



**XXII Пушкинские чтения
по фотосинтезу и Всероссийская
конференция с международным
участием «От первичных процессов
фотосинтеза до альтернативной
энергетики»**

19–25 июня, 2022

Пушино, Россия

**Программа конференции
Тезисы докладов**

«От первичных процессов фотосинтеза до альтернативной энергетики». Сборник тезисов.

– Пушкино, 2022. – 98 с.

ISBN: 978-5-9905822-5-5

Обращение к участникам

Глубокоуважаемые коллеги, дорогие друзья!

Мы рады приветствовать вас на XXII Пушкинских чтениях по фотосинтезу и Всероссийской конференции с международным участием «От первичных процессов фотосинтеза до альтернативной энергетики», которые проводятся 19 – 25 июня 2022 г. в г. Пушкино, в Институте фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленном подразделении ФИЦ ПНЦБИ РАН. В рамках чтений и конференции будут представлены достижения ведущих ученых в области фотобиологии, исследований фотосинтеза и получения водорода как возобновляемого источника энергии.

На XXII Пушкинских чтениях 19 июня выступят:

д.б.н. Иванов Борис Николаевич «Механизм и значение восстановления кислорода при фотосинтезе»;

д.б.н., проф., член-корреспондент Аллахвердиев Сулейман Ифхан Оглы «Альтернативная энергетика на основе искусственного фотосинтеза».

Основные направления работы конференции:

- Структурно-функциональная организация реакционных центров и антенных комплексов, перенос энергии и разделение зарядов в фотосинтетических реакционных центрах
- Окисление воды, транспорт электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи и сопряженные процессы, альтернативные пути переноса электронов
- Транспорт и фиксация неорганического углерода фотоавтотрофами
- Механизмы устойчивости фотосинтезирующих организмов к факторам окружающей среды
- Подходы к повышению эффективности работы фотосинтетического аппарата и синтеза ценных биопродуктов фотоавтотрофами
- Искусственные преобразователи солнечной энергии на основе фотосинтетических реакционных центров и альтернативная энергетика

В рамках конференции 20 июня будет проведен семинар “Первичные процессы фотосинтеза”, посвященный памяти Владимира Анатольевича Шувалова и Вячеслава Васильевича Климова.

Кроме того, на конференции будет проведено заседание с выступлениями молодых ученых (без степени кандидата наук) – авторов лучших постерных докладов.

Почти 100 участников из разных уголков России, а также из Белоруссии примут участие в конференции. Надеемся, что научные дискуссии будут оживленными, а мероприятие плодотворным, успешным и приведет к организации новых совместных работ научных коллективов, а также к повышению научного уровня молодых ученых.

С уважением, Оргкомитет

Наши спонсоры и партнеры:



Лабинструменты



Okabiolab
ВСЕ ДЛЯ НАУКИ

Окабиолаб



Администрация г. Пушкино



Фитосила



**Институт Фундаментальных
проблем биологии, РАН –
обособленное подразделение
ФИЦ ПНЦБИ РАН**



**ПУЩИНСКИЙ
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
биологических
исследований**

**Пущинский научный центр
биологических исследований**



**Российское
фотобиологическое общество**



Российская академия наук

Организационный комитет

Председатель

Борисова-Мубаракшина М.М., д.б.н. – Институт фундаментальных проблем биологии РАН (ИФПБ РАН), Пущино

Сопредседатель

Козулева М.А., к.б.н. – Институт фундаментальных проблем биологии РАН (ИФПБ РАН), Пущино

Секретарь

Федорчук Т.П., к.б.н. – Институт фундаментальных проблем биологии РАН (ИФПБ РАН), Пущино

Члены оргкомитета

Васильева Л.Г., д.б.н. – ИФПБ РАН
Ветошкина Д.В., к.б.н. – ИФПБ РАН
Вильянен Д.В., асп. – ИФПБ РАН
Козлов И.В. – ИФПБ РАН
Коровина Е.С. – ИФПБ РАН
Руденко Н.Н., к.б.н. – ИФПБ РАН
Стерелюхина И.Г. – ИФПБ РАН
Стародубов А.С., асп. – ИФПБ РАН
Хасимов М.Х., асп. – ИФПБ РАН

Программный комитет

Цыганков А.А., д.б.н., председатель – Институт фундаментальных проблем биологии РАН (ИФПБ РАН), Пущино
Савченко Т.В., д.б.н., сопредседатель – Институт фундаментальных проблем биологии РАН (ИФПБ РАН), Пущино

Члены программного комитета.

Аллахвердиев С.И., д.б.н., чл-корр. РАН (ИФПБ РАН, ИФР РАН);
Борисова-Мубаракшина М.М., д.б.н. (ИФПБ РАН);
Иванов Б.Н., д.б.н. (ИФПБ РАН);
Лось Д.А., проф., д.б.н. (ИФР РАН, по согласованию);
Мамедов М.Д., д.б.н. (МГУ им. М.В. Ломоносова, по согласованию);
Надточенко В.А., проф., д.х.н. (ИХФ РАН, по согласованию);
Рубин А.Б., академик РАН (МГУ им. М.В. Ломоносова, по согласованию);
Семенов А.Ю., проф., д.б.н. (МГУ им. М.В. Ломоносова, по согласованию);
Соловченко А.Е., проф., д.б.н. (МГУ им. М.В. Ломоносова, по согласованию);
Тихонов А.Н., проф., д.ф.-м.н. (МГУ им. М.В. Ломоносова, по согласованию).

Программа XXII Пуцинских чтений по фотосинтезу

19 июня, воскресенье

10:00-15:00 Регистрация участников

15:00-15:15 **Официальное открытие XXII Пуцинских чтений по фотосинтезу.** Вступительное слово председателя программного комитета **Цыганкова Анатолия Анатольевича** и председателя организационного комитета **Борисовой-Мубаракшиной Марии Мансуровны**

15:15-15:30 **Воробьев Алексей Сергеевич:** Приветственная речь главы городского округа

15:30-16:30 **Иванов Борис Николаевич** (ИФПБ РАН, Пушкино, Россия) «Механизм и значение восстановления кислорода при фотосинтезе»

16:30-17:30 **Аллахвердиев Сулейман Ифхан Оглы** (ИФПБ РАН, Пушкино; ИФР РАН, Москва, Россия) «Альтернативная энергетика на основе искусственного фотосинтеза»

18:00-20:00 Приветственный ужин в кафе **Рандеву**, проспект Науки, д.1 А (входит в оплату регистрационного взноса)

Программа Всероссийской конференции с международным участием «От первичных процессов фотосинтеза до альтернативной энергетики»

20 июня, понедельник

9:00-9:10 Открытие Всероссийской конференции с международным участием «От первичных процессов фотосинтеза до альтернативной энергетики»

Секция «Структурно-функциональная организация реакционных центров и антенных комплексов, перенос энергии и разделение зарядов в фотосинтетических реакционных центрах»
Устные доклады

Председатели: А.А. Цыганков, Л.Г. Васильева

09:10-09:35 **Проскуряков Иван Игоревич** (ИФПБ РАН, Пушкино, Россия) – *Динамика триплетных состояний пигментов реакционных центров*

09:35-10:00 **Максимов Евгений Георгиевич** (МГУ, Москва, Россия) – *Конформационная подвижность фикобилипротеинов*

10:00-10:25 **Беляева Наталья Евгеньевна** (МГУ, Москва, Россия) – *Роль энергозависимого тушения и перехода состояний при модельном анализе индукции флуоресценции хлорофилла а клеток водоросли *Scenedesmus obliquus**

10:25-10:40 Кофе-брейк

10:40-11:05 **Петрова Анастасия Александровна** (НИИ ФХБ МГУ, Москва, Россия) – *Сравнительный анализ кинетики переноса электрона в фотосистеме I цианобактерии *Synechocystis sp. PCC 6803* и зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii**

11:05-11:30 **Ашихмин Александр Александрович** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Генерация и тушение синглетного кислорода каротиноидами с короткой цепью сопряженных двойных связей*

11:30-11:55 **Абдуллатыпов Азат Вадимович** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Моделирование взаимодействия периферических светособирающих комплексов *Rhodospseudomonas palustris* с бактериофитохромами*

11:55-12:20 **Большаков Максим Александрович** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Влияние ингибирования биосинтеза каротиноидов на сборку и свойства светособирающих комплексов LH2 у серных фотосинтезирующих бактерий*

12:20-14:00 Обед

Семинар, посвященный памяти Владимира Анатольевича Шувалова и Вячеслава Васильевича Климова “Первичные процессы фотосинтеза”

Председатель А.Ю. Семенов

14:00-14:25 **Семенов Алексей Юрьевич** (НИИ ФХБ МГУ, Москва, Россия) – *В.А. Шувалов и В.В. Климов - крупнейшие биофизики современности: персональный взгляд*

14:25-14:50 **Надточенко Виктор Андреевич** (ФИЦ ХФ РАН, Москва, Россия) – *Фемтосекундная динамика возбужденных состояний в реакционных центрах: возбуждение лазерным импульсом и солнечным светом*

14:50-15:15 **Васильева Людмила Григорьевна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Роль сетей водородных связей на донорной и акцепторной стороне фотосинтетических реакционных центров*

15:15-15:40 **Черепанов Дмитрий Александрович** (ФИЦ ХФ РАН, Москва, Россия) – *Роль поляризационной динамики белка в сверхбыстрых реакциях разделения зарядов в бактериальном реакционном центре и фотосистеме I*

15:40-16:00 Кофе-брейк

Семинар, посвященный памяти Владимира Анатольевича Шувалова и Вячеслава Васильевича Климова “Первичные процессы фотосинтеза”

Председатель В.А. Надточенко

16:00-16:25 **Тихонов Александр Николаевич** (онлайн) (МГУ, Москва, Россия) – *Окисление пластохинола – лимитирующая стадия в цепи переноса электронов в хлоропластах*

16:25-16:50 **Мамедов Махир Джафар оглы** (НИИ ФХБ МГУ, Москва, Россия) – *Генерация разности электрических потенциалов в гибридной системе на основе пигмент-белкового комплекса фотосистемы 2 в ответ на постоянное освещение*

