

СРАВНЕНИЕ АБСОРБЦИОННОЙ ДИНАМИКИ СИНГЛЕТНЫХ ВОЗБУЖДЁННЫХ СОСТОЯНИЙ ХЛОРОФИЛЛОВ *a* И *d*

© 2022 Д.А. Черепанов^{1,2*}, А.А. Петрова², М.Д. Мамедов², А.И. Вишневская²,
Ф.Е. Гостев¹, И.В. Шелаев^{1,2}, А.В. Айбуш¹, В.А. Надточенко^{1,3}

¹ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН,
119991 Москва, Россия; электронная почта: tscherepanov@gmail.com

² Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119992 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет,
119992 Москва, Россия

Поступила в редакцию 17.03.2022

После доработки 19.04.2022

Принята к публикации 06.05.2022

Методом широкополосной фемтосекундной лазерной спектроскопии «возбуждение-зондирование» измерена абсорбционная динамика хлорофиллов *a* и *d* в тетрагидрофуране в диапазоне 400–870 нм. Получены спектры поглощения возбуждённых синглетных состояний S_1 хлорофиллов *a* и *d*, а также определена динамика сдвига полосы Q_y стимулированного излучения этих пигментов (Стоксов сдвиг полосы флуоресценции) во временном диапазоне от 60 фс до 4 пс. Измерена кинетика внутримолекулярной конверсии $Q_x \rightarrow Q_y$ (электронный переход $S_2 \rightarrow S_1$); характерное время релаксации составило 54 ± 3 фс для хлорофилла *a* и 45 ± 9 фс – для хлорофилла *d*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хлорофилл *a*; хлорофилл *d*; фемтосекундная лазерная спектроскопия; спектр возбуждённого состояния; динамика сдвига Стокса; внутримолекулярная конверсия.

DOI: 10.31857/S032097252210013X, EDN: BDNNTB

ВВЕДЕНИЕ

Фотосинтетический аппарат высших растений, водорослей и цианобактерий включает пигмент-белковые комплексы двух типов: светособирающую антенну, в которой около ста молекул различных пигментов интегрированы в общую белковую матрицу, и реакционный центр, в котором происходит разделение зарядов и создаётся трансмембранная разность электрического потенциала [1, 2]. Основным пигментом как антенны, так и реакционных центров большинства фотосинтезирующих организмов является хлорофилл *a* (Хл *a*). Фотосинтетические комплексы некоторых цианобактерий содержат длинноволновые формы хлорофилла *d* и *f* [3, 4], позволяющие использовать световую энергию инфракрасного диапазона [5, 6]. Изучение свойств возбуждённого

состояния Хл *d* стало в настоящее время особенно актуальным в связи с публикацией структуры высокого разрешения фотосистемы I (ФС I) из цианобактерии *Acaryochloris marina*, в которой этот пигмент играет ключевую роль в процессах поглощения света в ближнем инфракрасном диапазоне и в первичных реакциях разделения зарядов [7, 8].

Процессы миграции энергии в светособирающих комплексах и реакции разделения зарядов в реакционном центре происходят в одном масштабе времени (1–10 пс), поэтому для изучения этих процессов активно используют методы фемтосекундной лазерной спектроскопии «возбуждение-зондирование» [2]. Интерпретация переходных спектров в подобных экспериментах сильно облегчается, если известны спектральные характеристики нижнего возбуждённого состояния (S_1) хлорофилла в видимой и ближней инфракрасной областях [9, 10], однако в настоящее время спектры возбуждённого состояния Хл *d* не получены. В связи с этим исследование синглетного состояния Хл *d* имеет особую актуальность.

Принятые сокращения: ДМФ – N,N-диметилформамид; ТГФ – тетрагидрофуран; ФС – фотосистема; Хл – хлорофилл.

* Адресат для корреспонденции.

В данной работе представлены спектры поглощения возбуждённых синглетных состояний S_1 хлорофиллов *a* и *d* в тетрагидрофуране (ТГФ) в диапазоне 400–870 нм, полученные методом фемтосекундной лазерной спектроскопии «возбуждение-зондирование», а также динамика сверхбыстрых внутримолекулярных электронных переходов $S_2 \rightarrow S_1$ и Стоксова сдвига полосы флуоресценции Q_y двух указанных хлорофиллов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экстракция хлорофиллов осуществлялась на рассеянном свете. Хл *a* экстрагировали из листьев шпината обработкой ацетоном в течение 10 мин, за которой следовало смешивание с гексаном. Хл *a* отделяли от других пигментов методом тонкослойной хроматографии с использованием подвижной фазы, состоящей из смеси гексана и ацетона в соотношении 7/3. Экстракцию Хл *d* из тилакоидных мембран, выделенных из цианобактерии *A. marina*, проводили с помощью диметилсульфоксида (ДМСО) [11], для удаления молекул неполярных пигментов использовали циклогексан.

Идентификацию и чистоту хлорофилла в экстракте определяли с помощью УФ-видимой- и ИК-спектроскопии. Хл хранили в N,N-диметилформамиде (ДФМ) при -80°C .

Оптические изменения регистрировали в оптическом диапазоне 400–900 нм на временных задержках от 60 фс до 500 пс. Экспериментальная установка и методика измерений были описаны ранее [10]. Возбуждение раствора Хл *d* осуществлялось фемтосекундным лазерным импульсом с максимумом на 640 нм (полуширина – 35 нм, длительность – 25 фс, энергия – 45 нДж), для возбуждения раствора Хл *a* использовался импульс с максимумом на 615 нм (полуширина – 35 нм, длительность – 24 фс, энергия – 10 нДж). Абсорбционные измерения проводились при углах поляризации 0, 54,7 и 90 градусов относительно поляризации возбуждающего импульса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На рис. 1, *a* приведён переходный спектр Хл *d* в ТГФ на временной задержке 1 пс (сплошная линия, ТА).

