегда может быть применен для водорослей и цианобактерий, форма индукционных кривых которых существенно отличается от классической [50].

Плюснина и Хрущев [87] разработали более универсальный метод анализа индукционных больших массивов кривых индукции флуоресценции — метод мультиэкспоненциальной аппроксимации (МЭА) и программное обеспечение ruPhotoSyn. Вместо полуэмпирической оценки стадий, используемой ранее в большинстве исследований, МЭА позволяет ввести более строгие и универсальные критерии оценки фаз. Основой метода является разложение регистрируемого сигнала на экспоненты и его представление в виде ряда экспонент. Кинетическая кривая индукции флуоресценции аппроксимируется мультиэкспоненциальным рядом  $N$  экспонент с фиксированными характеристическими временами  $\tau_n$ :

$$F(t) = F_0 + \sum_{n=1}^N A_n(1 - e^{-t/\tau_n}), \quad (1)$$

где  $F_0$  — минимальное значение на кривой индукции флуоресценции  $F(t)$ ,  $A_n$  отражает вклад  $n$ -й экспоненты с характерным временем  $\tau_n$  в общий сигнал,  $t$  — время.

Результат аппроксимации представляет собой набор амплитуд, каждая из которых соответствует выбранным фиксированным временам  $\tau_n$  (спектр). Для случая, когда входной сигнал  $F(t)$  представляет собой сумму экспоненциальных функций, спектр имеет вид отдельных полос с группами времен, близкими к характерным временам экспонент, составляющих входной сигнал. Ширина полосы определяется свойствами выбранного численного метода аппроксимации и наличием шума во входном сигнале. Характерные времена отдельных стадий переноса электрона в цепи фотосинтеза значительно различаются, и полосы хорошо разрешимы. Характерные времена отдельных компонентов ряда могут быть сопоставлены с конкретными процессами переноса электрона в фотосинтетической электрон-транспортной цепи.

**Мониторинг фотосинтетической активности культуры микроводорослей методом МЭА.** Разработанные на кафедре биофизики автоматические методы регистрации индукционных кривых флуоресценции позволяют изучать происходящие в фотосинтетическом аппара-

те изменения путем измерения кинетических кривых индукции флуоресценции хлорофилла непосредственно в фотобиореакторе без нарушения физиологического состояния клеток [88]. Индукционные кривые флуоресценции регистрируются через относительно короткие интервалы времени и составляют в конечном итоге большой массив данных. Такое наблюдение за ростом культуры становится особенно актуальным при решении биотехнологических задач направленного синтеза, когда подбираются условия роста культур, обогащенных липидами, каротиноидами или выделяющих молекулярный водород.

Метод МЭА был применен для анализа изменений в фотосинтетическом аппарате при культивировании микроводорослей *Chlorella vulgaris* в условиях дефицита азота [89] и *C. reinhardtii* в условиях дефицита серы [84]. Дефицит минеральных компонентов приводит к изменению функционального состояния фотосинтетического аппарата и проявляется в изменении формы индукционных кривых флуоресценции. На рис. 5 изображена индукционная кривая флуоресценции для голодающей по азоту культуры *Chlorella vulgaris*, зарегистрированная сразу после начала инкубации (рис. 5, а), ее разложение на экспоненциальные составляющие, полученное методом МЭА с помощью пакета ruPhotoSyn (рис. 5, б), и представление этого разложения в виде столбца тепловой карты (рис. 5, в). На рис. 5, г представлена тепловая карта, иллюстрирующая динамику изменения вкладов экспоненциальных составляющих во времени.

Возможность анализировать большой массив индукционных кривых открывает хорошую перспективу для дальнейшего изучения динамики переходных процессов при минеральном голодании и действии других факторов стресса. Сопоставление с результатами анализа с помощью ЈР-теста, параллельные дополнительные измерения состава среды и клеточных компонентов: крахмала, липидов, каротиноидов — позволят с большей определенностью соотносить фазы индукционных кривых с физиологическими процессами клетки и использовать эту информацию в дальнейшем для проведения экспресс-анализа изменения состояния клетки под действием стресса.

## ПРЯМОЕ МНОГОЧАСТИЧНОЕ КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Кинетические модели, построенные на основе математического аппарата обыкновен-

ных дифференциальных уравнений, исходят из предположения о гомогенном распределении компонентов системы в пространстве. В кинетических моделях процессов в фотосинтетической мембране предполагается, что мультиферментные комплексы PSI, PSII и цитохромные комплексы взаимодействуют с подвижными переносчиками в соответствии с законом действующих масс. Между тем в интерьере фотосинтетической мембраны взаимодействие белков не соответствует представлениям о свободной диффузии и случайных соударениях по типу реакций в растворах. Общее количество подвижных переносчиков, приходящееся на одну грану, как и количество малоподвижных в мембране реакционных центров, составляет десятки–сотни молекул, что значительно меньше необходимого количества для реализации представлений о свободных соударениях и законе действующих масс.

Результаты, полученные методом электронной микроскопии, свидетельствуют о плотном расположении мультиферментных комплексов в мембране, причем комплексы выступают на значительное расстояние внутрь люминального пространства [90–92]. Это делает невозможным свободную диффузию PQ во внутримембранном пространстве и ограничивает движение в люмене молекул подвижного переносчика Pс, передающего электроны с цитохромного комплекса на PSI. То же относится и к диффузии в стромальном пространстве, где молекулы Fd участвуют в переносе электронов по линейному пути и циклическому пути вокруг PSI.

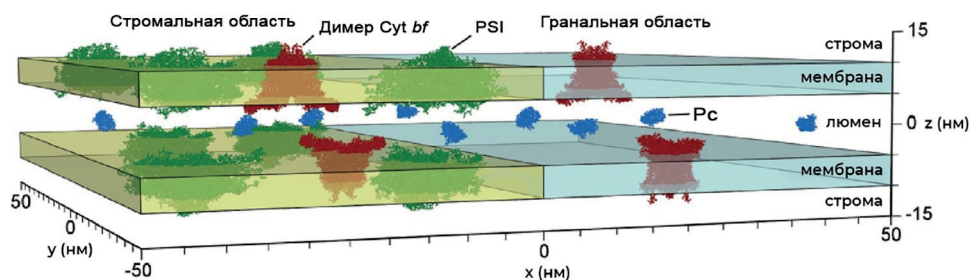
Для описания образования реакционного комплекса двух взаимодействующих белков в растворе с целью предсказания структуры комплекса и оценки константы скорости его образования используются модели броуновской динамики (BD), основанные на математическом аппарате уравнений Ланжевена, которые описывают поступательное и вращательное движение белков под действием случайной броуновской силы и электростатических взаи-

модействий [93–95]. Однако в интерьере фотосинтетической мембраны необходимо рассматривать ансамбли десятков–сотен взаимодействующих молекул.

Для описания в явном виде броуновской диффузии подвижных белковых переносчиков как в растворе, так и в интерьере биологической мембраны нами разрабатываются прямые многочастичные броуновские модели. В этих моделях белки в количествах, составляющих десятки–сотни молекул на реакционный объем, могут быть подвижными, как Fd и FNR в строме тилакоида, или один из белков может быть подвижным, как Pс в люмене тилакоида, а второй – быть частью относительно неподвижного встроенного в мембрану мультиферментного комплекса (белок Cyt *f* – субъединица цитохромного *b<sub>6</sub>f*-комплекса). Основы метода и результаты описаны в книгах [25, 26] и оригинальных статьях [58, 96–107].