16:50-17:15 **Хоробрых Андрей Альфредович** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Фотообразование активных форм кислорода в фотосистеме 2 при различных модификациях водоокисляющего комплекса*

17:15-17:40 **Шитов Александр Васильевич** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Роль В.В. Климова в изучении бикарбонатного эффекта в Фотосистеме 2: Перспективы дальнейших исследований в этой области и их сферы применения в фундаментальной и прикладной науке.*

17:40-17:45 Заключительное слово

21 июня, вторник

Секция «Окисление воды, транспорт электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи и сопряженные процессы, альтернативные пути переноса электронов»

Председатели: Б.Н. Иванов, А.А. Петрова

09:15-09:40 **Борисова-Мубаракшина Мария Мансуровна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Новые представления о реакции Мелера – альтернативном пути переноса электронов на кислород в хлоропластах*

09:40-10:05 **Савченко Татьяна Викторовна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Нелистовой фотосинтез*

10:05-10:30 **Цыганков Анатолий Анатольевич** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Регуляция фотосистемы 2 при недостатке минерального питания*

10:30-10:45 Кофе-брейк

10:45-11:10 **Козулева Марина Алексеевна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Как свет и протоны тилакоидного люмена влияют на работу цитохромного b₆f комплекса высших растений*

11:10-11:35 **Аверчева Ольга Владимировна** (МГУ, Москва, Россия) – *Влияние узкополосного синего и красного света на способность фотосистем ячменя к тепловой диссипации энергии света*

11:35-12:00 **Шитов Александр Васильевич** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Взаимосвязь внутренней карбоангидразной активности и влияния бикарбоната на фотосинтетическое окисление воды в Фотосистеме 2 высших растений как основа эффективности функционирования данного пигмент-белково-липидного комплекса*

12:00-14:00 Обед

14:00-14:25 **Вильянен Дарья Валентиновна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Двухфазная кинетика окисления пула пластохинона в темноте: роль пероксида водорода*

14:25-14:50 **Коваленко Илья Борисович** (МГУ, Москва, Россия) – *Эволюционные изменения механизмов белок-белковых взаимодействий при формировании комплексов пластоцианина и цитохрома *сб* с цитохромом *f**

14:50-15:05 Кофе-брейк

15:05-18:00 Стендовая сессия

22 июня, среда

Секция «Транспорт и фиксация неорганического углерода фотоавтотрофами»

Председатели М.А. Козулева, Л.Ф. Кабашникова

09:15-09:40 **Руденко Наталья Николаевна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Участие хлоропластных карбоангидраз в регуляции функциональной активности фотосинтетического аппарата*

09:40-10:05 **Шукшина Анна Константиновна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Влияние карбоангидразы САНЗ на функциональную стабильность водоокисляющего комплекса фотосистемы 2 из *Chlamydomonas reinhardtii**

10:05-10:30 **Надеева Елена Михайловна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Участие альфа-карбоангидразы 2 в регуляции содержания протонов в хлоропластах *Arabidopsis thaliana* при освещении*

10:30-10:45 Кофе-брейк

10:45-11:10 **Федорчук Татьяна Петровна** (ИФПБ РАН, Пушино, Россия) – *Роль альфа-карбоангидразы 5 в метаболизме хлоропластов высших растений*

11:10-11:35 **Маркин Роман Валерьевич** (ИФПБ РАН, Пушино, Россия) – *Карбоангидраза гранальных тилакоидов *Arabidopsis thaliana**

11:35-14:00 Обед

14:00-16:30 **Экскурсия в Пушинскую Радиоастрономическую Обсерваторию АКЦ ФИАН** (входит в оплату регистрационного взноса)

16:30-16:45 Кофе-брейк

16:45-18:15 Стендовая сессия

23 июня, четверг

Секция «Механизмы устойчивости фотосинтезирующих организмов к факторам окружающей среды»

Председатели: Т.В. Савченко, Н.Н. Руденко

09:15-09:40 **Кабашникова Людмила Федоровна** (ГНУ ИБКИ НАН Беларуси, Минск, Беларусь) – *Структурно-функциональное состояние хлоропластов у разных генотипов ярового ячменя при гельминтоспориозе*

09:40-10:05 **Гармаш Елена Владимировна** (ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия) – *Альтернативная оксидаза митохондрий влияет на функционирование фотозащитных систем хлоропластов*

10:05-10:30 **Ветошкина Дарья Васильевна** (ИФПБ РАН, Пушино, Россия) – *Структурно-функциональная реорганизация светособирающей антенны ФС2 высших растений: роль в адаптации к факторам среды*

10:30-10:45 Кофе-брейк

10:45-11:10 **Лысенко Евгений Анатольевич** (ИФР РАН, Москва, Россия) – *Кадмий в хлоропластах: Поступление и влияние на активность ФС1 и ФС2.*

11:10-11:35 **Хрущев Сергей Сергеевич** (МГУ, Москва, Россия) – *Исследование механизмов действия солей тяжелых металлов на первичные процессы фотосинтеза у высших растений*

11:35-12:00 **Худякова Александра Юрьевна** (ИФПБ РАН, Пушино, Россия) – *Влияние теплового стресса на фотосинтетические процессы растений *A. thaliana* при дефиците фитохромов A и B*

12:00-14:00 Обед

14:00-14:25 **Власова Татьяна Анатольевна** (МГУ, Москва, Россия) – *Изменение ультраструктуры хлоропластов гороха в результате воздействия солей тяжелых металлов*

14:25-14:50 **Строкина Валерия Владимировна** (ИФПБ РАН, Пушино, Россия) – *Ингибирующие действие света высокой интенсивности и УФ-В на активность ФА при дефиците фоторецепторов*

14:50-15:15 **Птушенко Василий Витальевич** (МГУ, Москва, Россия) – *Участие компонента фотосистемы II *PsbS* в защите от холодового стресса у зелёной водоросли *Lobosphaera incisa**

15:15-15:30 Кофе-брейк

15:30-15:55 **Мотылева Светлана Михайловна** (ФГБНУ ФНЦ Садоводства, Москва, Россия) – *Влияние подвоя на синтез метаболитов в листьях *Prunus domestica* L.*

15:55-16:20 **Бельшенко Александр Юрьевич** (онлайн) (ФГБОУ ВО ИГУ, Иркутск, Россия) – *Моховидные растения, как продуценты антиоксидантов и молекул с нейротехнологическим потенциалом*

16:30-18:30 Концерт вокально-инструментальной музыки (фойе ИФПБ РАН). В программе сочинения русских композиторов: Глинки, Чайковского, Римского-Корсакова, Рахманинова, Алябьева и Скрябина. Исполняет и рассказывает **Полина Соловьева**, кандидат искусствоведения, доцент Православного Свято-Тихоновского гуманитарного университета

24 июня, пятница

Совместное заседание секций «Подходы к повышению эффективности работы фотосинтетического аппарата и синтеза ценных биопродуктов фотоавтотрофами» и «Искусственные преобразователи солнечной энергии на основе фотосинтетических реакционных центров и альтернативная энергетика»

Председатели М.М. Борисова-Мубаракшина, И.И. Проскуряков

09:15-09:40 **Неверов Константин Викторович** (ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия) – *Фотосенсибилизированные димером хлорофилла в белках семейства *wscp* редокс-реакции с участием экзогенных доноров и акцепторов электрона*

09:40-10:05 **Хасимов Махмадюсуф Хусейнович** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Анализ центральных метаболических путей пурпурной серной бактерии *Thiocapsa bogorovii* на основе функциональной аннотации геномной последовательности*

10:05-10:30 **Булаткин Геннадий Александрович** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Influence of Forest Stands and Ways of Wood Use on the Stock of C-CO₂ from the Earth's Atmosphere*

10:30-10:45 Кофе-брейк

10:45-11:10 **Панкин Павел Сергеевич** (ИФ СО РАН, Красноярск, Россия) – *Влияние дефектов периодической структуры хлоропласта на поглощение света*

11:10-11:35 **Середин Тимофей Михайлович** (ФГБНУ ФНЦО, ВНИИССОК, Россия) – *Фотосинтетические пигменты в растениях рода *Allium* L.*

11:35-12:00 **Романова Анастасия Игоревна** (ИФПБ РАН, Пущино, Россия) – *Выделение H₂ нир-штаммами *Anabaena* sp: PCC 7120 с нативной и модифицированной нитрогеназой в лабораторных и внелабораторных условиях*

12:00-14:00 Обед

14:00-14:25 **Дикарев Алексей Владимирович** (онлайн) (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия) – *Формирование устойчивости либо чувствительности растений ярового ячменя к действию кадмия*

14:25-14:50 **Чернова Надежда Ивановна** (онлайн) (МГУ, Москва, Россия) – *Теоретическая оценка ресурсного потенциала биомассы микроводорослей для производства биотоплива и связывания углерода*

14:50- 15:15 **Косогова Татьяна Михайловна** (онлайн) (ГОУ ВО ЛНР «ЛГПУ», Луганск) – *Световые реакции фотосинтеза и урожайность растений *Triticale**

15:15-15:30 Кофе-брейк

15:30-16:45 Заседание с выступлениями молодых ученых (без степени кандидата наук) – **авторов лучших постерных докладов**

16:45-17:30 Подведение итогов. **Официальное закрытие конференции**

18:00-21:00 **Банкет на открытом воздухе на территории Института** (входит в оплату регистрационного взноса)

Стендовая сессия

Секция «Структурно-функциональная организация реакционных центров и антенных комплексов, перенос энергии и разделение зарядов в фотосинтетических реакционных центрах»

1. **А. Абдуллатыпов, Т. Федорчук, Л. Трубицина, И. Трубицин, Д. Хорошаев**

Структурные модели пластоцианина как возможной мишени для гербицидов направленного действия

2. **А. Вишневская, А. Петрова, Г. Милановский, А. Семенов**

Исследование температурной зависимости кинетики восстановления P_{700}^+ в комплексах фотосистемы 1 из *Synechocystis* sp. PCC 6803 в растворах осмолитов