Возбуждение Хл *d* фемтосекундным импульсом с максимумом на 640 нм индуцировало образование синглетных состояний S_1 (переход $Q_y(1,0)$) и S_2 (переход $Q_x(0,0)$), которые

соответствуют полосе поглощения 650 нм [12]. Время электронной конверсии $S_2 \rightarrow S_1$ различных модификаций хлорофилла составляет около 100 фс [13], поэтому переходный абсорбционный спектр на задержке 1 пс представляет суперпозицию спектра выцветания основного состояния S_0 (отрицательный вклад) и спектра поглощения первого возбуждённого состояния S_1 (положительный вклад). Кроме того, в дальнем красном диапазоне присутствует стимулированное излучение, обусловленное переходом $S_1 \rightarrow S_0$ (отрицательный вклад). Для количественной интерпретации на рис. 1, *a* приведён стационарный спектр поглощения Хл *d* в ТГФ, взятый с обратным знаком (штрих-пунктир, A_0). Переходный спектр был нормирован по спектру поглощения Хл *d* на длине волны 455 нм (полоса Core), коэффициент экстинкции которого ($\Delta\epsilon_{445}$) составляет $8,7 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [14].

На рис. 1, *b* сплошной линией (1) показан спектр поглощения Хл *d* в первом возбуждённом состоянии S_1 . Он был получен сложением переходного спектра (ТА), линейного спектра поглощения Хл *d* в ТГФ (2) и модельного спектра флуоресценции полосы Q_y (3), с помощью которого учитывался вклад стимулированного излучения. Спектр флуоресценции был смоделирован зеркальным отражением спектра поглощения A_0 относительно максимума полосы Q_y . Амплитуду и сдвиг Стокса спектра флуоресценции $\Delta\lambda$ определяли методом нелинейной регрессии, амплитуда составила 60% от амплитуды полосы Q_y спектра поглощения Хл *d*, а величина сдвига Стокса полосы Q_y в красную сторону была равна 6 нм. Аналогичным образом был получен спектр поглощения возбуждённого состояния Хл *a* (рис. 1, *b*).

Наблюдаемый сдвиг минимума полосы Q_y переходного спектра в длинноволновую сторону (Стоксов сдвиг полосы флуоресценции) обусловлен понижением энергии возбуждённого состояния за счёт внутримолекулярных релаксационных процессов и поляризации растворителя [15]. На рис. 2 представлена динамика сдвига полос Хл *a* и Хл *d*, полученная описанным выше методом для переходных спектров на временных задержках от 60 фс до 4 пс. Экспериментальные данные были аппроксимированы суммой двух экспоненциальных компонент, их параметры приведены в таблице.

Быстрая компонента релаксации со временем $\tau_1 = 0,13\text{--}0,14$ пс в обоих случаях характеризуется близкой по величине амплитудой сдвига Стокса ($\Delta\lambda_1 = 2,4\text{--}3,1$ нм). Характерное время τ_2 медленной компоненты релаксации равно