Разрабатываемый нами метод прямого многочастичного моделирования позволяет использовать преимущества BD-метода, учитывающего роль формы белков и электростатических взаимодействий в процессах электронного транспорта, для изучения взаимодействия не отдельных белков, а их ансамблей в реакционных объемах сложной формы. Модель дает наглядное трехмерное визуальное представление о динамике процессов в системе на разных пространственных и временных масштабах, возможность наблюдать за поведением отдельных компонентов и получать усредненные статистические сведения по всему ансамблю. Пример сцены в модели многочастичной броуновской динамики представлен на рис. 6.

Молекулы белков – переносчиков электронов – осуществляют броуновское движение в среде и одновременно испытывают электростатические взаимодействия друг с другом и с заряженной поверхностью фотосинтетической мембраны. Как подтвердили результаты вычислительных экспериментов, процесс электростатической ориентации значительно

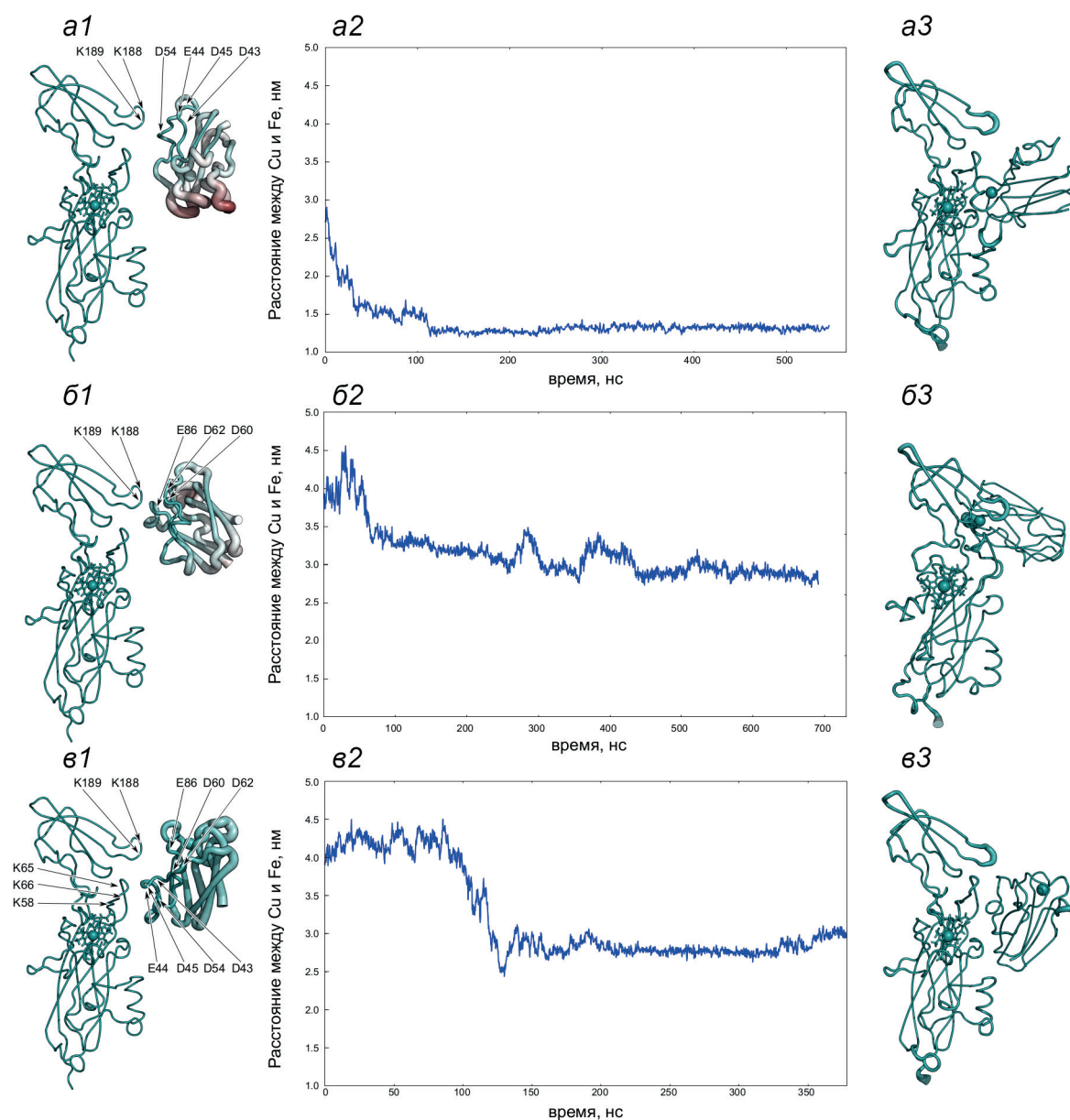


**Рис. 6.** Сцена в модели многочастичной броуновской динамики, участок фотосинтетической мембраны, на котором подвижный белок Pс осуществляет перенос электрона от Cyt *f* – субъединицы цитохромного комплекса, к донорной части PSI. Рисунок воспроизведен с разрешения издателя [99]

(на 1–2 порядка) увеличивает наблюдаемую кинетическую константу суммарной скорости реакции по сравнению с тем, как если бы белки соударялись случайными местами своих поверхностей в результате чисто броуновского движения без предварительной электростатической взаимной ориентации [104].

При сближении молекулы донора и акцептора способны образовывать белок-белковый комплекс. Подробное описание алгоритма моделирования процесса образования белок-белковых комплексов методом броуновской дина-

мики дано в оригинальных статьях [103, 104]. Модели броуновской динамики, в которых молекулы белков рассматриваются как твердые тела, способны описать образование именно такого диффузионно-столкновительного предварительного (encounter) комплекса. Первоначально образованный комплекс с течением времени может преобразоваться в финальный комплекс или развалиться под действием броуновской силы. К образованию финального реакционного комплекса приводит сложная последовательность процессов, обеспечиваю-