3. **И. Кленина, З. Махнева, А. Москаленко, И. Проскуряков**

Квантовый выход фотодеструкции бактериохлорофиллов в светособирающих комплексах LH2 серной пурпурной фотосинтезирующей бактерии *Allochromatium vinosum* при возбуждении в полосу поглощения каротиноидов

4. **Г. Милановский, Д. Черепанов, К. Неверов, Ф. Гостев, И. Шелаев, А. Айбуш, Ю. Обухов, М. Крицкий, В. Надточенко**

Экситонные взаимодействия тетрамера хлорофилла в рекомбинантном водорастворимом хлорофиллсвязывающем белке WSCP

5. **В. Пащенко, Е. Лукашев, Б. Корватовский, П. Нокс, Х. Сейфуллина, З. Махнева, М. Большаков**

Эффекты катионных антисептиков на перенос энергии в хроматофорах пурпурных несерных бактерий

6. **Т. Фуфина, О. Третчикова, А. Христин, Р. Хатыпов, Л. Васильева**

Свойства мутантных фотосинтетических реакционных центров с замещением Pe M206 на Gln из пурпурной бактерии *Cereibacter sphaeroides*

7. **А. Христин, Т. Фуфина, Л. Васильева, Р. Хатыпов**

Кинетическая гетерогенность стимулированного излучения из возбужденного состояния первичного донора электрона в реакционных центрах *Rhodobacter sphaeroides*

8. **О. Третчикова, Л. Васильева, Т. Фуфина**

Исследование влияния белкового окружения на первичный донор электрона в реакционных центрах пурпурной бактерии *Cereibacter sphaeroides* с тремя аминокислотными замещениями N(L173)L+I(L177)H+F(M197)H

Секция «Окисление воды, транспорт электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи и сопряженные процессы, альтернативные пути переноса электронов»

1. **М. Христин, Т. Смолова**

Взаимодействие растворимого и иммобилизованного марганец-стабилизирующего белка PsbO с ионами Mn^{2+} и изолированным комплексом D1-D2-cyt.b559 реакционного центра ФС II

2. **Л. Витухновская, А. Семенов, М. Мамедов**

Влияние экзогенного цитохрома c на кинетику генерации разности электрических потенциалов в ядерных комплексах фотосистемы 2

Секция «Механизмы устойчивости фотосинтезирующих организмов к факторам окружающей среды»

1. **Н. Балашов, Д. Ветошкина, М. Козулева, М. Борисова-Мубаракшина**

Влияние пероксида водорода на фосфорилирование белков светособирающего комплекса фотосистемы 2

2. **А. Волгушева, Д. Годоренко, А. Байжуманов, А. Соловченко, Г. Кукарских, Т. Антал**

Изменение метаболизма зеленых водорослей в ответ на токсичное действие тяжелых металлов

3. **О. Сердюк, Л. Смолыгина, А. Абдуллатыпов, А. Ашихмин, М. Большаков**

Образование различных типов светособирающих комплексов - способ адаптации *Rhodospseudomonas palustris* к условиям экстремально низкой освещенности

4. **В. Слепнёва, О. Лихачева, А. Волгушева, Т. Антал**

Исследование воздействия тяжелых металлов на фотосинтез лишайников для применения в экологическом мониторинге

5. **Е. Павлова, А. Маслов**

Особенности обмена азота в симбиотическом сообществе зеленой микроводоросли *Trebouxia* sp. в лишайнике *Parmelia sulcata*

6. **Д. Тодоренко, И. Конюхов, С. Хрущев, Д. Маторин, Т. Антал**

Непрерывное зондирование состояния зеленых микроводорослей в фотобиореакторе для целей биотестирования

7. **А. Тыщенко, Ю. Вечтомова, Т. Телегина, М. Крицкий**

Каротиноиды тилакоидных мембран цианобактерии *Arthrospira platensis*

8. **Е. Тебина, Е. Дегтярёв, А. Темралеева, Е. Кривина, Т. Савченко**

Сравнительная характеристика штаммов микроводорослей *Micractinium* из разных мест обитания

9. **О. Птушенко, В. Птушенко, Г. Бондаренко, Е. Глаголева, А. Соловченко, Б. Трубицин,****О. Чивкунова, К. Шибзухова, Е. Лобакова**

Динамика индукции защитных механизмов при холодовом стрессе у водоросли *Lobosphaera incisa*

10. **Е. Дегтярёв, А. Хоробрых, К. Тихонов, А. Пиголев, Д. Мирошниченко, Т. Савченко**

Влияние эндогенных жасмонатов на фотосинтез и антиоксидантную систему пшеницы и арабидопсиса

Секция «Подходы к повышению эффективности работы фотосинтетического аппарата и синтеза ценных биопродуктов фотоавтотрофами»

1. **Е. Заднепровская, М. Синетова, С. Аллахвердиев**

Накопление липидов и крахмала в клетках зеленой микроводоросли *Coelastrella* sp. IPPAS H-626 при азотном голодании в условиях автотрофного, миксотрофного и гетеротрофного роста

2. **А. Крапивина, Л. Бобровникова, М. Синетова, С. Аллахвердиев**

Минеральное голодание как фактор накопления биотехнологически важных соединений в клетках зеленой микроводоросли *Nannochloris* sp. штамм IPPAS C-1509

3. **Е. Майорова, Е. Петушкова**

Особенности конъюгативного переноса ДНК в *Rhodobacter capsulatus* и последующего анализа клонов

4. **Е. Майорова, Е. Петушкова, А. Цыганков**

Изучение особенностей системы рестрикции-модификации *Rhodobacter capsulatus* и методов защиты экзогенной ДНК от разрушения

5. **П. Старыгина, О. Чудакова, Т. Кондратьева, Р. Черкасов, А. Цыганков**

Интенсификация культивирования пурпурной несерной бактерии *Rhodospseudomonas palustris* и подбор условий хранения биомассы

6. **О. Чудакова, Т. Лауринавичене, П. Старыгина, А. Цыганков**

Влияние дополнительного рис-оперона на синтез бактериохлорофилла *a* клетками *Cereibacter sphaeroides*

Секция «Искусственные преобразователи солнечной энергии на основе фотосинтетических реакционных центров и альтернативная энергетика»

1. **А. Бозиева, М. Хасимов, Р. Волошин, М. Синетова, Е. Куприянова, С. Жармухамедов, С. Аллахвердиев**

Исследование водород-продуцирующей способности некоторых штаммов цианобактерий

2. **Р. Волошин, Д. Кулакова, С. Жармухамедов, С. Аллахвердиев**

Пути переноса электронов в фотоэлектрохимической ячейке, содержащей тилакоидные мембраны

3. **И. Дорониц, С. Бушнев, А. Ежова, Ю. Парунова, К. Плохих, Р. Васильев**

Макропористые электроды, сенсibilизированные антоцианами для эффективной иммобилизации фотосистемы II

4. **А. Стародубов, Н. Зорин, М. Хасимов, А. Цыганков**

Экранирование С-концевым фрагментом Fe-S кластера HydSL гидрогеназы *Thiocapsa bogorovii* от различных ингибиторов

Семинар, посвященный памяти Владимира Анатольевича Шувалова и Вячеслава Васильевича Климова “Первичные процессы фотосинтеза”

В.А. Шувалов и В.В. Климов - крупнейшие биофизики современности: персональный взгляд

Семенов А.

Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ
e-mail: semenov@belozersky.msu.ru

Владимир Шувалов и Вячеслав Климов были крупнейшими учеными в области биофизики фотосинтеза. Они оба закончили кафедру биофизики биолого-почвенного факультета МГУ, были аспирантами академика А.А. Красновского, работали вначале в Институте биохимии им. А.Н. Баха, а затем в Институте почвоведения и фотосинтеза (сейчас Институт фундаментальных проблем биологии РАН). В 1991 г. они стали лауреатами Государственной премии и несомненными лидерами в области биофизики фотосинтеза в России. В.А. Шувалов сделал основополагающие открытия в области механизмов первичных реакций фотосинтеза и создал российскую научную школу по изучению сверхбыстрых процессов переноса электрона в фотосинтетических реакционных центрах (РЦ). В.В. Климов стал международно признанным ученым в области молекулярного механизма окисления воды в фотосистеме (ФС) 2. Он сыграл решающую роль в установлении функции феофитина как первичного акцептора электрона в ФС 2 и бикарбоната - в функционировании комплекса окисления воды.

Наше сотрудничество с Владимиром Шуваловым началось в 1985 г. Первые работы были посвящены исследованию электрогенных реакций в РЦ фотосинтезирующей бактерии *Rhodospseudomonas (Blastochloris) viridis*. РЦ из *R. viridis* стал первым мембранным белком, для которого была получена трехмерная структура с атомным разрешением. За эту работу в 1988 г. Р. Хуберу, И. Дейзенхоферу и Х. Михелю была присуждена нобелевская премия по химии. По этой теме в 1986-1988 гг. нами было опубликовано несколько статей, которые получили очень большое цитирование, а само направление стало весьма успешно развиваться. В середине 2000-х годов в Институте химической физики им. Н.Н. Семенова РАН у нас с В.А. Шуваловым началась совместная работа по фемтосекундной спектроскопии ФС 1 и 2. Вместе с В.А. Надточенко, О.М. Саркисовым, И.В. Шелаевым, М.Д. Мамедовым, Ф.Е. Гостевым А.Я. Шкуропатовым, А.А. Забелиным и Д.А. Черепановым нам удалось исследовать кинетику первичных реакций переноса электрона в РЦ комплексов ФС 1 и 2. Эти работы продолжаются и сейчас, и в их успехе нельзя переоценить роль Владимира Шувалова, который являлся мировым экспертом в изучении механизмов первичных реакций в фотосинтетических РЦ.

С Вячеславом Климовым и его сотрудниками Д.В. Яныкиным и А.А. Хоробрых мы опубликовали несколько работ по влиянию криопротекторов на донорный участок ФС 2. Мы не только часто обсуждали полученные результаты, но и тесно сотрудничали в связи с организацией съездов Российского фотобиологического общества, различных семинаров, экспертизы научных проектов. Эти обсуждения всегда были исключительно продуктивными, откровенными и полезными. В.В. Климов сыграл важную роль в качестве члена экспертного совета РФФИ, отстаивая интересы всего направления биофизики.