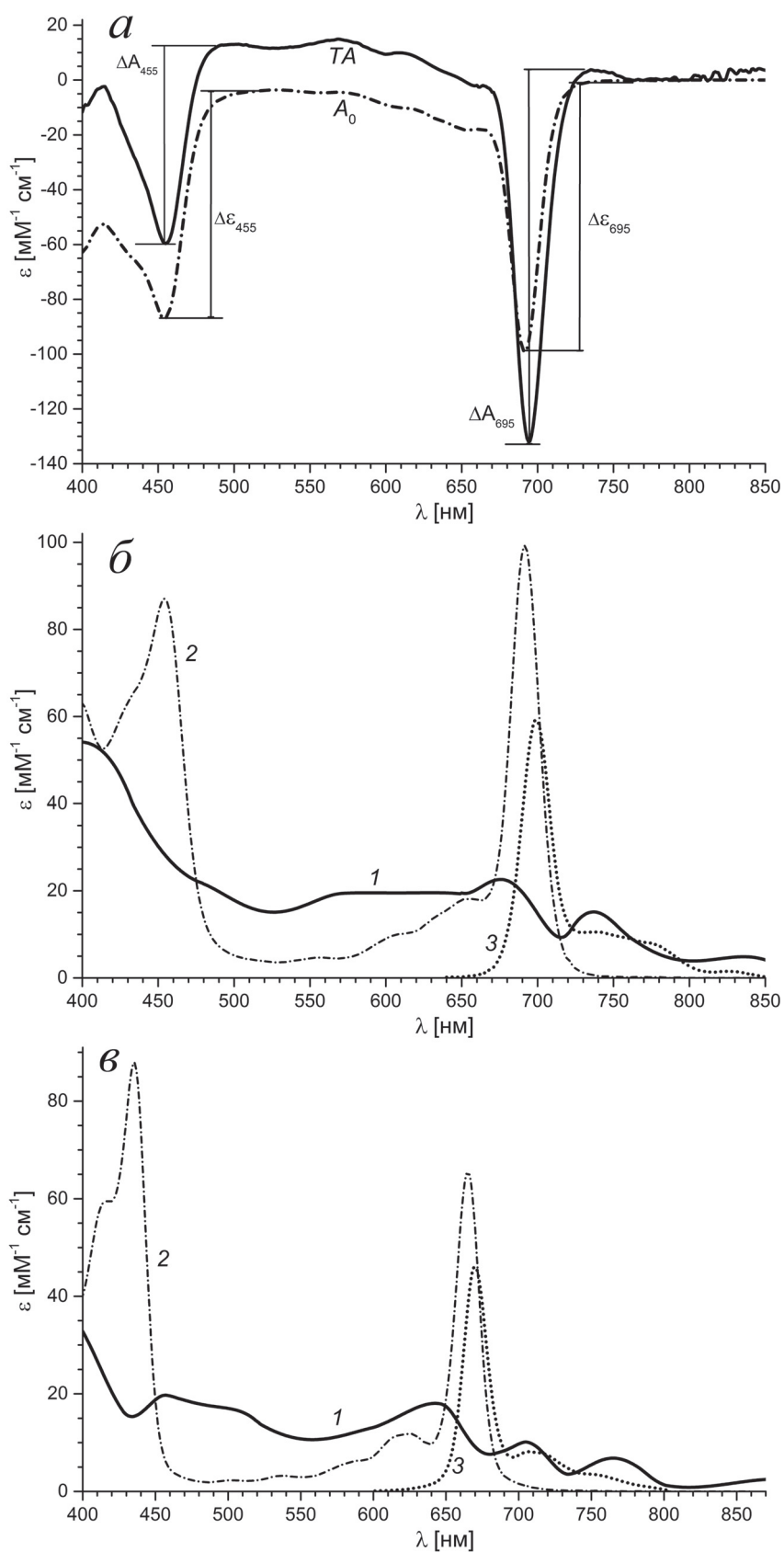


Рис. 1. Спектры хлорофиллов *a* и *d* в тетрагидрофуране. *a* – Переходный спектр возбуждённого Хл *d* на задержке 1 пс (ТА) и инвертированный линейный спектр поглощения Хл *d* в основном состоянии (A_0). *б* – Спектры поглощения возбуждённого S_1 (1, сплошная линия) и основного S_0 (2, штрих-пунктир) электронных состояний Хл *d*, а также модельный спектр стимулированного излучения Хл *d* (3, точки). *в* – Спектры поглощения состояний S_1 (1, сплошная линия) и S_0 (2, штрих-пунктир), а также модельный спектр стимулированного излучения (3, точки) Хл *a*

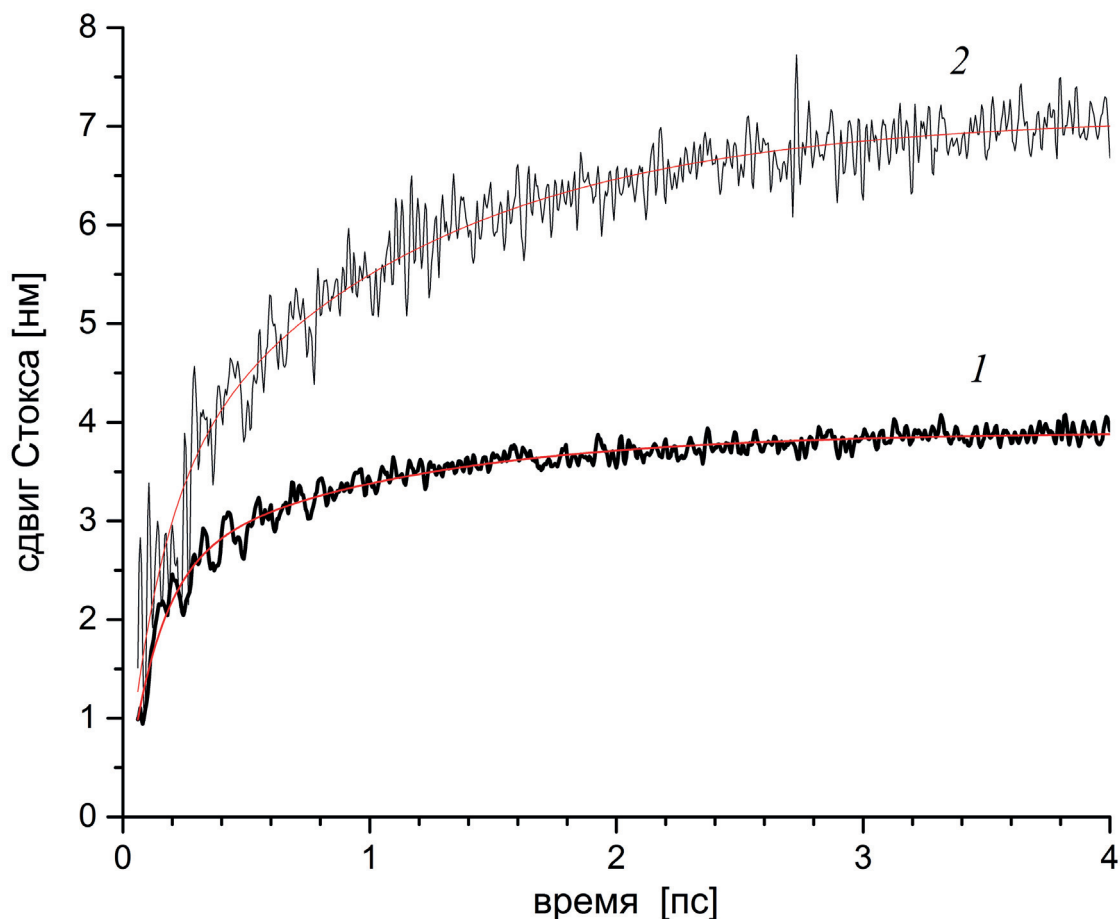


Рис. 2. Изменение во времени величины сдвига Стокса для Хл *a* (1) и Хл *d* (2)

1,0–1,1 пс, однако медленная компонента сдвига Стокса Хл *d* ($\Delta\lambda_2 = 4,0$ нм) существенно превосходит по величине сдвиг Хл *a* ($\Delta\lambda_2 = 1,5$ нм). Медленная компонента обусловлена взаимодействием дипольного момента возбуждённого состояния Хл с окружающим растворителем (диэлектрическая проницаемость ТГФ равна 7,6). Присутствие дополнительной кетонной группы в макроцикле Хл *d* усиливает перераспределение электронной плотности в возбуждённом состоянии, что соответствует большей величине сдвига Хл *d* по сравнению с Хл *a*. Быстрая компонента отражает внутримолекулярную релаксацию

порфиринового макроцикла, и в случае Хл *a* динамика сдвига Стокса на временах ≤ 1 пс содержит выраженные когерентные низкочастотные осцилляции.