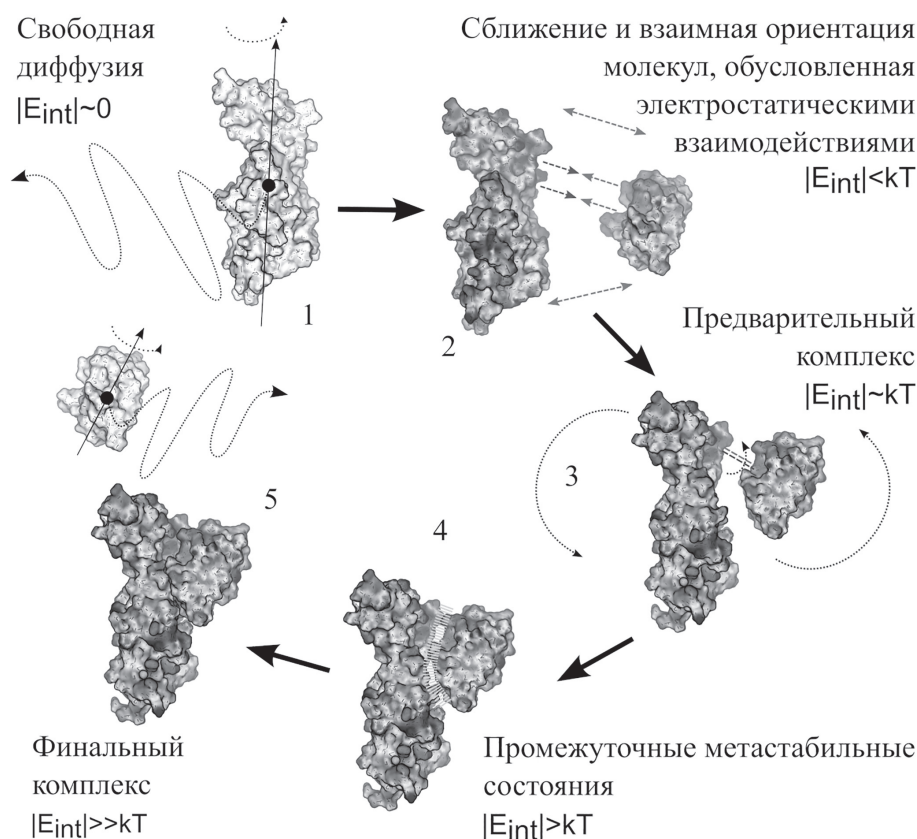
**Рис. 7.** Центральные структуры первого (*a1*), второго (*b1*) и третьего (*v1*) кластеров диффузионно-столкновительных комплексов пластоцианина и цитохрома *f* из зеленой водоросли *S. reinhardtii* с энергией электростатического притяжения более 8 кТ. *a2*, *b2*, *v2* – Расстояние между атомами меди и железа пластоцианина и цитохрома *f*, полученное из расчетов молекулярной динамики, имеющих в качестве начальных центральную структуру первого (*a1*), второго (*b1*) и третьего (*v1*) кластеров. *a3*, *b3*, *v3* – Структуры первого (*a1*), второго (*b1*) и третьего (*v1*) финальных комплексов, полученных из молекулярно-динамических расчетов. Рисунок воспроизведен с разрешения издателя [108]

ших конформационное соответствие молекул белков донора и акцептора. В финальном комплексе становится возможным туннельный перенос электрона между реакционными центрами белков донора и акцептора. Для описания конформационных движений в таком реакционном комплексе необходимо уже применение методов молекулярной динамики, а для описания переноса электрона с реакционного центра молекулы-донора на реакционный центр молекулы-акцептора внутри комплекса — применение методов квантовой химии.

Роль электростатических взаимодействий в образовании окислительно-восстановительного комплекса двух белков мы подробно изучали для пары фотосинтетических белков (переносчиков электрона) Pс и Cyt *f* [96, 104, 108]. Эти белки являются окислительно-восстановительными партнерами с четко локализованными реакционными центрами — атомами меди и железа соответственно. Конечные конфигурации молекул в группе наиболее часто встречающихся траекторий броуновской динамики, ведущие

к формированию предварительного комплекса, были затем использованы в качестве начальных для расчетов последующей внутримолекулярной динамики. На этом этапе в ходе молекулярно-динамического расчета происходило (либо не происходило) образование финального комплекса, где атом меди Pс и атом железа Cyt *f* сближались до расстояний, на которых осуществляется туннельный перенос электрона. На рис. 7 представлены результаты молекулярно-динамических расчетов взаимодействия Pс и Cyt *f* из зеленой водоросли *C. reinhardtii* [108].

Ансамбль образовавшихся в процессе диффузионного движения структур с внутренней энергией 8 кТ, разбивается на три кластера. Первый кластер (35% структур) значительно отличается от двух других. Его структуры имеют электростатический контакт, образованный противоположно заряженными областями Pс (D43, E44, D45 и D54) и Cyt *f* (K188 и K189). Область Pс, которая образует электростатическую связь с Cyt *f*, имеет низкую подвижность относительно Cyt *f*, в то время как противо-



**Рис. 8.** Схема образования белок-белкового комплекса для электрон-транспортных белков пластоцианина и цитохрома *f* из высших растений и зеленых микроводорослей. (1) — Свободная диффузия молекул; (2) — взаимная ориентация, обусловленная электростатическими взаимодействиями; (3) — формирование энергетически выгодных конформаций; (4) — трансформация диффузионно-столкновительного комплекса в метастабильное энергетически выгодное состояние; (5) — формирование финального комплекса (функционально активная конфигурация) путем конформационных изменений в рамках белок-белкового интерфейса. Поверхности белков окрашены в соответствии с их поверхностным потенциалом в диапазоне от  $-100$  до  $100$  мВ. Рисунок воспроизведен с разрешения издателя [108]

положительная сторона молекулы Pс претерпевает большие флуктуации, что подтверждается распределением значений В-фактора, показанным на рис. 7, а1.

Второй кластер (25% структур) также имеет одноточечное соединение, но оно образовано другими областями, отличными от первого случая рис. 7, б1. Оно создается положительно заряженной петлей (K188 и K189) Cyt f и отрицательно заряженной петлей (D60, D62 и E86) пластоцианина. В этой ориентации вращательное движение молекулы Pс не способно повернуть его в ориентацию с минимальным расстоянием между кофакторами. В третьем ансамбле (9% структур) Pс перевернут относительно ориентации в функционально активном комплексе рис. 7, в1, и его движение значительно ограничено электростатическими взаимодействиями.

Дальнейшая трансформация центральных структур этих трех ансамблей была исследована методом молекулярной динамики. Молекулярно-динамический расчет, в котором белки в начальный момент времени имеют взаимную ориентацию как в центральной структуре первого кластера, завершается образованием стабильного комплекса с расстоянием между кофакторами около 1,2 нм, что происходит в первые 150 нс (рис. 7, а2). Отметим, что этот финальный комплекс похож на финальный комплекс, образованный центральной структурой «продуктивного» кластера высших растений [108]. Молекулярно-динамические расчеты с центральными структурами второго (рис. 7, б3) и третьего (рис. 7, в3) кластеров привели к образованию стабильных комплексов со сравнительно большими расстояниями (около 3 нм) между кофакторами белков. Исходя из расчетов молекулярной динамики видно, что структуры второго и третьего кластеров не могут легко достигнуть ориентации с расстоянием менее 2,5 нм между кофакторами, необходимым для туннелирования электрона. Таким образом потенциально продуктивным является только первый кластер (рис. 7, а).

Общая последовательность этапов образования электрон-транспортного комплекса белков Pс и Cyt f из высших растений и зеленых микроводорослей приведена на схеме на рис. 8.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общей целью динамического моделирования сложных систем является раскрытие закономерностей их поведения во времени и изменения во времени количественных характеристик взаимодействующих компонентов.

Ключевым условием адекватности модели реальному объекту является соответствие структуры модели и реальной системы, а также соответствие формы уравнений, механизмов и параметров взаимодействия составляющих ее элементов. Используемый математический аппарат должен соответствовать конкретным механизмам взаимодействий компонентов, таким как свободное соударение по закону действующих масс, диффузионные перемещения в вязкой среде, внутримолекулярные кооперативные переходы в макромолекулярных комплексах. Все это возможно адекватно отразить в модели только на основе независимых данных экспериментов или наблюдений.

По мере углубления наших знаний об устройстве фотосинтетического аппарата менялся и продолжает меняться арсенал применяемых математических методов. Этим обусловлен переход от обыкновенных дифференциальных уравнений кинетики в гомогенной среде к уравнениям, в которых, наряду с химическими членами, учитывается и диффузия веществ в гетерогенном реакционном пространстве.