Будучи очень разными личностями, Владимир Шувалов и Вячеслав Климов были не только выдающимися учеными, но и обаятельными и доброжелательными людьми, щедро делившимися своими идеями с сотрудниками и учениками. У них был несомненный дар научной интуиции, опережавшей время, и многие их гипотезы, вначале не принимавшиеся научным сообществом, позднее получали экспериментальное подтверждение. Я благодарен судьбе за то, что мне довелось сотрудничать и неформально общаться с этими замечательными людьми.

Фемтосекундная динамика возбужденных состояний в реакционных центрах: возбуждение лазерным импульсом и солнечным светом

Надточенко В.,^{1,2} Черепанов Д.^{1*}

¹ФИЦ ХФ РАН;

²Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*e-mail: tscherepanov@gmail.com, тел. +7 (495) 939-73-47

В работах В.А. Шувалова было продемонстрировано, что электронные состояния кофакторов с разделенными зарядами, возникающие в сверхбыстрых первичных реакциях фотоиндуцированного разделения зарядов в бактериальном реакционном центре [1] и в фотосистеме I цианобактерий [2,3], контролируются поляризационной динамикой белкового окружения и не могут быть описаны в рамках неадиабатической теории.

Различие в спектрально-статистических свойствах естественного света от теплового источника – Солнца и фемтосекундного лазерного импульса допускает переоценку последствий когерентных импульсных лазерных экспериментов, которые отображают динамику возбужденных состояний и эволюцию когерентности во времени в фотосинтетических компонентах. Всё ещё остается открытым вопрос, являются квантовая когерентность и смешанные экситонные состояния со состояниями с переносом заряда при возбуждении широкополосным фемтосекундным импульсом существенными чертами механизма, обеспечивающего эффективный захват света, передачу энергии возбуждения и быстрое разделение зарядов в реакционном центре в фотосистемах. В докладе обсуждаются вопросы, связанные с возможным эффектом света лазерного импульса и света теплового источника на динамику возбужденных состояний в реакционных центрах.

Работа была поддержана фондом РФ (грант №22-24-00705)

1. Streltsov, A. M.; Aartsma, T.J.; Hoff, A.J.; Shuvalov, V. A. Oscillations Within the BL Absorption Band of Rhodobacter Sphaeroides Reaction Centers upon 30 femtosecond excitation at 865 nm. *Chem. Phys. Letters*, 1997, 266, 347-352.

2. Shelaev, I. V.; Gostev, F. E.; Mamedov, M. D.; Sarkisov, O. M.; Nadtochenko, V. A.; Shuvalov, V. A.; Semenov, A. Y. Femtosecond Primary Charge Separation in Synechocystis Sp. PCC 6803 Photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 2010, 1797, 1410– 1420.

3. Cherepanov, D. A.; Shelaev, I. V.; Gostev, F. E.; Mamedov, M.D.; Petrova, A. A.; Aybush, A. V.; Shuvalov, V. A.; Semenov, A. Y.; Nadtochenko, V. A. Mechanism of Adiabatic Primary Electron Transfer in Photosystem I: Femtosecond Spectroscopy upon Excitation of Reaction Center in the Far-Red Edge of the QY Band. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 2017, 1858, 895– 905.

Роль сетей водородных связей в фотосинтетических реакционных центрах 2-го типа

Васильева Л.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
e-mail: vsyulya@mail.ru, тел. +7 (915) 0833799

Благодаря современным технологиям в последние годы становится доступным все больше пространственных структур мембранных белков, расшифрованных с высоким разрешением. Это дает возможность исследовать взаимосвязи между структурой и функцией мембранных комплексов. В частности, значительное внимание привлекают кластеры водородных связей в структурах интегральных комплексов вблизи поверхности мембран, образуемые за счет взаимодействий протонируемых аминокислотных остатков и молекул воды. На настоящий момент наиболее изучена роль сетей водородных связей в мембранных фоторецепторах (родопсинах), на акцепторной стороне фотосинтетических реакционных центров (реакционные центры пурпурных бактерий, фотосистема-2 растений), а также на донорной стороне фотосистемы-2. Показана роль водородных связей в обеспечении структурной пластичности и стабильности мембранных комплексов. Менее изучено влияние кластеров водородных связей на окислительно-восстановительный потенциал кофакторов переноса электрона. В докладе будет проведен краткий обзор опубликованных работ и собственных результатов по данной теме.

Роль поляризационной динамики белка в сверхбыстрых реакциях разделения зарядов в бактериальном реакционном центре и фотосистеме I

Черепанов Д.^{1*}, Надточенко В.^{1,2}

¹ФИЦ ХФ РАН;

²Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*e-mail: tscherepanov@gmail.com, тел. +7 (495) 9397347

Большинство реакций переноса электрона в биологических пигмент-белковых комплексах протекают во временном интервале от пикосекунд до секунд между пространственно-удаленными кофакторами, а их математическое описание основывается на формализме квантовой теории возмущений. В данном приближении, известном как неадиабатическая теория Маркуса-Догондзе, предполагается, что электронное взаимодействие кофакторов мало, вследствие чего подбарьерный перенос электрона (туннелирование) возможен только в ядерных конформациях, в которых энергии начального и конечного состояний равны. В этом подходе конформационное движение ядер рассматривается как набор гармонических мод, находящихся в тепловом равновесии, равновесное состояние которых меняется при перезарядке кофакторов в ходе реакции.

В работах В.А. Шувалова было продемонстрировано, что электронные состояния кофакторов с разделенными зарядами, возникающие в сверхбыстрых первичных реакциях фотоиндуцированного разделения зарядов в бактериальном реакционном центре [1] и в фотосистеме I цианобактерий [2,3], контролируются поляризационной динамикой белкового окружения и не могут быть описаны в рамках неадиабатической теории. Теоретическое рассмотрение подобных реакций переноса электрона под влиянием конформационной динамики среды, основанное на разделении быстрых и медленных движений ядер, известно как адиабатическое приближение Зусмана-Александрова [4-5]. В докладе обсуждается адиабатический механизм первичного фоторазделения зарядов в бактериальном реакционном центре и фотосистеме I цианобактерий, основывающийся на предложенных ранее теоретических моделях: системы связанных уравнений Смолуховского и Фоккера-Планка в классической и в квантовой формулировках, стохастический подход Ланжевена, а также квантовая модель эксиплекса, в котором возбужденные состояния сильно взаимодействующих кофакторов смешаны с состояниями разделенных зарядов.

1. Streltsov, A. M.; Aartsma, T.J.; Hoff, A.J.; Shuvalov, V. A. Oscillations Within the BL Absorption Band of Rhodobacter Sphaeroides Reaction Centers upon 30 femtosecond excitation at 865 nm. *Chem. Phys. Letters*, 1997, 266, 347-352.

2. Shelaev, I. V.; Gostev, F. E.; Mamedov, M. D.; Sarkisov, O. M.; Nadtochenko, V. A.; Shuvalov, V. A.; Semenov, A. Y. Femtosecond Primary Charge Separation in Synechocystis Sp. PCC 6803 Photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 2010, 1797, 1410– 1420.

3. Cherepanov, D. A.; Shelaev, I. V.; Gostev, F. E.; Mamedov, M.D.; Petrova, A. A.; Aybush, A. V.; Shuvalov, V. A.; Semenov, A. Y.; Nadtochenko, V. A. Mechanism of Adiabatic Primary Electron Transfer in Photosystem I: Femtosecond Spectroscopy upon Excitation of Reaction Center in the Far-Red Edge of the QY Band. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 2017, 1858, 895– 905.

4. Zusman, L. D. Outer-sphere electron transfer in polar solvents. *Chem. Phys.* 1980, 49, 295–304.

5. Alexandrov, I. V. Physical aspects of charge transfer theory. *Chem. Phys.* 1980, 51, 449–457.

Окисление пластохинола – лимитирующая стадия в цепи переноса электронов в хлоропластах

Тихонов А.*, Устынюк Л.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*e-mail: an_tikhonov@mail.ru

Доклад посвящен анализу механизмов функционирования цитохромного b_6/f комплекса, входящего в цепь переноса электронов в фотосинтезирующих системах окислительного типа. Рассмотрено строение цепи электронного транспорта (ЦЭТ) хлоропластов, проанализированы механизмы функционирования b_6/f комплекса, расположенного в ЦЭТ между фотосистемами 2 и 1 (ФС2 и ФС1). Получены экспериментальные данные, свидетельствующие, что окисление пластохинола (PQH₂) b_6/f комплексом – стадия, лимитирующая скорость переноса электронов между ФС2 и ФС1. Теоретически изучены процессы двух-электронного (бифуркационного) окисления PQH₂. Методом функционала плотности смоделированы две стадии окисления PQH₂ в каталитическом центре Q_o. Результаты квантово-химических расчетов согласуются с тем, что первая стадия окисления PQH₂ – перенос электрона к Fe₂S₂ кластеру белка Риске – это эндергонический (энерго-акцепторный) процесс ($\Delta E \sim 5\text{--}10$ кДж моль⁻¹), который может лимитировать скорость функционирования цитохромного b_6/f комплекса. Вторая стадия окисления хинола – перенос электрона от молекулы семихинона (PQH), образующейся после первой стадии окисления PQH₂, к низкопотенциальному гему $b_6(L)$, представляет собой экзоэргический (энерго-донорный) процесс ($\Delta E < 0$). Результаты расчетов показывают, что окисление пластосемихинона становится возможным после его смещения в сторону гема $b_6(L)$ (акцептор электрона) и приближения к карбоксильной группе Glu78, служащей акцептором протона. Полученные данные обсуждаются в рамках модели Q-цикла Митчелла, описывающей окисление пластохинола в цитохромном b_6/f комплексе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (РНФ, проект № 21-74-20047)

Генерация разности электрических потенциалов в гибридной системе на основе пигмент-белкового комплекса фотосистемы 2 в ответ на постоянное освещение