На рис. 3 показано изменение амплитуды выцветания полосы Q_y для Хл *a* (толстые линии) и Хл *d* (тонкие линии) во времени. Экспериментальные данные приведены для двух углов оптической поляризации – параллельной (верхние кривые) и ортогональной (нижние кривые). Для ортогональной компоненты полосы выцветания Хл *a* приведены две повторности (точки), которые демонстрируют, что небольшие отклонения от экспонен-

Характерные времена и амплитуды двух экспоненциальных компонент сдвига Стокса Хл *a* и Хл *d*

Компоненты	Быстрая		Медленная		Сумма
	τ_1 (пс)	$\Delta\lambda_1$ (нм)	τ_2 (пс)	$\Delta\lambda_2$ (нм)	
Хл <i>a</i>	$0,13 \pm 0,01$	$2,4 \pm 0,10$	$0,96 \pm 0,03$	$1,5 \pm 0,05$	$3,9 \pm 0,15$
Хл <i>d</i>	$0,14 \pm 0,02$	$3,1 \pm 0,24$	$1,10 \pm 0,03$	$4,0 \pm 0,12$	$7,1 \pm 0,36$

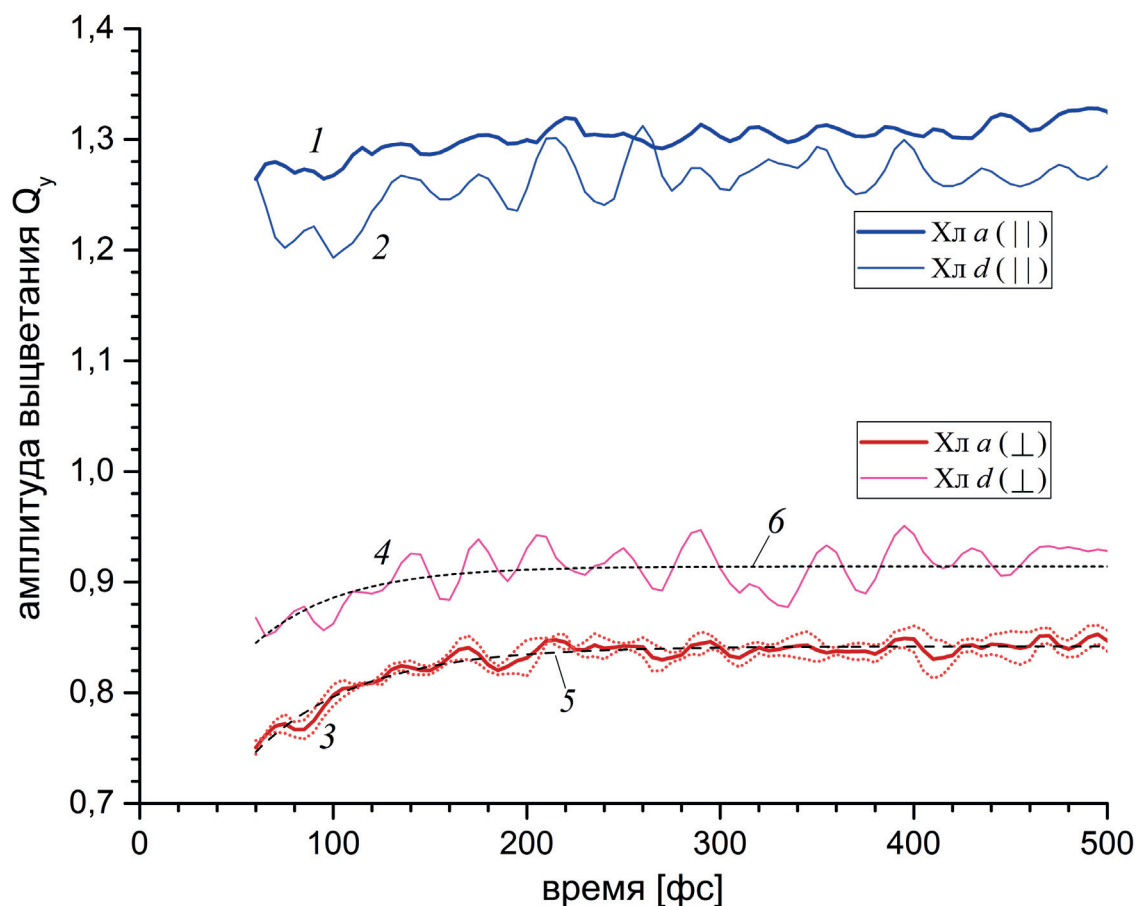


Рис. 3. Изменение во времени суммарной амплитуды выцветания полосы Q_y для Хл *a* (толстые линии 1 и 3) и Хл *d* (тонкие линии 2 и 4). Экспериментальные данные приведены для параллельных – синие кривые сверху (1 и 2) и ортогональных – красные кривые внизу (3 и 4) поляризационных компонент поглощения. Для ортогональной компоненты полосы выцветания Хл *a* приведены две повторности (не показана). Кривые нормированы относительно магической поляризационной компоненты (не показана). Изменение поглощения во временном диапазоне 100 фс отражает появление стимулированного излучения в результате электронного перехода $S_2 \rightarrow S_1$, характерное время которого составляет 54 фс для Хл *a* (толстый пунктир, 5) и 45 фс – для Хл *d* (тонкий пунктир, 6)

циальной динамики (разреженный пунктир) имеют систематический характер (обусловлены когерентной динамикой ТГФ, данные не показаны).