На современных мощных компьютерах методом Монте-Карло можно адекватно воспроизводить процессы, одновременно происходящие в миллионах цепей активных белков, которые взаимодействуют друг с другом. В отдельных компартментах клетки, где взаимодействуют сравнительно небольшие ансамбли молекул, свою эффективность демонстрирует метод «прямого многочастичного моделирования». По-видимому, для выяснения механизмов клеточных процессов необходимы как модели, построенные на основе дифференциальных уравнений, детальные и упрощенные, допускающие качественное исследование, так и алгоритмические стохастические модели Монте-Карло, а также методы агентного многочастичного моделирования, воспроизводящие перемещения и взаимодействия отдельных подвижных макромолекул в клетке.

Компьютерное воспроизведение броуновского диффузионного сближения белков основано на учете действия случайных толчков, которые испытывают белковые молекулы со стороны ближайшего окружения. Влияние электростатических взаимодействий вносит существенную поправку в «случайность» происходящих встреч белков, вызывая их взаимную нужную ориентацию. Это фактически означает наличие фактора дальнедействующих взаимодействий, который придает «векторный» характер, казалось бы, чисто случайным блужданиям белков. Можно предположить, что этим не исчерпывается «векторизация» броуновского

движения в клетке и что возможно существование других дальнедействующих факторов взаимодействий в клетке. Например, правомерен вопрос о том, какой вклад в отбор случайных толчков может внести форма белковой глобулы по отношению к появлению преимущественного результирующего направления ее броуновского движения. Это может говорить о возможных скрытых пока от нас особенностях элементарных взаимодействий структурных элементов в живой системе, которые были выявлены и «целесообразно» использованы в биологии за миллионы лет эволюции на низших структурных уровнях организации живого.

Настоящий выпуск журнала «Биохимия» посвящен памяти академика Владимира Шувалова – признанного в мире авторитета в области фотобиологии и первичных процессов фотосинтеза. Экспериментальные данные, полученные им методом лазерной спектроскопии, позволили понять характер и природу, происходящих в фемтосекундном временном диапазоне в фотосинтетическом аппарате сверхбыстрых процессов, имеющих направленный характер и биологический смысл. Учет этих данных, несомненно, сыграет большую роль при моделировании совокупности процессов трансформации энергии в широком диапазоне времен, включая первичные фемтосекундные процессы.

**Вклад авторов.** Г.Ю. Ризниченко, А.Б. Рубин – концепция и руководство работой; Н.Е. Беляева, И.Б. Коваленко, Т.К. Антал, С.Н. Горячев, А.С. Маслаков, Т.Ю. Плюснина, В.А. Федоров, С.С. Хрущев, О.В. Яковлева – выполнение исследований, Г.Ю. Ризниченко – написание текста.

**Финансирование.** Работы выполнялись на кафедре биофизики биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова в рамках научных проектов государственных заданий МГУ №№ 16-116021660040-7 и 121032500060-0. Частичное финансирование работ осуществлялось Российским фондом фундаментальных

исследований (грант № 20-04-00465) и Российским национальным фондом (гранты №№ 20-64-46018 и 22-11-00009).

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность сотрудникам и аспирантам кафедры биофизики, многолетняя совместная работа которых сделала возможным получение результатов, представленных в данной статье. Мы благодарны Российскому фонду фундаментальных исследований за многолетнюю поддержку работ в области изучения фотосинтеза. Мы благодарны Центру коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова за возможность проводить вычисления по нашим моделям.

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

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

**Дополнительная информация.** Подробные материалы по кинетическому моделированию первичных процессов фотосинтеза и сопряженных процессов могут быть предоставлены по запросу соавтором данного обзора Натальей Евгеньевной Беляевой (электронная почта: natalmurav@yandex.ru). Подробное описание алгоритма стохастической модели дано в оригинальной статье автора кода Алексея Сергеевича Маслакова [71], соавтора данного обзора, детали могут быть им предоставлены по запросу, электронная почта: alexei.maslakov@gmail.com. Разработанное программное обеспечение для моделирования взаимодействия белков методом броуновской динамики ProKSim может быть предоставлено по запросу автором Сергеем Сергеевичем Хрущевым, электронная почта: styx@biophys.msu.ru. Полученные методами молекулярной динамики белок-белковые комплексы *Cyt f*-Pс зеленых растений, зеленых водорослей и цианобактерий могут быть предоставлены по запросу соавтором данного обзора Владимиром Андреевичем Федоровым, электронная почта: xbgth@yandex.ru.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Amesz, J. (1987) *Photosynthesis*, Elsevier.
2. Rabinowitch, E., and Govindjee (1969) *Photosynthesis*, Wiley, NY.
3. Hall, D. O., and Rao, K. (1999) *Photosynthesis*, Cambridge University Press, Cambridge.
4. Ke, B. (2006) *Photosynthesis: Photobiochemistry and Photobiophysics*, Springer Science & Business Media.
5. Nelson, N., and Yocum, C. F. (2006) Structure and function of photosystems I and II, *Annu. Rev. Plant. Biol.*, **57**, 521-565, doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105350.
6. Barber, J. (2015) *The photosystems: structure, function and molecular biology*, Elsevier.
7. Barber, J., and Ruban, A. V. (2017) *Photosynthesis and bioenergetics*, World Scientific.