Мамедов М.^{1*}, Витухновская Л.^{1,2}, Мамедова А.¹, Заспа А.¹, Семенов А.^{1,2}

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского;

²Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

*e-mail: *mahirmamedov@yandex.ru*

Индукцированное светом функционирование пигмент-белкового комплекса фотосистемы 2 (ФС 2) в тилакоидных мембранах цианобактерий и хлоропластов непосредственно связано с переносом электронов и протонов через мембрану, что приводит к образованию разности электрических потенциалов (ΔV). В настоящей работе был исследован механизм образования ΔV при постоянном освещении в изолированных ядерных комплексах ФС 2, погруженных в нитроцеллюлозный мембранный фильтр (МФ) и зажатых между двумя полупроводниками на основе оксида олова-индия (ИТО) с помощью электрометрического метода. Показано, что ФС 2 участвует в стационарном переносе электронов из воды на ИТО-электрод через реакционный центр (РЦ), что приводит к генерации ΔV между полупроводниками. В ядерных комплексах ФС 2, лишенных марганцевого кластера, ΔV не генерировался. Максимальный и стабильный фотоэлектрический сигнал наблюдался в присутствии 2,6-дихлор-1,4-бензохинона, выступающего в качестве медиатора между первичным хинонным акцептором электрона Q_A в РЦ и электродом ИТО, а также дисахарида трегалозы. Разработанная нами система ИТО/образец-МФ/ИТО представляет собой простой биогрибридный преобразователь энергии света для получения электрических сигналов при длительном постоянном освещении.

Фотообразование активных форм кислорода в фотосистеме 2 при различных модификациях водоокисляющего комплекса

Хоробрых А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
e-mail: *andrewkhor@rambler.ru*

Повреждение водоокисляющего комплекса (ВОК) фотосистемы 2 (ФС2) стимулировало фотообразование супероксид анион радикала ($O_2^{\cdot-}$) и перекиси водорода (H_2O_2). Причём фотообразование $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 в ФС2 увеличивалось с увеличением степени разрушения ВОК. Кроме того, повреждение ВОК приводило к переходу высокопотенциального $Cyt\ b_{559}$ в его промежуточную и низкопотенциальную форму. Предполагается, что увеличение фотообразования $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 в препаратах ФС2, вызванное разрушением ВОК, обусловлено увеличением доли низкопотенциального $Cyt\ b_{559}$ в образцах. Полное разрушение ВОК (приводящее к удалению Mn_4CaO_5 кластера), по мимо фотообразования $O_2^{\cdot-}$ и H_2O_2 на акцепторной стороне ФС2, приводило к фотообразованию гидропероксидов на донорной стороне ФС2 в результате взаимодействия O_2 с радикалами, образующимися при окислении органических молекул долгоживущими состояниями P_{680^+} или $TyrZ$. Было выявлено два типа гидропероксидов, образующихся на донорной стороне ФС2 – липофильной и гидрофильной природы.

Роль В.В. Климова в изучении бикарбонатного эффекта в Фотосистеме 2. Перспективы дальнейших исследований в этой области и их сферы применения в фундаментальной и прикладной науке

Шитов А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
e-mail: aleksshitow@rambler.ru, тел. +7 (916) 3617197

Исследование механизма фотосинтетического окисления воды и функционирования комплекса Фотосистемы 2 (ФС-2) как единого целого, является фундаментальной научной проблемой, так как эффективность функционирования этого пигмент-белкового комплекса во многом определяет продуктивность фотосинтезирующих организмов. Одним из важных кофакторов ФС-2 является ион бикарбоната (БК), ряд функций которого требуют дополнительного изучения чтобы сформировать целостные представления о работе ФС-2.

Влияние БК на ФС-2 (т.н. «бикарбонатный эффект» (БК эффект)) изучается ещё с 70-х годов 20-го века и В.В. Климов с коллегами внесли значительный вклад в эту работу, сфокусировавшись на исследовании этого эффекта на донорной стороне ФС-2 (т.е. там, где происходит окисление воды). Эти исследования охватывали представителей различных групп фотосинтезирующих организмов. В результате плодотворной и многолетней работы были выявлены следующие аспекты влияния БК на функционирование ФС-2. 1) Определены условия проявления БК эффекта на донорной и на акцепторной сторонах ФС-2. 2) Доказано, что присутствие БК увеличивает скорость фотосинтетического окисления воды. 3) Выявлено, что присутствие бикарбоната стабилизирует сборку и фотоактивацию неорганического каталитического центра (Mn₂CaO₄-кластера) водоокисляющего комплекса (ВОК) и были предложены модели участия БК в этих процессах. 4) Выяснено также, что бикарбонат стабилизирует функционирование ФС-2 в условиях фото- и термоинактивации. 5) Установлено также, БК способствует более прочному удержанию белков ВОК в ФС-2 при воздействии на неё стрессовых факторов. 6) Кроме того, показано, что карбоангидразная активность (катализ обратимых преобразований CO₂ - HCO₃⁻), присущая ФС-2 многих фотосинтезирующих организмов, важна для поддержания высокой скорости окисления воды в этом комплексе. Таким образом, работы, руководимые и вдохновляемые В.В. Климовым, внесли огромный вклад в исследования БК эффекта в ФС-2 и подтвердили, что БК и его преобразования являются неотъемлемой частью механизма функционирования ФС-2 в целом.

Однако, сейчас не существует целостных моделей, описывающих корреляцию эффектов БК на донорной и акцепторной сторонах ФС-2. Даже существующие модели отдельных эффектов БК содержат противоречия, требующие дополнительного изучения. Например, последние рентгеноструктурные модели ФС-2 не показывают наличие ионов БК на донорной стороне, несмотря на явный и неоднократно показанный БК эффект. В связи с этим возникла гипотеза «мобильного БК» на донорной стороне ФС-2, которая также требует серьёзного экспериментального подтверждения. Таким образом, исследование влияния БК на функционирование всего комплекса ФС-2 в целом представляет значительный научный интерес. Это важно для формирования общей модели механизма функционирования ФС-2, наличие и адекватность которой открывает путь к созданию искусственных систем окисления воды, к повышению устойчивости и продуктивности сельскохозяйственных растений, к созданию новых высокоэффективных гербицидов. Эти знания также будут востребованы для повышения устойчивости существующих в настоящее время топливных элементов на основе изолированных комплексов ФС-2 и других подобных искусственных систем.

Секция «Структурно-функциональная организация реакционных центров и антенных комплексов, перенос энергии и разделение зарядов в фотосинтетических реакционных центрах»

Моделирование взаимодействия периферических светособирающих комплексов *Rhodospseudomonas palustris* с бактериофитохромами

Абдуллатыпов А.*, Смолыгина Л., Сердюк О.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
*e-mail: azatik888@yandex.ru, тел. +7 (925) 1723751

Структурные модели периферических светособирающих комплексов бактерии *Rhodospseudomonas palustris* (LH2, LH3, LH4) были построены методом молекулярного замещения на базе гомологов из *Rhodoblastus acidophilus*, для которых известна трёхмерная структура [1-3]. Ранее было показано, что в культурах бактерии *Rhodospseudomonas palustris* присутствует бактериофитохром-подобный комплекс, содержащий билиновый хромофор [4]. Поскольку возможной функцией такого комплекса является регуляторная, был проведён анализ возможности образования физиологичных комплексов такого типа в *Rhodospseudomonas palustris* методом белок-белкового докинга на сервере ClusPro [5]. В анализе использовались построенные модели периферических светособирающих комплексов и известные трёхмерные структуры бактериофитохромов *Rhodospseudomonas palustris* [6-7].

Физиологичность полученных на ClusPro комплексов “LH-комплекс-бактериофитохром” оценивалась по следующим критериям: 1) связывание бактериофитохрома должно было проходить с цитоплазматической стороны мембраны; 2) Расстояние от хромофора LH-комплекса до хромофора бактериофитохрома должно было быть сравнимым с расстояниями между хромофорами в LH-комплексе для эффективного переноса энергии.

Для LH2-комплекса полученные комплексы не были физиологичны; для LH3 физиологически наиболее релевантно было взаимодействие с бактериофитохромом 3, а для LH4 – с бактериофитохромом 2.

Работа выполнена в рамках госзадания № 122041200039-0.

1. Prince S. M. и др. Apoprotein structure in the LH2 complex from *Rhodospseudomonas acidophila* strain 10050: modular assembly and protein pigment interactions // *J Mol Biol.* 1997. Т. 268. № 2. С. 412–423.

2. Papiz M. Z. и др. The structure and thermal motion of the B800-850 LH2 complex from *Rps.acidophila* at 2.0Å resolution and 100K: new structural features and functionally relevant motions // *J Mol Biol.* 2003. Т. 326. № 5. С. 1523–1538.

3. McLuskey K. и др. The crystallographic structure of the B800-820 LH3 light-harvesting complex from the purple bacteria *Rhodospseudomonas acidophila* strain 7050 // *Biochemistry.* 2001. Т. 40. № 30. С. 8783–8789.

4. Сердюк О. П. Мембраносвязанный бактериофитохром-подобный комплекс фототрофной пурпурной несерной бактерии *Rhodospseudomonas palustris* / О. П. Сердюк, М. С. Христин, Л. Д. Смолыгина // Доклады Академии наук. – 2018. – Т. 482. – № 6. – С. 728-731.

5. Desta I. T. и др. Performance and Its Limits in Rigid Body Protein-Protein Docking // *Structure.* 2020. Т. 28. № 9. С. 1071- 1081.e3.

6. Yang X. и др. Crystal structure of the chromophore binding domain of an unusual bacteriophytochrome, RpVphP3, reveals residues that modulate photoconversion // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007. Т. 104. № 30. С. 12571–12576.

7. Yang X. и др. Light Signaling Mechanism of Two Tandem Bacteriophytochromes // *Structure.* 2015. Т. 23. № 7. С. 1179–1189.