Увеличение амплитуды выцветания во временном диапазоне 100 фс отражает появление дополнительного стимулированного излучения в результате электронного перехода $S_2 \rightarrow S_1$ [13], характерное время этой внутримолекулярной конверсии составило 54 ± 3 фс для Хл *a* и 45 ± 9 фс – для Хл *d* (аппроксимации экспериментальных данных экспоненциальной зависимостью показаны пунктирными линиями). Увеличение стимулированного излучения полосы Q_y в результате электронного перехода $S_2 \rightarrow S_1$ происходит преимущественно в ортогональной компоненте поляризации, данная анизотропия обусловлена тем обстоятельством, что вектор дипольного момента перехода Q_x ортогонален вектору перехода Q_y [12].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хл *a* является основным пигментом в фотосинтетическом аппарате растений, водорослей и большинства цианобактерий. Он участвует как в процессах поглощения и передачи световой энергии в светособирающих комплексах, так и в первичных фотохимических реакциях разделения зарядов в реакционных центрах ФС I и ФС II. Спектры первого синглетного возбуждённого состояния Хл *a* в видимом диапазоне до 670 нм были неоднократно описаны в литературе [16–18], однако для идентификации короткоживущих интермедиатов фотохимических реакций в фотосинтетических комплексах наибольший интерес представляет ближний инфракрасный диапазон в области 680–800 нм. Ранее нами был получен спектр возбуждённого состояния Хл *a* в ДМФ [19], в котором есть несколько заметных отличий от спектра Хл *a* в ТГФ, представленном на рис. 1, в.

Главное отличие двух работ связано с методом моделирования спектра стимулированного излучения. В работе Cherepanov et al. [19] спектр стимулированного излучения аппроксимировался одной гауссовой компонентой, ширина которой была равна ширине полосы $Q_y(0,0)$ линейного спектра поглощения Хл *a* в ДМФ. Однако в этой аппроксимации не учитывалось, что спектр флуоресценции Хл *a* в области 700–730 нм включает вибронную полосу перехода 0-1 и во многом является зеркальным отражением спектра поглощения, поэтому в области 700–730 нм стимулированное излучение должно включать спутную полосу перехода $Q_y(0,1)$ [20]. В результате в спектре Хл *a* из работы Cherepanov et al. [19] в области 710–740 нм возник артефактный минимум, тогда как спектр S_1 на рис. 1, в имеет в этой области локальный максимум. Второе отличие также связано с аппроксимацией спектра стимулированного излучения. В работе Cherepanov et al. [19] его относительная амплитуда составила 92% от амплитуды полосы $Q_y(0,0)$ линейного спектра поглощения, тогда как в спектре на рис. 1, в амплитуда стимулированного излучения равна 70% от амплитуды поглощения. В результате спектр S_1 на рис. 1, в имеет локальный минимум в области 680 нм, который отсутствует в работе Cherepanov et al. [19]. Наконец, в области Core 400–450 нм имеют место заметные различия как в спектрах основного (S_0), так и в спектрах возбуждённого (S_1) состояний Хл *a*. По всей видимости, эти различия возникают из-за существенной разницы в диэлектрической проницаемости ДМФ ($\epsilon = 37$) и ТГФ ($\epsilon = 7,6$), так как электронные переходы Хл *a* в области Core смещены из-за сильных эффектов электрон-фононного сопряжения [21].

В нескольких работах проводились измерения внутримолекулярной конверсии $S_n \rightarrow S_1$ для Хл *a* в различных растворителях. В работе Shi et al. [22] использовался метод время-разрешённой флуоресценции с фемтосекундным истощением стимулированного излучения (FS-TR-SEP-FD) для исследования флуоресценции Хл *a* в различных растворителях. Для Хл *a* в растворе ТГФ оценка времени перехода $S_2 \rightarrow S_1$, согласно работе Shi et al. [22], составила 138 фс, что вдвое превышает время 54 фс, полученное выше. Различие может быть связано с тем, что кросс-корреляционная функция между импульсом накачки и зондирующим импульсом в работе Shi et al. [22] имела длительность около 130 фс, поэтому более быстрые процессы в указанной работе не могли быть разрешены. В наших измерениях длительность

как возбуждающего, так и зондирующего импульса была равна 24 фс, поэтому кросс-корреляционная функция составляла ~48 фс, что дало возможность разрешить более быструю динамику внутримолекулярной конверсии.

В работе Bricker et al. [13] измеряли безызлучательную релаксацию высокоэнергетических возбуждённых состояний $S_n \rightarrow S_1$ до низшего возбуждённого состояния методом сверхбыстрой абсорбционной спектроскопии Хл *a* в этаноле, возбуждающий импульс был локализован в области Core на 442 нм и имел длительность 55 фс. Эффективное время переходов $S_n \rightarrow S_1$ составило 143 фс, на основании чего была получена оценка времени перехода $S_2 \rightarrow S_1$ – 128 фс [13]. Однако время разрешения указанных измерений было ограничено кросс-корреляционной функцией ~110 фс, поэтому полученная оценка представляет лишь верхний предел для времени внутримолекулярной конверсии Хл *a*.

Нам не известно прямых экспериментальных измерений времени перехода $S_2 \rightarrow S_1$ для Хл *d*, однако в работе Reimers et al. [12] расчёт времени внутримолекулярной $S_2 \rightarrow S_1$ релаксации Хл *d* методом теории функционала плотности САМ-В3LYP дал оценку 119 фс, что почти втрое превышает время 45 фс, полученное в наших экспериментах.