8. Рубин А. Б. (2017) *Биофизика*, часть 3, ИКИ, М.–Ижевск.
9. Shevela, D., Bjorn, L., and Govindjee (2019) *Photosynthesis: Solar Energy for Life*, World Scientific, Singapore, doi: 10.1142/10522.
10. Stirbet, A., Lazar, D., Guo, Y., and Govindjee (2020) Photosynthesis: basics, history and modelling, *Ann. Bot.* **126**, 511-537, doi: 10.1093/aob/mcz171.
11. Ruban, A. V. (2012) *The Photosynthetic Membrane: Molecular Mechanisms and Biophysics of Light Harvesting*, Wiley, doi: 10.1007/s11120-014-0015-7.
12. Kouřil, R., Oostergetel, G. T., and Boekema, E. J. (2011) Fine structure of granal thylakoid membrane organization using cryo electron tomography, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1807**, 368-374, doi: 10.1016/j.bbabi.2010.11.007.
13. Kooshak, H., Puthiyaveetil, S., Mullendore, D. L., Li, M., and Kirchhoff, H. (2019) The structural and functional domains of plant thylakoid membranes, *Plant J.*, **97**, 412-429, doi: 10.1111/tbj.14127.
14. Rantala, M., Rantala, S., and Aro, E.-M. (2020) Composition, phosphorylation and dynamic organization of photosynthetic protein complexes in plant thylakoid membrane, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **19**, 604-619, doi: 10.1039/D0PP00025F.
15. Holzappel, C., and Bauer, R. (1975) Computer simulation of primary photosynthetic reactions compared with experimental results on O<sub>2</sub>-exchange and chlorophyll fluorescence of green plants, *Z. Naturforsch.*, **30**, 489-498, doi: 10.1515/znc-1975-7-812.
16. Кукушкин А. К., Тихонов А. Н., Блюменфельд Л. А., Рууге Э. К. (1975) Теоретические аспекты кинетики первичных процессов фотосинтеза высших растений и водорослей, *Физиол. растений*, **22**, 241-250.
17. Malkin, S. (1971) Fluorescence induction studies in isolated chloroplast. On the electron-transfer equilibrium in the pool of electron acceptors of photosystem II, *Biochim. Biophys. Acta*, **234**, 425-427, doi: 10.1016/0005-2728(71)90208-8.
18. Сорокин Е. М. (1973) Нециклический транспорт электронов и связанные с ним вопросы, *Физиол. растений*, **20**, 733-741.
19. Рубин А. Б., Шинкарев В. П. (1984) *Транспорт электронов в биологических системах*, Наука, Москва.
20. Ризниченко Г. Ю., Воробьева Т. Н., Храброва Е. Н., Рубин А. Б. (1986) Сравнительный анализ кинетических и конформационных характеристик солюбилизованных и встроенных в липосомы пигмент-белковых комплексов фотосистемы I высших растений, *Биофизика*, **31**, 793-799.
21. Riznichenko, G. Yu., Chrabrova, E. N., and Rubin, A. B. (1988) Identification of the parameters of photosynthetic electron transport system, *Studia Biophys.*, **126**, 51-59.
22. Rubin, A. B., and Riznichenko, G. Yu. (2009) Modeling of the primary processes in a photosynthetic membrane, in *Photosynthesis in silico. Advances in Photosynthesis and Respiration*, vol 29 (Laisk, A., Nedbal, L., and Govindjee, eds) Springer, Dordrecht, doi: 10.1007/978-1-4020-9237-4\_7.
23. Riznichenko, G. Yu., Vorobjeva, T. N., Khrabrova, E. N., and Rubin, A. B. (1990) Identification of kinetic parameters of plastocyanin and P-700 interactions in chloroplasts and pigment-protein complexes of photosystem I, *Photosynthetica*, **24**, 495-501.
24. Ризниченко Г. Ю. (1991) Математические модели первичных процессов фотосинтеза, *Успехи науки и техники, серия Биофизика, том 31*, ВИНТИ, Москва.
25. Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. (2020) *Динамические модели электронного транспорта в фотосинтезе*, Изд. ИКИ, Ижевск.
26. Rubin, A. B., and Riznichenko, G. Yu. (2014) *Mathematical Biophysics*, Springer, N.Y., doi: 10.1007/978-1-4614-8702-9.
27. Schatz, G. H., Brock, H., and Holzwarth, A. R. (1988) Kinetic and energetic model for the primary processes in photosystem II, *Biophys. J.*, **54**, 397-405, doi: 10.1016/S0006-3495(88)82973-4.
28. Roelofs, T. A., Lee, C.-H., and Holzwarth, A. R. (1992) Global target analysis of picosecond chlorophyll fluorescence kinetics from pea chloroplasts: a new approach to the characterization of the primary processes in photosystem II  $\alpha$ - and  $\beta$ -units, *Biophys. J.*, **61**, 1147-1163, doi: 10.1016/S0006-3495(92)81924-0.
29. Baake, E., and Shloeder, J. P. (1992) Modelling the fast fluorescence rise of photosynthesis, *Bull. Math. Biol.*, **54**, 999-1021, doi: 10.1007/BF02460663.
30. Bouges-Bocquet, B. (1973) Electron transfer between two photosystems in spinach chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **31**, 250-256, doi: 10.1016/0005-2728(73)90140-0.
31. Velthuys, B. R., and Amesz, J. (1974) Charge accumulation at the reducing side of Photosystem 2 of photosynthesis, *Biochim. Biophys. Acta*, **333**, 85-94, doi: 10.1016/0005-2728(74)90165-0.
32. Stirbet, A., Govindjee, Strasser, B. J., and Strasser, R. J. (1998) Chlorophyll a fluorescence induction in higher plants: modelling and numerical simulation, *J. Theor. Biol.*, **193**, 131-151, doi: 10.1006/jtbi.1998.0692.
33. Stirbet, A., and Govindjee (2012) Chlorophyll a fluorescence induction: a personal perspective of the thermal phase, the J–I–P rise, *Photosynth. Res.*, **113**, 15-61, doi: 10.1007/s11120-012-9754-5.
34. Stirbet A., and Govindjee (2016) The slow phase of chlorophyll a fluorescence induction *in silico*: origin of the S–M fluorescence rise, *Photosynth. Res.*, **130**, 193-213, doi: 10.1007/s11120-016-0243-0.

35. Vredenberg, W. J. (2000) A 3-state model for energy trapping and fluorescence in PS II incorporating radical pair recombination, *Biophys. J.*, **79**, 26-38, doi: 10.1016/S0006-3495(00)76271-0.
36. Lazár, D. (2003) Chlorophyll *a* fluorescence rise induced by high light illumination of dark adapted plant tissue studied by means of a model of photosystem II and considering photosystem II heterogeneity, *J. Theor. Biol.*, **220**, 469-503, doi: 10.1006/JTBI.2003.3140.
37. Lazár, D. (2009) Modelling of light-induced chlorophyll *a* fluorescence rise (O–J–I–P transient) and changes in 820 nm-transmittance signal of photosynthesis, *Photosynthetica*, **47**, 483-498, doi: 10.1007/s11099-009-0074-8.
38. Lazár, D. (2013) Simulations show that a small part of variable chlorophyll *a* fluorescence originates in photosystem I and contributes to overall fluorescence rise, *J. Theor. Biol.*, **335**, 249-264, doi: 10.1016/j.jtbi.2013.06.028.
39. Belyaeva, N. E., Bulychev, A. A., Riznichenko, G. Yu., and Rubin, A. B. (2016) Thylakoid membrane model of the Chl *a* fluorescence transient and P700 induction kinetics in plant leaves, *Photosynth. Res.*, **130**, 491-515, doi: 10.1007/s11120-016-0289-z.
40. Belyaeva, N. E., Bulychev, A. A., Riznichenko, G. Yu., and Rubin, A. B. (2019) Analyzing both the fast and the slow phases of chlorophyll *a* fluorescence and P700 absorbance changes in dark-adapted and preilluminated pea leaves using a Thylakoid Membrane model, *Photosynth. Res.*, **140**, 1-19, doi: 10.1007/s11120-019-00627-8.
41. Belyaeva, N. E., Bulychev, A. A., Klementiev, K. E., Paschenko, V. Z., Riznichenko, G. Yu., et al. (2020) Model quantification of the light-induced thylakoid membrane processes in *Synechocystis* sp. PCC 6803 *in vivo* and after exposure to radioactive irradiation, *Photosynth. Res.*, **146**, 259-278, doi: 10.1007/s11120-020-00774-3.
42. Ebenhoh, O., Fucile, G., Finazzi, G. G., Rochaix, J.-D., and Goldschmidt-Clermont, M. (2014) Short-term acclimation of the photosynthetic electron transfer chain to changing light: a mathematical model, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **369**, 20130223, doi: 10.1098/rstb.2013.0223.
43. Matuszyńska, A., Heidari, S., Jahns, P., and Ebenhoh, O. (2016) A mathematical model of non-photochemical quenching to study short-term light memory in plants, *Biochim. Biophys. Acta*, **1857**, 1860-1869, doi: 10.1016/j.bbabi.2016.09.003.
44. Feng, S., Fu, L., Xia, Q., Tan, J., Jiang, Y., and Guo, Y. (2018) Modelling and simulation of photosystem II chlorophyll fluorescence transition from dark-adapted state to light-adapted state, *IET Syst. Biol.*, **12**, 289-293, doi: 10.1049/iet-syb.2018.5003.
45. Laisk, A., Nedbal, L., and Govindjee (2009) Photosynthesis *in silico*: understanding complexity from molecules to ecosystems, in *Advances in photosynthesis and respiration* (Govindjee, and Sharkey, T. D., eds) Springer, Dordrecht, **29**, doi: 10.1093/aob/mcq022.
46. Zhu, X. G., Wang, Y., Ort, D. R., and Long, S. P. (2013) e-Photosynthesis: a comprehensive dynamic mechanistic model of C3 photosynthesis: from light capture to sucrose synthesis, *Plant Cell Environ.*, **36**, 1711-1727, doi: 10.1111/pce.12025.
47. Вершубский А. В., Невьянцев С. М., Тихонов А. Н. (2018) Моделирование электронного и протонного транспорта в мембранах хлоропластов с учетом тиоредоксин-зависимой активации цикла Кальвина–Бенсона и АТФ-синтазы, *Биологические мембраны*, **35**, 87-103, doi: 10.7868/S0233475518020019.
48. Вершубский А. В., Тихонов А. Н. (2019) pH-зависимая регуляция электронного и протонного транспорта в хлоропластах *in situ* и *in silico*, *Биологические мембраны*, **36**, 242-254, doi: 10.1134/S0233475519040121.
49. Saadat, N. P., Nies, T., van Aalst, M., Hank, B., Demirtas, B., et al. (2021) Computational analysis of alternative photosynthetic electron flows linked with oxidative stress, *Front. Plant Sci.*, **12**, doi: 10.3389/fpls.2021.750580.
50. Штирбет А., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б., Говинджи (2014) Моделирование кинетики флуоресценции хлорофилла *a*: связь с фотосинтезом, *Биохимия*, **79**, 379-412, doi: 10.1134/S0006297914040014.
51. Riznichenko, G. Yu., Lebedeva, G. V., Demin, O. V., and Rubin, A. B. (1999) Kinetic mechanisms of biological regulation in photosynthetic organisms, *J. Biol. Phys.*, **25**, 177-192, doi: 10.1023/A:100510170318.
52. Лебедева Г. В., Беляева Н. Е., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б., Демин О. В. (2000) Кинетическая модель фотосистемы II высших растений, *Журнал физ. химии*, **74**, 1874-1883.
53. Лебедева Г. В., Беляева Н. Е., Демин О. В., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. (2002) Кинетическая модель первичных процессов фотосинтеза в хлоропластах. Описание быстрой фазы индукции флуоресценции хлорофилла при различной интенсивности света, *Биофизика*, **47**, 1044-1058.
54. Belyaeva, N. E., Schmitt, F.-J., Steffen, R., Paschenko, V. Z., Riznichenko, G. Yu., et al. (2008) PSII model-based simulations of single turnover flash-induced transients of fluorescence yield monitored within the time domain of 100 ns-10 s on dark-adapted *Chlorella pyrenoidosa* cells, *Photosyn. Res.*, **9**, 105-119, doi: 10.1007/s11120-008-9374-2.
55. Belyaeva, N. E., Schmitt, F.-J., Paschenko, V. Z., Riznichenko, G. Yu., Rubin, A. B., et al. (2011)