Структурные модели пластоцианина как возможной мишени для гербицидов направленного действия

Абдуллатыпов А.^{1*}, Федорчук Т.¹, Трубицина Л.², Трубицин И.², Хорошаев Д.³

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

³Институт физиологических и биохимических проблем почвоведения РАН — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: azatik888@yandex.ru, тел. +7 (925) 1723751

Для успешной борьбы с сорными растениями при минимизации экологического ущерба необходима разработка новых видоспецифичных гербицидов. Достаточно острой проблемой является широкое распространение гигантских борщевиков — борщевика Сосновского в России и других странах Восточной Европы [1], борщевика Мантегацци в странах Западной Европы и Северной Америки [2].

Возможной мишенью селективных гербицидов может стать пластоцианин (ПЦ) — подвижный переносчик электронов между цитохромным b6f-комплексом и фотосистемой I (ФС1). Структура ПЦ достаточно консервативна у растений, а его ген присутствует в геноме в одной копии, изоформы отсутствуют [3]. Однако в ходе поиска переменных участков в белках растений семейства Зонтичные для выбора мишени для гербицидов направленного действия было обнаружено, что ПЦ моркови и петрушки отличаются по 12 остаткам (идентичность 84.4%), при этом структурные данные для ПЦ петрушки обладают максимально возможной надёжностью (имеются данные ЯМР в растворе, по 30 конформеров для окисленного и восстановленного вариантов) [4]. Для ПЦ моркови имеются данные предсказания структуры сервером AlphaFold2 [5]. Взаимодействие ПЦ с ФС1 осуществляется с участием электростатических [6] и сильных гидрофобных взаимодействий [7]. Переменные участки ПЦ можно разделить на две группы: 1) расположенные ближе к активному центру; 2) расположенные ближе к поверхности взаимодействия с ФС1. Ориентировать разрабатываемый селективный гербицид можно на обе группы остатков.

Работа выполнена в рамках госзадания № 122041200039-0

1. Бочкарев, Д. В. Трансформация пойменно-лугового фитоценоза при внедрении в него адвентивного сорного вида - борщевика Сосновского / Д. В. Бочкарев, А. Н. Никольский, Н. В. Смолин // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2011. – № 7(81). – С. 36-40. – EDN NUOSNL.

2. Flanagan K. E., Blankenship K., Houk L. Botanical Briefs: Phytophotodermatitis Caused by Giant Hogweed (*Heracleum mantegazzianum*) // *Cutis*. 2021. Т. 108. № 5. С. 251–253.

3. Last D. I., Gray J. C. Plastocyanin is encoded by a single-copy gene in the pea haploid genome // *Plant Mol Biol*. 1989. Т. 12. № 6. С. 655–666.

4. Bagby S. и др. High-resolution solution structure of reduced parsley plastocyanin // *Biochemistry*. 1994. Т. 33. № 21. С. 6611–6622.

5. Cramer P. AlphaFold2 and the future of structural biology // *Nat Struct Mol Biol*. 2021. Т. 28. № 9. С. 704–705.

6. Takabe T. и др. Electron transfer between plastocyanin and P700 in highly-purified photosystem I reaction center complex. Effects of pH, cations, and subunit peptide composition // *J Biochem*. 1983. Т. 94. № 6. С. 1901–1911.

7. Caspy I. и др. Structure of plant photosystem I-plastocyanin complex reveals strong hydrophobic interactions // *Biochem J*. 2021. Т. 478. № 12. С. 2371–2384.

Генерация и тушение синглетного кислорода каротиноидами с короткой цепью сопряженных двойных связей

Ашихмин А.^{1*}, Бендикис А.², Москаленко А.¹, Красновский мл. А.²

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

²Институт биохимии имени А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

*e-mail: ashikhminaa@gmail.com, тел. +7 (4967) 731849

Каротиноиды являются важными биологически активными соединениями, которые широко распространены в природе. У фотосинтезирующих организмов (растения, водоросли и бактерии) они выполняют три основные функции: светособирающую, структурную и защитную. Защитные свойства каротиноидов основаны на их способности тушить триплетные состояния бактериохлорофиллов и хлорофиллов, а также нейтрализовать синглетный кислород ($^1\text{O}_2$) и свободные радикалы. Ранее на основе проведенных экспериментов с ретиналом, полиеном с 6 сопряженными двойными связями (СДС), было высказано предположение, что каротиноиды с 3-7 СДС могут участвовать в фотообразовании $^1\text{O}_2$ [1]. Однако систематический анализ генерации синглетного кислорода такими каротиноидами не проводился.

Целью данной работы было изучение способности С-40 каротиноидов (фитоина, фитофлуина и ζ -каротина) генерировать и тушить $^1\text{O}_2$ в модельной системе с органическими растворителями. Эти каротиноиды являются универсальными предшественниками в биосинтезе окрашенных каротинов и ксантофиллов. Образование $^1\text{O}_2$ исследовали путем измерения его собственной инфракрасной фосфоресценции при 1270 нм, которая возникает в результате переноса энергии от триплетного состояния молекул фотосенсибилизатора на кислород с последующим заселением возбужденного синглетного ($^1\Delta_g$) состояния молекул кислорода. Квантовый выход генерации $^1\text{O}_2$ (Φ_{Δ}) измеряли, используя в качестве эталона органический фотосенсибилизатор феноленон. Эксперименты проводили, используя в качестве растворителя гексафторбензол (C_6F_6), в котором время жизни $^1\text{O}_2$ в несколько сотен раз больше, чем в органических растворителях, содержащих атомы водорода.

Было установлено, что изученные каротиноиды сильно различаются по своей способности фотосенсибилизировать и тушить $^1\text{O}_2$. Обнаружено, что фитоин менее эффективен в обоих этих процессах. По нашим расчетам Φ_{Δ} для фитофлуина и ζ -каротина составил $0,39 \pm 0,06$ и $0,014 \pm 0,04$, а константы скоростей тушения $^1\text{O}_2$ были равны $(3,6 \pm 0,9) \times 10^7$ и $(2,1 \pm 0,2) \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, соответственно. Обнаруженная нами фотогенерация $^1\text{O}_2$ каротиноидами, вероятно, является следствием заселения их триплетных состояний ($^3\text{Кар}$), способных передавать энергию кислороду. Таким образом, наибольшую фотосенсибилизирующую активность среди изученных каротиноидов показал фитофлуин. Установлено, что фитофлуин и ζ -каротин можно рассматривать как потенциальные фотосенсибилизаторы фотодинамического стресса в фотосинтетических клетках.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-1352.2021.1.4).

1. Krasnovsky, A. A., Jr., and Kagan, V. E. (1979) Photosensitization and quenching of singlet oxygen by pigments and lipids of photoreceptor cells of the retina, *FEBS Lett.*, 108, 152-154.

Energy-dependent quenching and state transitions in modeling the photoinduction kinetics of chlorophyll *a* fluorescence in *Scenedesmus obliquus* cells

Belyaeva N.^{1*}, Bulychev A.¹, Klementev K.², Riznichenko G.¹, Rubin A.¹

¹Department of Biophysics, Biology Faculty of the M.V. Lomonosov Moscow State University, 119992, Moscow, Russia,

²Faculty of Biology, Shenzhen MSU-BIT University, Shenzhen 518172, China

*e-mail: natalmurav@yandex.ru, +7 (903) 2039505

Chlorophyll *a* fluorescence induction (FI) measured by exposing dark-adapted *Scenedesmus obliquus* cells to high light, shows polyphasic fast and slow kinetic phases. The intermediate steps of fluorescence rise (OJIP) and decay (PSMT) in the total OJIPSMT pattern of *Scenedesmus* cells were observed with 1800 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in the time range from 10 μs to 10 min. Literature sources mostly focus on OJIP fluorescence rise followed the reduction of the electron transport chain [1], while less attention was devoted to analyze the delayed PSMT stages of photoinduction [2,3]. Principles of our Thylakoid Membrane (TM) model [4] describing electron transfer in reaction centers of photosystems II and I (PSII and PSI) and cytochrome *b₆f* complex remained unchanged whereas FNR activation and energy-dependent qE quenching were considered to quantify the kinetics of FI and ΔA_{810} in pea leaves [5]. TM model was applied to quantify FI patterns OJIP-SMT measured on *Synechocystis* sp. PCC6803 cells [6] provided that state transitions ($qT_{2 \rightarrow 1}/qT_{1 \rightarrow 2}$) were described by exponential functions. However, the qT component that operates on the scale of minutes involves the reversible association of LHCII proteins with PSII and PSI which depends on the redox state of the PQ pool [7, 8].

In the present work the TM model is modified to include as a model variable the portion of mobile antenna which is associated with PSII / PSI. Thereafter, a mathematical definition of state changes $qT_{2 \rightarrow 1} / qT_{1 \rightarrow 2}$ allows testing the events possibly related with the redox state of the PQ pool “sensed” at the Q_o site (luminal) of the Cyt *b₆f* complex when reversible phosphorylation of the mobile LHCII of PSII triggers State 1(2) to State 2(1) transitions. Eventually, fitting the TM model at the fast and, partially, slow FI stages OJIPSMT is achieved due to simulating the electrochemical potential components $\Delta\Psi(t)$, $\text{pH}_S(t)$, $\text{pH}_L(t)$ with the adjustment of parameters for light-activated FNR –reductase. Also, initiation of qE-quenching at $\text{pH}_{L|qE}=6.7$ was revealed to define the dynamic rate constants $k_{qE}(t)$ [5-7]. We conclude that the PSMT slow FI transient in *Scenedesmus* cells is due to the superimposition of qE dependent NPQ acting faster than state changes $qT_{2 \rightarrow 1}$ with the involvement of photoinhibition during the MT decline.

1. Stirbet A, Govindjee (2012) Photosynth Res 113:15–61
2. Papageorgiou GC, Tsimilli-Michael M, Stamatakis K (2007) Photosynth Res 94:275–290
3. Stirbet A, 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
4. Belyaeva NE, Bulychev AA, Riznichenko GYu, Rubin AB (2016) Photosynth Res 130, 491–515
5. Belyaeva N, Bulychev A, Riznichenko G, Rubin A (2019) Analyzing both the fast and the slow phases of chlorophyll *a* fluorescence and P700 absorbance changes... Photosynthesis Research 140:1-19.
6. Belyaeva N, Bulychev A, Klementiev K, et al. (2020). Photosynth Res 146(1):259-278
7. Ebenhöh O, Fucile G, Finazzi G, Rochaix JD, Goldschmidt-Clermont M (2014) Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 369: 20130223.
8. Kodru S, Malavath T, Devadasu E, et al. (2015) Photosynth Res 125(1–2):219–231.