В последнее десятилетие предметом пристального внимания стало изучение оксигенных фотосинтезирующих организмов, которые могут в разной степени замещать Хл *a* другими длинноволновыми и, следовательно, низкоэнергетическими молекулами Хл *d* и *f* в пигмент-белковых комплексах обеих фотосистем [3, 5, 23–26]. Цианобактерия *A. marina* была первым обнаруженным организмом, осуществляющим оксигенный фотосинтез, в котором универсальный хромофор Хл *a* почти полностью заменён на Хл *d* [27, 28]. Основной электронный переход Хл *d* смещён примерно на 30 нм в сторону более низких энергий по сравнению с Хл *a*, как в органических растворителях [29, 30], так и в пигмент-белковых комплексах обеих фотосистем [26, 31]. Красное смещение полосы поглощения Хл *d* соответствует понижению энергии возбуждённого состояния примерно на 100 мэВ, что существенно уменьшает движущую силу первичных процессов разделения зарядов в фотосинтетических комплексах с участием Хл *d*. В «канонической» ФС I из цианобактерий, содержащей Хл *a*, изменение свободной энергии при образовании первичной ион-радикальной пары $P_{700}^+A_0^-$ составляет по разным оценкам всего 30–160 мэВ [6, 32–34], поэтому

объяснение механизма разделения зарядов в фотосинтетических комплексах, содержащих длинноволновые формы низкоэнергетических молекул Хл *d*, представляет фундаментальную проблему [5, 25].

Пигмент-белковый комплекс ФС I из *A. marina* включает 1–2 молекулы Хл *a* [35, 36]. На основании измерений переходных спектров нестационарного поглощения (ТА) было высказано предположение, что молекула (молекулы) Хл *a* может входить в число кофакторов цепи переноса электрона реакционного центра ФС I из *A. marina*, например, выполняя роль первичного акцептора электрона в сайте еС3, что соответствует функции первичного акцептора А₀ в каноническом комплексе ФС I [37]. Недавние структурные исследования [7, 8] показали, что кофакторы в положениях еС3 представляют собой не Хл *a*, а скорее всего, феофитин *a* (свободный от магния макроцикл Хл *a*). Однако из-за недостаточного разрешения структурной модели, полученной методом одночастичной криоэлектронной микроскопии, не удалось однозначно отнести хромофоры в позициях еС2, расположенных в реакционном центре между Р740 и еС3, ни к Хл *d*, ни к Хл *a*. Молекула хлорофилла в этом сайте может действовать либо как первичный акцептор электрона, либо как первичный донор электрона, играя ключевую роль в функционировании фотосистемы ФС I. Таким образом, вопрос об участии Хл *a* или Хл *d* в первичной фотохимии ФС I из *A. marina* остаётся открытым, поэтому определение спектров возбуждённых состояний этих хромофоров позволяет более надёжно идентифицировать электронные состояния короткоживущих интермедиатов и уточнить мо-

лекулярный механизм первичных фотохимических реакций в ФС I.

Вклад авторов. Д.А. Черепанов, В.А. Надточенко – концепция и руководство работой, анализ фемтосекундных измерений, написание и редактирование текста статьи; А.А. Петрова, А.И. Вишневская – выращивание цианобактерии *A. marina* и выделение хлорофилла *d*; М.Д. Мамедов – выделение хлорофилла *a*; Ф.Е. Гостев, И.В. Шелаев, А.В. Айбуш – проведение фемтосекундных измерений.

Финансирование. Работы по выращиванию цианобактерии *A. marina*, выделению и спектральной характеристике хлорофилла *d*, а также измерение фемтосекундных спектров возбуждения хлорофиллов *a* и *d* выполнены при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-74-10085). Работы по выделению, характеристике хлорофилла *a* выполнены за счёт средств госзадания «Химико-физические механизмы взаимодействия интенсивного лазерного излучения с биологическими системами» (№ АААА-А19-119012990175-9).

Благодарности. В работе использовано оборудование (фемтосекундная установка) Центра коллективного пользования ФИЦ ХФ РАН «Анализ химических, биологических систем и природных материалов: масс-спектральная микроскопия и фемтосекундная лазерная микроскопия-спектроскопия» (рег. номер: 506694).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khatypov, R. A., Khmel'nitskiy, A. Y., Leonova, M. M., Vasilieva, L. G., and Shuvalov, V. A. (2008) Primary light-energy conversion in tetrameric chlorophyll structure of photosystem II and bacterial reaction centers: I. A review, *Photosynth. Res.*, **98**, 81-93, doi: 10.1007/s11120-008-9370-6.
2. Mamedov, M., Govindjee, Nadtochenko, V., and Semenov, A. (2015) Primary electron transfer processes in photosynthetic reaction centers from oxygenic organisms, *Photosynth. Res.*, **125**, 51-63, doi: 10.1007/s11120-015-0088-y.
3. Nürnberg, D. J., Morton, J., Santabarbara, S., Telfer, A., Joliot, P., et al. (2018) Photochemistry beyond the red limit in chlorophyll *f*-containing photosystems, *Science*, **360**, 1210-1213, doi: 10.1126/science.aar8313.
4. Gisriel, C., Shen, G., Kurashov, V., Ho, M. Y., Zhang, S., et al. (2020) The structure of Photosystem I acclimated to far-red light illuminates an ecologically important acclimation process in photosynthesis, *Sci. Adv.*, **6**, eaay6415, doi: 10.1126/sciadv.aay6415.
5. Allakhverdiev, S. I., Kreslavski, V. D., Zharmukhamedov, S. K., Voloshin, R. A., Korol'kova, D. V., et al. (2016) Chlorophylls *d* and *f* and their role in primary photosynthetic processes of cyanobacteria, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 201-212, doi: 10.1134/S0006297916030020.
6. Cherepanov, D. A., Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Aybush, A. V., Mamedov, M. D., et al. (2020) Evidence that chlorophyll *f* functions solely as an antenna pigment in far-red-light photosystem I from