- PS II model based analysis of transient fluorescence yield measured on whole leaves of *Arabidopsis thaliana* after excitation with light flashes of different energies, *BioSystems*, **103**, 188-195, doi: 10.1016/j.biosystems.2010.09.014.
56. Schansker, G., Tóth, S. Z., Kovács, L., Holzwarth, A. R., and Garab, G. (2011) Evidence for a fluorescence yield change driven by a light-induced conformational change within photosystem II during the fast chlorophyll a fluorescence rise, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1807**, 1032-1043, doi: 10.1016/j.bbabi.2011.05.022.
57. Magyar, M., Sipka, G., Kovács, L., Ughy, B., Zhu, Q., et al. (2018) Rate-limiting steps in the dark-to-light transition of Photosystem II – revealed by chlorophyll-*a* fluorescence induction, *Sci. Rep.*, **8**, 2755, doi: 10.1038/s41598-018-21195-2.
58. Устинин Д. М., Коваленко И. Б., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. (2013) Сопряжение различных методов компьютерного моделирования в комплексной модели фотосинтетической мембраны, *Компьютерные исследования и моделирование*, **5**, 65-81, doi: 10.20537/2076-7633-2013-5-1-65-81.
59. Duysens L. N. M., and Sweers, H. E. (1963) Mechanism of two photochemical reactions in algae as studied by means of fluorescence, *Photosynth. Bacteria*, **372**, 353-372.
60. Zhu, X.-G., Govindjee, Baker, N. R., deSturler, E., Ort, D. R., et al. (2005) Chlorophyll *a* fluorescence induction kinetics in leaves predicted from a model describing each discrete set of excitation energy and electron transfer associated with photosystem II, *Planta*, **223**, 114-133, doi: 10.1007/s00425-005-0064-4.
61. Xin, C.-P., Yang, J., and Zhu, X.-G. (2013) A model of chlorophyll *a* fluorescence induction kinetics with explicit description of structural constraints of individual photosystem II units, *Photosynth. Res.*, **117**, 339-354, doi: 10.1007/s11120-013-9894-2.
62. Belyaeva, N. E., Schmitt, F.-J., Paschenko, V. Z., Riznichenko, G. Yu., Rubin, A. B., et al. (2014) Model based analysis of transient fluorescence yield induced by actinic laser flashes in spinach leaves and cells of green algae *Chlorella pyrenoidosa* Chick, *Plant Physiol. Biochem.*, **77**, 49-59, doi: 10.1016/j.plaphy.2014.01.017.
63. Belyaeva, N. E., Schmitt, F.-J., Paschenko, V. Z., Riznichenko, G. Yu., and Rubin, A. B. (2015) Modelling of the redox state dynamics in photosystem II of *Chlorella pyrenoidosa* Chick cells and leaves of spinach and *Arabidopsis thaliana* from single flash induced fluorescence quantum yield changes on the 100 ns-10 s time scale, *Photosynth. Res.*, **125**, 123-140, doi: 10.1007/s11120-015-0163-4.
64. Беляева Н. Е., Булычев А. А., Пашенко В. З., Клементьев К. Е., Ермаченко П. А., и др. (2022) Динамика процессов в тилакоидных мембранах водорослей *in vivo*, изучаемая в моделях Фотосистемы II и тилакоида по измерениям индукции флуоресценции, *Биофизика*, **67**, doi: 10.31857/S00063029220250.
65. Antal, T. K., Kovalenko, I. B., Rubin, A. B., and Tyystjärvi, E. (2013) Photosynthesis-related quantities for education and modeling, *Photosynth. Res.*, **117**, 1-30, doi: 10.1007/s11120-013-9945-8.
66. Matuszyńska, A., Saadat, N.P., and Ebenhoh, O. (2019) Balancing energy supply during photosynthesis – a theoretical perspective, *Physiol. Plant.*, **166**, 392-402, doi: 10.1111/pp1.12962.
67. Snellenburg, J., Johnson, M. P., Ruban, A. V., van Grondelle, R., and van Stokkum, I. H. M. (2017) A four state parametric model for the kinetics of the non-photochemical quenching in Photosystem II, *Biochim. Biophys. Acta*, **1858**, 854-864, doi: 10.1016/j.bbabi.2017.08.004.
68. Morales, A., Yin, X., Harbinson, J., Driever, S. M., Molenaar, J., et al. (2018) *In silico* analysis of the regulation of the photosynthetic electron transport chain in C3 plants, *Plant Physiol.*, **176**, 1247-1261, doi: 10.1104/pp.17.00779.
69. Mathur, S., Sunoj, V., Elsheery, N., Jajoo, A., and Cao, K.-F. (2021) Regulation of Photosystem II heterogeneity and photochemistry in two cultivars of C4 crop sugarcane under chilling stress, *Front. Plant Sci.*, **12**, doi: 10.3389/fpls.2021.627012.
70. Antal, T. K., Maslakov, A. S., Yakovleva, O. V., Krendeleva, T. E., Riznichenko, G. Yu., et al. (2018) Simulation of chlorophyll fluorescence rise and decay kinetics, and P700-related absorbance changes by using a rule-based kinetic Monte-Carlo method, *Photosyn. Res.*, **138**, 191-206, doi: 10.1007/s11120-018-0564-2.
71. Suslichenko I. S., Trubitsin B. V., Vershubskii A. V., and Tikhonov A. N. (2022) The noninvasive monitoring of the redox status of photosynthetic electron transport chains in *Hibiscus rosa-sinensis* and *Tradescantia* leaves, *Plant Physiol. Biochem.*, **185**, 233-243, doi: 10.1016/j.plaphy.2022.06.002.
72. Маслаков А. С. (2020) Описание процессов в ансамблях фотосинтетических реакционных центров с помощью кинетической модели типа Монте-Карло, *Компьютерные исследования и моделирование*, **12**, 1207-1221, doi: 10.20537/2076-7633-2020-12-5-1207-1221.
73. Antal, T. K., Kolacheva, A., Maslakov, A., Riznichenko, G. Yu., Krendeleva, T. E., et al. (2013) Study of the effect of reducing conditions on the initial chlorophyll fluorescence rise in the green microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*, *Photosynth. Res.*, **114**, 143-215, doi: 10.1007/s11120-012-9789-7.
74. Joliot, P., and Joliot, A. (1981) Characterization of photosystem II centers by polarographic, spectroscopic and fluorescence methods. In *Photosynthesis III* (Akoyunoglou, G., ed.) Balaban International Science Services, Philadelphia, pp. 885-899.