Влияние ингибирования биосинтеза каротиноидов на сборку и свойства светособирающих комплексов LH2 у серных фотосинтезирующих бактерий

Большаков М.*, Ашихмин А., Махнева З., Москаленко А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: lfbv22@gmail.com, тел. +7 (4967) 731849

Поиск пурпурных серных бактерий, у которых можно полностью ингибировать биосинтез каротиноидов, является важной задачей, поскольку, это позволит лучше понять механизм сборки этих комплексов *in vivo*, а также только подавив биосинтез каротиноидов возможно провести сравнительный анализ и установить свойства и механизмы функционирования этих пигментов в пигмент-белковых комплексах.

Данная работа проводилась на трех типах серных бактерий: *Allochrochromatium (Alc.) vinosum*, *Thiorhodospira (T.) sibirica* и *Thermochromatium (T.) tepidum*. Особенностью *T. sibirica* является то, что в ее мембранах содержатся комплексы LH2 типа В800-830 и В800-850, которые собираются без изменений вне зависимости от условий культивирования. Одной из характерных особенностей комплекса LH2 (В800-850) из *Alc. vinosum* являются их конформационные переходы. Варьируя условиями выращивания культуры, в клетках этой бактерии могут собираться комплексы LH2 типа В800-840 или В800-820. Особое внимание привлекает серная бактерия *T. tepidum*, которая отличается от всех известных пурпурных бактерий тем, что ее оптимальная температура роста составляет около 50°C. Термоустойчивость этой бактерии делает возможным получение более стабильных комплексов LH2 с минимальным содержанием каротиноидов, поскольку известно, что у *Alc. vinosum* и *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* бескаротиноидные комплексы LH2 очень лабильны и легко разрушаются при воздействии температуры и детергентов.

Было показано, что у *T. sibirica* штамм можно подавить биосинтез каротиноидов на ~ 90%. Таким образом, эта бактерия может рассматриваться как объект для изучения роли и функций каротиноидов в светособирающих комплексах LH2 типа В800-830 и В800-850. Также были получены фотосинтетические мембраны и комплексы с разным качественным и количественным содержанием каротиноидов (10-100%) и изучен их пигментный состав. Содержание каротиноидов в комплексах LH2 из *Alc. vinosum*, выделенных из ДФА-клеток, составило: в ДФА-комплексе В800-850 ~15%, а в ДФА-комплексах В800-820 и В800-840 – ~20% от контроля (без ингибирования дифениламином (ДФА)). В случае *T. tepidum* самым лучшим результатом из всех повторений стали клетки с 40% содержанием каротиноидов.

В выделенных комплексах проведена оценка эффективности переноса энергии с каротиноидов на бактериохлорофилл. Зарегистрированы спектры поглощения и кругового дихроизма, изучен каротиноидный состав всех выделенных комплексов.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (МК-1352.2021.1.4).

Исследование температурной зависимости кинетики восстановления P_{700}^+ в комплексах фотосистемы 1 из *Synechocystis* sp. PCC 6803 в растворах осмолитов

Вишневская А.^{1,2*}, Петрова А.², Милановский Г.², Семенов А.²

¹Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;

²НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ имени М. В. Ломоносова

*e-mail: ai.vish@yandex.ru, тел. +7 (916) 3931127

Одним из подходов к исследованию переноса электрона в пигмент-белковых комплексах фотосистемы 1 (ФС1) является регистрация кинетики восстановления фотоокисленного P_{700} в ответ на лазерную вспышку. Это позволило получить данные о взаимодействии ФС1 из *Synechocystis* sp. PCC 6803 с экзогенными донорами и акцепторами электронов, а также оценить скорость переноса электрона на акцепторном участке реакционного центра этого комплекса [1,2]. Кинетика восстановления P_{700}^+ в ответ на лазерную вспышку была изучена при изменении температуры, а также в стекловидной трегалозной матрице [3, 4], причем воздействие этих факторов было сходно и объяснялось ограничением динамики белка. На основании изучения кинетики обратного переноса электронов при понижении температуры и в присутствии осмолитов можно сделать вывод о характере прямого переноса, о роли подвижности белка в этом процессе и механизмах, определяющих скорость реакций переноса электрона.

В данной работе проведено сравнение переноса электрона в комплексах ФС1 в буферном растворе (HEPES 50 mM pH 7.5) и двух разных осмолитах: трегалозе (1.75 M) и глицерине (60%) в диапазоне температур от -5° до $+25^\circ\text{C}$. Измерения проводились на полных комплексах ФС1 из *Synechocystis* sp. PCC 6803, а также в модифицированных комплексах с удаленными терминальными железо-серными кластерами F_A и F_B (F_X -core). Для регистрации кинетики восстановления P_{700}^+ использовался метод импульсной лазерной абсорбционной спектроскопии с микросекундным временным разрешением. Полученные кинетики аппроксимировались мультиэкспоненциальной зависимостью, отдельные компоненты которой соответствовали обратному переносу электрона с железо-серных кластеров F_A/F_B , F_X и хинонов A_1 , а также прямым реакциям восстановления P_{700}^+ от экзогенных доноров электрона.

В случае интактных комплексов ФС1 добавление трегалозы приводило к замедлению обратного переноса электрона с $[F_A/F_B]^-$ на P_{700}^+ на $\sim 12\%$ во всем исследуемом диапазоне температур. Замедление кинетики при понижении температуры от $+25$ до -5°C в случаях буферного раствора и трегалозы составило $\sim 400\%$, в то время как в глицерине замедление кинетики в этом температурном диапазоне было незначительным. Для того, чтобы определить, на какие компоненты кинетики рекомбинации зарядов в комплексах ФС1 преимущественно влияет температура, мы исследовали комплексы F_X -core. Характерное время рекомбинации с F_X^- на P_{700}^+ несколько замедлялось в присутствии глицерина и трегалозы при комнатной температуре. При этом изменение температуры практически не влияло на кинетику в случае контроля (буферного раствора) и трегалозы, однако приводило к замедлению на $\sim 12\%$ в случае глицерина. Полученные данные позволяют заключить, что понижение температуры в диапазоне от $+25$ до -5°C в интактных комплексах ФС1 преимущественно влияет на кинетику обратного переноса электрона от $[F_A/F_B]^-$, на F_X . Влияние глицерина на кинетику переноса электрона в комплексах ФС1 отличается от влияния температуры и трегалозы в растворе, как в случае интактных комплексов, так и в случае комплексов F_X -core.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-74-10085.

1. Petrova A., et al. (2017) Photosynth. Res. 133(№ 1–3):175–184.
2. Milanovsky G., et al (2017) Photosynth. Res. 133(№ 1):185–199.
3. Milanovsky G., et al. (2019) Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenergetics. 1860(№ 8):601–610.
4. Malferrari M., et al. (2016) Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Bioenergetics. 1857(№ 9):1440–1454.

Квантовый выход фотодеструкции бактериохлорофиллов в светособирающих комплексах LH2 серной пурпурной фотосинтезирующей бактерии *Allochrochromatium vinosum* при возбуждении в полосу поглощения каротиноидов

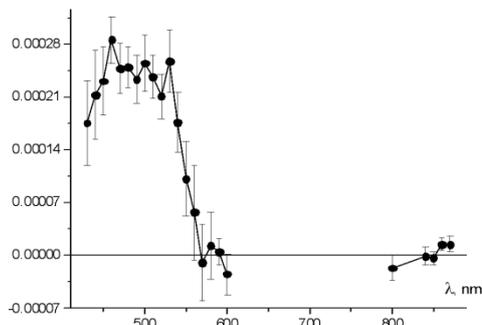
Кленина Б.*, Махнева З., Москаленко А., Проскураков И.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: ikleonik@yandex.ru, тел. +7 (926) 8836641

В фотосинтезирующих организмах пигмент-белковые светособирающие комплексы (ССК) служат для поглощения квантов света и передачи электронного возбуждения на фотохимические реакционные центры, в которых происходит запаасающий энергию процесс переноса электрона. В состав ССК входят бактериохлорофиллы (БХл) как основные пигменты, и каротиноиды как вспомогательные. Последние существенно расширяют спектральный диапазон поглощаемого света, а также защищают ССК от образования губительного синглетного кислорода, туша триплетные состояния бактериохлорофиллов. Между тем, необъяснённым остаётся экспериментальное наблюдение фотодеструкции бактериохлорофиллов в антенных комплексах пурпурных бактерий при возбуждении в полосу каротиноидов [1].

На рисунке представлен спектр действия фотовыцветания поглощения БХл850, одной из двух спектральных форм бактериохлорофилла антенных комплексов серной пурпурной бактерии *Allochrochromatium vinosum*. Фотовыцветание было вызвано освещением в полосу поглощения каротиноидов. Вместе с этим, возбуждение в полосу поглощения БХл (590 нм, 850 нм), фотодеструкции бактериохлорофиллов практически не вызывало. По-видимому, наблюдаемая фотодеструкция вызвана генерацией синглетного кислорода. Это происходит в результате образования триплетных состояний каротиноидов по механизму синглет-триплетного деления возбуждения [2]. Учитывая низкий квантовый выход описываемого процесса, мы



предположили, что основные каротиноиды с длиной сопряженной системы двойных связей 11-12 способны инициировать генерацию $^1\text{O}_2^*$.

Работа выполнялась в рамках проекта № 121040200027-1 Минобрнауки.

1. Махнева З.К., Ерохин Ю.Е., Москаленко А.А. Фотосенсибилизированное каротиноидами окисление димеров бактериохлорофилла светособирающих комплексов В800-850 в клетках *Allochrochromatium minutissimum* // ДАН, 2007, т.416, с. 408

2. Кленина, И. Б., Махнева, З. К., Москаленко, А. А., Кузьмин, А. Н., Проскураков, И.И. Синглет-триплетное деление возбуждения в светособирающих комплексах пурпурных фотосинтезирующих бактерий и в изолированных каротиноидах // Биофизика, 2013, т. 58, с. 54-63.