- Fischerella thermalis* PCC 7521, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1861** doi: 10.1016/j.bbabi.2020.148184.
7. Hamaguchi, T., Kawakami, K., Shinzawa-Itoh, K., Inoue-Kashino, N., Itoh, S., et al. (2021) Structure of the far-red light utilizing photosystem I of *Acaryochloris marina*, *Nat. Commun.*, **12**, 1-10, doi: 10.1038/s41467-021-22502-8.
 8. Xu, C., Zhu, Q., Chen, J., Shen, L., Yi, X., et al. (2021) A unique photosystem I reaction center from a chlorophyll *d*-containing cyanobacterium *Acaryochloris marina*, *J. Integr. Plant Biol.*, **63**, 1740-1752, doi: 10.1111/jipb.13113.
 9. Reimers, J. R., Biczysko, M., Bruce, D., Coker, D. F., Frankcombe, T. J., et al. (2016) Challenges facing an understanding of the nature of low-energy excited states in photosynthesis, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1857**, 1627-1640, doi: 10.1016/j.bbabi.2016.06.010.
 10. Cherepanov, D. A., Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Mamedov, M. D., Petrova, A. A., et al. (2017) Mechanism of adiabatic primary electron transfer in photosystem I: Femtosecond spectroscopy upon excitation of reaction center in the far-red edge of the Q_Y band, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1858**, 895-905, doi: 10.1016/j.bbabi.2017.08.008.
 11. Ritchie, R. J., Sma-Air, S., and Phongphattarawat, S. (2021) Using DMSO for chlorophyll spectroscopy, *J. Appl. Phycol.*, **33**, 2047-2055, doi: 10.1007/s10811-021-02438-8.
 12. Reimers, J. R., Cai, Z. L., Kobayashi, R., Rätsep, M., Freiberg, A., et al. (2013) Assignment of the Q-bands of the chlorophylls: coherence loss via Q_x-Q_y mixing, *Sci. Rep.*, **3**, 1-8, doi: 10.1038/srep02761.
 13. Bricker, W. P., Shenai, P. M., Ghosh, A., Liu, Z., Enriquez, M. G. M., et al. (2015) Non-radiative relaxation of photoexcited chlorophylls: Theoretical and experimental study, *Sci. Rep.*, **5**, 1-16, doi: 10.1038/srep13625.
 14. Kobayashi, M., Akutsu, S., Fujinuma, D., Furukawa, H., Komatsu, H., et al. (2013) Physicochemical properties of chlorophylls in oxygenic photosynthesis – succession of co-factors from anoxygenic to oxygenic photosynthesis, in *Photosynthesis* (Dubinsky, Z., ed.) pp. 47-90, doi: 10.5772/55460.
 15. Samanta, A. (2006) Dynamic Stokes shift and excitation wavelength dependent fluorescence of dipolar molecules in room temperature ionic liquids, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 13704-13716, doi: 10.1021/jp060441q.
 16. Shepanski, J. F., and Anderson, R. W. (1981) Chlorophyll-*a* excited singlet state absorption measured in the picosecond time regime, *Chem. Phys. Lett.*, **78**, 165-173, doi: 10.1016/0009-2614(81)85577-7.
 17. Leupold, D., Struck, A., Stiel, H., Teuchner, K., Oberländer, S., et al. (1990) Excited-state properties of 20-chloro-chlorophyll *a*, *Chem. Phys. Lett.*, **170**, 478-484, doi: 10.1016/S0009-2614(90)87088-9.
 18. De Boni, L., Correa, D. S., Pavinatto, F. J., Dos Santos, D. S., and Mendonça, C. R. (2007) Excited state absorption spectrum of chlorophyll *a* obtained with white-light continuum, *J. Chem. Phys.*, **126**, 165102, doi: 10.1063/1.2722755.
 19. Cherepanov, D. A., Gostev, F. E., Shelaev, I. V., Aibush, A. V., Mamedov, M. D., et al. (2020) Visible and near infrared absorption spectrum of the excited singlet state of chlorophyll *a*, *High Energy Chem.*, **54**, 145-147, doi: 10.1134/S0018143920020058.
 20. Rätsep, M., Linnanto, J. M., and Freiberg, A. (2019) Higher order vibronic sidebands of chlorophyll *a* and bacteriochlorophyll *a* for enhanced excitation energy transfer and light harvesting, *J. Phys. Chem. B*, **123**, 7149-7156, doi: 10.1021/acs.jpcc.9b06843.
 21. Sirohiwal, A., Berraud-Pache, R., Neese, F., Izsák, R., and Pantazis, D. A. (2020) Accurate computation of the absorption spectrum of chlorophyll *a* with pair natural orbital coupled cluster methods, *J. Phys. Chem. B*, **124**, 8761-8771, doi: 10.1021/acs.jpcc.0c05761.
 22. Shi, Y., Liu, J. Y., and Han, K. L. (2005) Investigation of the internal conversion time of the chlorophyll *a* from S₃, S₂ to S₁, *Chem. Phys. Lett.*, **410**, 260-263, doi: 10.1016/j.cplett.2005.05.017.
 23. Gan, F., Zhang, S., Rockwell, N. C., Martin, S. S., Lagarias, J. C., et al. (2014) Extensive remodeling of a cyanobacterial photosynthetic apparatus in far-red light, *Science*, **345**, 1312-1317, doi: 10.1126/science.1256963.
 24. Chen, M., Li, Y., Birch, D., and Willows, R. D. (2012) A cyanobacterium that contains chlorophyll *f* – a red-absorbing photopigment, *FEBS Lett.*, **586**, 3249-3254, doi: 10.1016/j.febslet.2012.06.045.
 25. Schmitt, F. J., Campbell, Z. Y., Bui, M. V., Hüls, A., Tomo, T., et al. (2019) Photosynthesis supported by a chlorophyll *f*-dependent, entropy-driven uphill energy transfer in *Halomicronema hongdechloris* cells adapted to far-red light, *Photosynth. Res.*, **139**, 185-201, doi: 10.1007/s11120-018-0556-2.
 26. Tomo, T., Allakhverdiev, S. I., and Mimuro, M. (2011) Constitution and energetics of photosystem I and photosystem II in the chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina*, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, **104**, 333-340, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2011.02.017.
 27. Schiller, H., Senger, H., Miyashita, H., Miyachi, S., and Dau, H. (1997) Light-harvesting in *Acaryochloris marina* – spectroscopic characterization of a chlorophyll *d*-dominated photosynthetic antenna system, *FEBS Lett.*, **410**, 433-436, doi: 10.1016/S0014-5793(97)00620-0.
 28. Miyashita, H., Adachi, K., Kurano, N., Ikemoto, H., Chihara, M., et al. (1997) Pigment composition of a novel oxygenic photosynthetic prokaryote containing chlorophyll *d* as the major chlorophyll, *Plant Cell Physiol.*, **38**, 274-281, doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a029163.