75. Guo, Y., and Tan, J. (2014) Kinetic Monte-Carlo simulation of the initial phases of chlorophyll fluorescence from photosystem II, *BioSystems*, **115**, 1-4, doi: 10.1016/j.biosystems.2013.10.004.
76. Ruban, A., Foyer, C., and Murchie, E. (2022) *Photosynthesis in Action: Harvesting Light, Generating Electrons, Fixing Carbon*, Academic Press, doi: 10.1016/C2020-0-00724-3.
77. Staehelin, L. A., and Paolillo, D. J. (2020) A brief history of how microscopic studies led to the elucidation of the 3D architecture and macromolecular organization of higher plant thylakoids, *Photosynth. Res.*, **145**, 237-258, doi: 10.1007/s11120-020-00782-3.
78. Pospíšil, P., and Dau, H. (2002) Valinomycin sensitivity proves that light induced thylakoid voltages result in millisecond phase of chlorophyll fluorescence transients, *Biochim. Biophys. Acta*, **1554**, 94-100, doi: 10.1016/s0005-2728(02)00216-5.
79. Boisvert, S., Joly, D., and Carpentier, R. (2006) Quantitative analysis of the experimental O-I-J-P kinetic fluorescence induction kinetics. Apparent activation energy and origin of each kinetic step, *FEBS J.*, **273**, 4770-4777, doi: 10.1111/j.1742-4658.2006.05475.x.
80. Vredenberg, W. J. (2008) Algorithm for analysis of OJDIP fluorescence induction curves in terms of photo- and electrochemical events in photosystems of plant cells: derivation and application, *J. Photochem. Photobiol. B*, **91**, 58-65, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2008.01.005.
81. Vredenberg, W., and Prasil, O. (2009) Modeling of chlorophyll *a* fluorescence kinetics, in *Photosynthesis in silico: Understanding Complexity from Molecules to Ecosystems* (Laisk, A., Nedbal, L., and Govindjee, eds) Dordrecht, Springer, **29**, 125-149, doi: 10.1007/978-1-4020-9237-4\_6.
82. Strasser, B. J., and Strasser, R. J. (1995) Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test, in *Photosynthesis: From Light to Biosphere* (Mathis, P., ed.), Kluwer Academic, The Netherlands, **5**, 977-980, doi: 10.1007/978-94-009-0173-5\_1142.
83. Solovchenko, A., Aflalo, C., Lukyanov, A., and Boussiba, S. (2013) Nondestructive monitoring of carotenogenesis in *Haematococcus pluvialis* via wholecell optical density spectra, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **97**, 4533-4541, doi: 10.1007/s00253-012-4677-9.
84. Плюснина Т. Ю., Хрущев С. С., Фролов А. Е., Дегтерева Н. С., Конюхов И. В., и др. (2019) Мониторинг фотосинтетической активности культуры микроводорослей *Chlorella* при истощении азота в среде, *Биофизика*, **64**, 468-477, doi: 10.1134/S0006302919030062.
85. Kalaji, H. M., Oukarroum, A., Alexandrov, V., Kouzmanova, M., Brestic, M., et al. (2014) Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence measurements, *Plant Physiol. Biochem.*, **81**, 16-25, doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.029.
86. Stirbet, A., Lazar, D., Kromdijk, J., and Govindjee (2018) Chlorophyll *a* fluorescence induction: can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? *Photosynthetica*, **56**, 86-104, doi: 10.1007/s11099-018-0770-3.
87. Плюснина Т. Ю., Хрущев С. С., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. (2015) Анализ кинетики индукции флуоресценции хлорофилла с помощью спектральной мультиэкспоненциальной аппроксимации, *Биофизика*, **60**, 487-495, doi: 10.1134/S000635091503015X.
88. Antal, T., Konyukhov, I., Volgusheva, A., Plyusnina, T., Khruschev, S., et al. (2019) Chlorophyll fluorescence induction and relaxation system for the continuous monitoring of photosynthetic capacity in photobioreactors, *Physiol. Plant.*, **165**, 476-486, doi: 10.1111/ppl.12693.
89. Plyusnina, T., Khruschev, S., Degtereva, N., Konyukhov, I., Solovchenko, A., et al. (2020) Gradual changes in the photosynthetic apparatus triggered by nitrogen depletion during microalgae cultivation in photobioreactor, *Photosynthetica*, **58**, 443-451, doi: 10.32615/ps.2020.002.
90. Kirchhoff, H., Mukherjee, U., and Galla, H. J. (2002) Molecular architecture of the thylakoid membrane: lipid diffusion space for plastoquinone, *Biochemistry*, **41**, 4872-4882, doi: 10.1021/bi101650y.
91. Albertsson, P.-A. (2001) A quantitative model of the domain structure of the photosynthetic membrane, *Trends Plant. Sci.*, **6**, 349-354, doi: 10.1016/s1360-1385(01)02021-0.
92. McKenzie, S. D., Ibrahim, I. M., Aryal, U. K., and Puthiyaveetil, E. (2020) Stoichiometry of protein complexes in plant photosynthetic membranes, *Biochim. Biophys. Acta Bioenergetics*, **1861**, doi: 10.1016/j.bbabi.2019.148141.
93. Pearson Jr., D. C., and Gross, E. L. (1998) Brownian dynamics study of the interaction between plastocyanin and cytochrome *f*, *Biophys. J.*, **75**, 2698-2711, doi: 10.1016/S0006-3495(98)77714-8.
94. Gross, E. L., and Rosenberg, I. (2006) A Brownian dynamics study of the interaction of *Phormidium* cytochrome *f* with various cyanobacterial plastocyanins, *Biophys. J.*, **90**, 366-380, doi: 10.1529/biophysj.105.065185.
95. Хрущев С. С., Абатурова А. М., Дьяконова А. Н., Федоров В. А., Устинин Д. М., и др. (2015) Моделирование взаимодействий белков фотосинтетической электрон-транспортной цепи фотосинтеза методом броуновской динамики, *Биофизика*, **60**, 270-292, doi: 10.1134/S0006350915020086.
96. Kovalenko, I. B., Abaturova, A. M., Gromov, P. A., Ustinin, D. M., Grachev, E. A., et al. (2006) Direct simulation of plastocyanin and cytochrome *f*

- interactions in solution, *Phys. Biol.*, **3**, 121-129, doi: 10.1088/1478-3975/3/2/004.
97. Kovalenko, I. B., Diakonova, A. N., Abaturova, A. M., Riznichenko, G. Yu., and Rubin, A. B. (2010) Direct computer simulation of ferredoxin and FNR complex formation in solution, *Phys. Biol.*, **7**, 026001, doi: 10.1088/1478-3975/7/2/026001.
98. Kovalenko, I. B., Diakonova, A. N., Riznichenko, G. Yu., and Rubin, A. B. (2011) Computer simulation of interaction of photosystem 1 with plastocyanin and ferredoxin, *BioSystems.*, **103**, 180-187, doi: 10.1016/j.biosystems.2010.09.013.
99. Kovalenko, I. B., Knyaseva, O. S., Antal, T. K., Ponomarev, V., Riznichenko, G. Yu., et al. (2017) Multiparticle Brownian dynamics simulation of experimental kinetics of cytochrome *bf* oxidation and photosystem 1 reduction by plastocyanin, *Physiol. Plant.*, **161**, 88-96, doi: 10.1111/ppl.12570.
100. Князева О. С., Коваленко И. Б., Абатурова А. М., Ризниченко Г. Ю., Грачев Е. А., и др. (2010) Многочастичная модель диффузии и взаимодействия пластоцианина с цитохромом *f* в электростатическом поле фотосинтетической мембраны, *Биофизика*, **55**, 259-268, doi: 10.1134/S0006350910020090.
101. Riznichenko, G. Yu., Kovalenko, I. B., Abaturova, A. M., Diakonova, A. N., Ustinin, D. M., et al. (2010) New direct dynamic models of protein interactions coupled to photosynthetic electron transport reactions, *Biophys. Rev.*, **2**, 101-110, doi: 10.1007/s12551-010-0033-4.
102. Riznichenko, G. Yu., and Kovalenko, I. B. (2019) Multiparticle models of Brownian dynamics for the description of photosynthetic electron transfer involving protein mobile carriers, *Int. J. Appl. Res. Bioinform.*, **9**, 1-19, doi: 10.4018/IJARB.2019010101.
103. Хрущев С. С., Абатурова А. М., Дьяконова А. Н., Устинин Д. М., Зленко Д. В., и др. (2013) Моделирование белок-белковых взаимодействий с применением программного комплекса много-частичной броуновской динамики ProKSim, *Компьютерные исследования и моделирование*, **5**, 47-64, doi: 10.20537/2076-7633-2013-5-1-47-64.
104. Хрущев С. С., Абатурова А. М., Федоров В. А., Коваленко И. Б., Ризниченко Г. Ю., и др. (2015) Идентификация промежуточных состояний в процессе диффузионного сближения электрон-транспортных белков пластоцианина и цитохрома *f*, *Биофизика*, **60**, 629-638, doi: 10.1134/S0006350915040156.
105. Diakonova, A. N., Khrushchev, S. S., Kovalenko, I. B., Riznichenko, G. Yu., and Rubin A. B. (2016) Influence of pH and ionic strength on electrostatic properties of ferredoxin, FNR, and hydrogenase and the rate constants of their interaction, *Phys. Biol.*, **13**, 056004, doi: 10.1088/1478-3975/13/5/056004.
106. Дьяконова А. Н., Хрущев С. С., Коваленко И. Б., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. (2016) Роль электростатических взаимодействий при образовании комплексов ферредоксин-ferredоксин-НАДФ<sup>+</sup>-редуктаза и ферредоксин-гидрогеназа, *Биофизика*, **61**, 677-685, doi: 10.1134/S0006350916040060.
107. Riznichenko, G. Yu., Plyusnina, T. Yu., Diakonova, A. N., Kovalenko, I. B., Khrushchev, S. S., et al. (2017) pH regulation of hydrogen-generating microalgae photosynthetic chain. Kinetic and multiparticle Brownian models, *Nonlinearity: Problems, Solutions and Applications*, Science Publishers, Inc., United States, pp. 181-202.
108. Fedorov, V. A., Kovalenko, I. B., Khrushchev, S. S., Ustinin, D. M., Antal, T. K., et al. (2019) Comparative analysis of plastocyanin-cytochrome *f* complex formation in higher plants, green algae and cyanobacteria, *Physiol. Plant.*, **166**, 320-335, doi: 10.1111/ppl.12940.

## MATHEMATICAL SIMULATION OF ELECTRON TRANSPORT IN THE PRIMARY PHOTOSYNTHETIC PROCESSES

### Review

G. Yu. Riznichenko<sup>1\*</sup>, N. E. Belyaeva<sup>1</sup>, I. B. Kovalenko<sup>1</sup>, T. K. Antal<sup>2</sup>, S. N. Goryachev<sup>1</sup>,  
A. S. Maslakov<sup>1</sup>, T. Yu. Plyusnina<sup>1</sup>, V. A. Fedorov<sup>1</sup>, S. S. Khrushchev<sup>1</sup>,  
O. V. Yakovleva<sup>1</sup>, and A. B. Rubin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Biophysics,  
119234 Moscow, Russia; E-mail: riznich46@mail.ru

<sup>2</sup> Pskov State University, 180000 Pskov, Russia

A review of the results of work on the study of the regulation of electron transport and associated processes in the photosynthetic membrane by the methods of mathematical and computer modeling, carried out at the Department of Biophysics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, is presented. Detailed

kinetic models of processes in the thylakoid membrane were developed using the apparatus of differential equations. Fitting the model curves according to the data of spectral measurements made allowed us to estimate the values of parameters that are inaccessible to direct experimental measurement. The probabilistic method of agent-based Monte Carlo modeling provides ample opportunities for studying the dynamics of heterogeneous systems based on the rules for the behavior of individual elements of the system. Algorithms for simplified representation of Big Data make it possible to monitor changes in the photosynthetic apparatus in the course of culture growth in a photobioreactor and for the purpose of environmental monitoring. Brownian and molecular models describe the movement and interaction of individual electron carrier proteins and make it possible to study electrostatic, hydrophobic and other interactions leading to the regulation of conformational changes in reaction complexes. Direct multiparticle models explicitly simulate the Brownian diffusion of mobile protein carriers and their electrostatic interactions with multienzyme complexes both in solution and in the heterogeneous interior of a biomembrane. The combined use of methods of kinetic and Brownian multiparticle and molecular modeling makes it possible to study the mechanisms of regulation of an integral system of electron transport processes in subcellular and in plants and algae.

*Keywords:* photosynthesis, electron transport, fluorescence, kinetic models, Brownian multiparticle models, molecular modeling