29. Niedzwiedzki, D. M., and Blankenship, R. E. (2010) Singlet and triplet excited state properties of natural chlorophylls and bacteriochlorophylls, *Photosynth. Res.*, **106**, 227-238, doi: 10.1007/s11120-010-9598-9.
30. Nieuwenburg, P., Clarke, R. J., Cai, Z.-L., Chen, M., Larkum, A. W. D., et al. (2007) Examination of the photophysical processes of chlorophyll *d* leading to a clarification of proposed uphill energy transfer processes in cells of *Acaryochloris marina*, *Photochem. Photobiol.*, **77**, 628-637, doi: 10.1562/0031-8655(2003)0770628eotppo2.0.co2.
31. Hu, Q., Marquardt, J., Iwasaki, I., Miyashita, H., Kuran, N., et al. (1999) Molecular structure, localization and function of biliproteins in the chlorophyll *a/d* containing oxygenic photosynthetic prokaryote *Acaryochloris marina*, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1412**, 250-261, doi: 10.1016/S0005-2728(99)00067-5.
32. Kleinherenbrink, F. A. M., Hastings, G., Blankenship, R. E., and Wittmershaus, B. P. (1994) Delayed fluorescence from Fe-S type photosynthetic reaction centers at low redox potential, *Biochemistry*, **33**, 3096-3105, doi: 10.1021/bi00176a044.
33. Giera, W., Ramesh, V. M., Webber, A. N., van Stokkum, I., van Grondelle, R., et al. (2010) Effect of the P700 pre-oxidation and point mutations near A₀ on the reversibility of the primary charge separation in Photosystem I from *Chlamydomonas reinhardtii*, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1797**, 106-112, doi: 10.1016/j.bbabi.2009.09.006.
34. Holzwarth, A. R., Müller, M. G., Niklas, J., and Lubitz, W. (2005) Charge recombination fluorescence in photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas reinhardtii*, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 5903-5911, doi: 10.1021/jp046299f.
35. Ohashi, S., Miyashita, H., Okada, N., Iemura, T., Watanabe, T., et al. (2008) Unique photosystems in *Acaryochloris marina*, *Photosynth. Res.*, **98**, 141-149, doi: 10.1007/s11120-008-9383-1.
36. Itoh, S., Mino, H., Itoh, K., Shigenaga, T., Uzumaki, T., et al. (2007) Function of chlorophyll *d* in reaction centers of photosystems I and II of the oxygenic photosynthesis of *Acaryochloris marina*, *Biochemistry*, **46**, 12473-12481, doi: 10.1021/bi7008085.
37. Kumazaki, S., Abiko, K., Ikegami, I., Iwaki, M., and Itoh, S. (2002) Energy equilibration and primary charge separation in chlorophyll *d*-based photosystem I reaction center isolated from *Acaryochloris marina*, *FEBS Lett.*, **530**, 153-157, doi: 10.1016/S0014-5793(02)03446-4.

COMPARATIVE ABSORPTION DYNAMICS OF SINGLET EXCITED STATES OF CHLOROPHYLLS *a* AND *d*

D. A. Cherepanov^{1,2*}, A. A. Petrova², M. D. Mamedov², A. I. Vishnevskaya², F. E. Gostev¹,
I. V. Shelaev^{1,2}, A. V. Aybush¹, and V. A. Nadtochenko^{1,3}

¹ *Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia; e-mail: tscherepanov@gmail.com*

² *Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 119992 Moscow, Russia*

³ *Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia*

The transient absorption dynamics of chlorophylls *a* and *d* dissolved in tetrahydrofuran was measured by broadband femtosecond laser pump-probe spectroscopy in the spectral range from 400 to 870 nm. The absorption spectra of the excited singlet states S₁ of chlorophylls *a* and *d* were obtained, and the dynamics of the Q_y band shift of stimulated emission (the Stokes shift of fluorescence) was determined for these pigments in the time range from 60 fs to 4 ps. The kinetics of intramolecular conversion Q_x → Q_y (the electronic transition S₂ → S₁) has been measured; the characteristic relaxation time was 54 ± 3 fs for chlorophyll *a* and 45 ± 9 fs for chlorophyll *d*.

Keywords: chlorophyll *a*, chlorophyll *d*, femtosecond laser spectroscopy, excited state spectrum, Stokes shift dynamics, internal conversion