Динамика триплетных состояний пигментов реакционных центров

Кленина И., Фуфина Т., Васильева Л., Проскуряков И.*

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
*e-mail: pros@issp.serpukhov.su

Тушение триплетных состояний бактериохлорофиллов (БХл) фототрофных бактерий предотвращает генерацию химически активного синглетного кислорода и поэтому является важной задачей. Фотосинтезирующие организмы обычно решают эту задачу путем Т-Т переноса энергии на молекулы каротиноидов, удаленных от БХл на расстояния, не превышающие 10 Å. Мы исследовали механизмы тушения ³БХл в случае отсутствия каротиноидов в структуре бактериальных РЦ. В работе использовали реакционные центры *Rhodobacter sphaeroides* R26, в которых ион железа был замещен ионом цинка, а также РЦ с удаленным первичным акцептором (dQ_A). Диамагнитный Zn²⁺ замедляет процесс спин-решеточной релаксации восстановленного первичного акцептора электрона Q_A и упрощает анализ ЭПР-спектроскопических свойств РЦ. Основным методом являлся оптический флеш-фотолиз, в том числе в магнитном поле. Последний фактор связан с тем, что изучаемые спин-зависимые процессы чувствительны к магнитному полю. Измерения проводили в диапазоне температур 100 – 280 К при селективном возбуждении всего БХл РЦ (590 нм) или его первичного донора P₈₇₀ (875 нм). Были получены следующие результаты:

1. РЦ с однократно восстановленным первичным акцептором имеют значительно более сильную температурную зависимость скорости дезактивации ³P₈₇₀, чем dQ_A РЦ, что указывает на эффект ускорения гибели триплета в присутствии парамагнитной молекулы Q_A.

2. Время жизни ³P₈₇₀ зависит от магнитного поля. Кривые полевой зависимости различаются для dQ_A РЦ и РЦ с однократно восстановленным хиноном.

3. Двукратное восстановление Q_A приводит к появлению неожиданного эффекта поля, противоположного по знаку со случаем (2).

На основе этих результатов были сделаны следующие выводы:

1. Форма полевых зависимостей (2) позволяет предположить наличие механизма радикал-триплетных пар релаксации ³P₈₇₀ в случае однократно восстановленного Q_A.

2. В РЦ с двукратно восстановленным Q_A вероятно работает механизм полевой зависимости правила сохранения проекции магнитного момента ³P₈₇₀ в процессе Т-Т переноса энергии.

Изученные явления представляют особый интерес для объяснения тушения триплетного состояния P₆₈₀ в РЦ фотосистемы 2, где тесно взаимодействующие с первичным донором молекулы каротиноидов отсутствуют. Они также важны для интерпретации результатов работы [1], в которой магнитные эффекты в dQ_A реакционных центрах *Rhodobacter sphaeroides* R26 были использованы для расчетов энергетики фотопереноса электрона в РЦ.

Работа выполнялась в рамках проекта № 121040200027-1 Минобрнауки.

1. C. Chidsey, L. Takiff, R. Goldstein, S. Boxer, Effect of magnetic fields on the triplet state lifetime in photosynthetic reaction centers: Evidence for thermal repopulation of the initial radical pair, PNAS 82 (1985), 6850-6854

Конформационная подвижность фикобилипротеинов

Максимов Е.

Биологический факультет, Московский государственный университет

e-mail: *emaksimoff@yandex.ru*, тел. +7 (495) 9391106

Структурная организация природных пигмент-белковых комплексов обеспечивает специфическую среду для хромофорных групп. Однако белки по своей природе динамичны и конформационно подвижны. В данной работе мы демонстрируем гетерогенность хромофоров С-фикоцианина (С-РС) из спирулины. Часть популяции тримерного С-РС подвержена спонтанным нарушениям белок-белковых взаимодействий, что приводит к повышенной конформационной подвижности хромофоров. При возбуждении флуоресценции в видимом диапазоне спектральные характеристики этих малозаселенных состояний маскируются обычными состояниями хромофора, но первые могут быть четко различимы при возбуждении флуоресценции квантами ближнего инфракрасного диапазона. Такое селективное возбуждение конформационно подвижных хромофоров С-РС обусловлено структурой их уровня S1, который характеризуется значительно уширенной спектральной линией. Мы показываем, что антистоксова флуоресценция С-РС является результатом однофотонного поглощения. Комбинируя спектральные и структурные методы, мы охарактеризовали четыре различных состояния хромофоров С-РС, излучающих при 620, 650, 665 и 720 нм, и приписали быструю компоненту в кинетике затухания антистоксовой флуоресценции в диапазоне 690-750 хромофорам с повышенной конформационной подвижностью. Наши данные показывают, что спектральные и временные характеристики антистоксовой флуоресценции могут быть использованы для изучения динамики белков и разработки методов визуализации локальных параметров среды, таких как температура.

Работа была поддержана фондом РФ (грант № 21-44-00005).

Экситонные взаимодействия тетрамера хлорофилла в рекомбинантном водорастворимом хлорофиллсвязывающем белке WSCP

Милановский Г.^{1,2*}, Черепанов Д.², Неверов К.³, Гостев Ф.², Шелаев И.², Айбуш А.², Обухов Ю.³, Крицкий М.³, Надточенко В.²

¹НИИ ФХБ МГУ;

²ФИЦ ХФ РАН;

³Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

*e-mail: milanovsky@belozersky.msu.ru, тел. +7 (903) 7726043

Методом широкополосной фемтосекундной лазерной спектроскопии «возбуждение-зондирование» была измерена абсорбционная динамика в диапазоне от 400 до 800 нм рекомбинантного водорастворимого хлорофилл-связывающего белка (WSCP) из цветной капусты. Четыре симметрично расположенных молекулы хлорофилла *a*, являющиеся кофакторами WSCP в форме двойного димера, образуют экситонно-сопряженный комплекс. Параметры экситонного взаимодействия хлорофиллов (положение экситонных полос и их амплитуда) были определены путем анализа спектров линейного поглощения и кругового дихроизма, а также рассчитаны на основе кристаллографической структуры WSCP в приближениях точечных диполей, распределенных монополей и прямых расчетов *ab initio* методом TD-DFT с использованием гибридных функционалов с коррекцией дальнедействующих взаимодействий. Показано, что обменные взаимодействия делокализованных волновых функций возбужденных кофакторов WSCP индуцируют поворот вектора дипольного момента перехода Q_y мономера хлорофилла *a* на 25° в плоскости порфиринового макроцикла и заметное уменьшение его амплитуды. С помощью полученных теоретических оценок была проинтерпретирована динамика релаксации возбужденных экситонных состояний тетрамера хлорофилла *a* в области полосы Q_y , а также Стоксов сдвиг стимулированного излучения этих пигментов во временном диапазоне от 60 фс до 500 пс. Время релаксации экситонных состояний димера хлорофилла *a* составило 70 фс, а время релаксации тетрамера - 13 пс.

Работа была поддержана фондом РФ (грант №22-24-00705).

Эффекты катионных антисептиков на перенос энергии в хроматофорах пурпурных несерных бактерий

**Пашенко В.^{1*}, Лукашев Е.¹, Корватовский Б.¹, Нокс П.¹, Сейфуллина Н.¹, Махнева З.²,
Большаков М.²**

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;

²Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: vz.paschenko@gmail.com, тел. +7 (905) 5644337

Фотосинтетические мембранные комплексы пурпурных бактерий являются удобными и информативными макромолекулярными системами для изучения механизмов влияния различных физико-химических факторов на функционирование каталитических белков – как в изолированном состоянии, так и в составе функциональных мембран. В частности, такие «тестовые системы» можно успешно использовать для исследования эффектов воздействия антисептических веществ на бактериальные мембраны. В данной работе методами стационарной и кинетической флуоресцентной спектроскопии было исследовано влияние ряда катионных антисептиков на процессы миграции энергии от светособирающего комплекса LH2 к коровому комплексу LH1-реакционный центр (RC) в хроматофорах бактерий *Rb. sphaeroides* и перенос энергии от светособирающего комплекса LH1 к RC в хроматофорах *R. rubrum*. Добавление антисептиков к хроматофорам *Rb. sphaeroides* снижало эффективность переноса энергии между LH2 и LH1 комплексами. Эффект возрастал в ряду мирамистин, хлогексидин, пиклоксидин, октенидин. Максимальный эффект наблюдался при добавлении 100 мкМ октенидина. Мы объяснили наблюдаемый эффект взаимодействием данных антисептиков с анионными фосфолипидами в хроматофорах *Rb. sphaeroides*, составляющими более 40% липидного содержания этих мембран. Это приводит к определенным структурным изменениям в упаковке липидной фазы и нарушению оптимальных условий для переноса энергии между пигментными кольцами светособирающих комплексов в мембране. В хроматофорах *R. rubrum*, отличающихся меньшим по сравнению с *Rb. sphaeroides* молярным содержанием анионных фосфолипидов, эффективность воздействия антисептиков на интенсивность флуоресценции и процесс переноса энергии возрастала в ряду: хлогексидин, пиклоксидин, мирамистин, октенидин. При добавлении мирамистина и октенидина происходило увеличение как интенсивности флуоресценции, так и ее длительности. При этом при одинаковых концентрациях антисептиков рост интенсивности свечения в 2-3 раза опережал увеличение ее длительности. Сделан вывод, что в присутствии антисептиков происходит уменьшение эффективности миграции энергии LH1→RC, а также увеличение величины константы скорости флуоресценции k_f . Последнее мы связываем с изменением поляризации в микроокружении молекул бактериохлорофилла при добавлении заряженных молекул антисептиков.

Сравнительный анализ кинетики переноса электрона в фотосистеме 1 цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 и зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*

Петрова А.^{1*}, Козулева М.^{2,1}, Милановский Г.¹, Вишневская А.¹, Циркунов П.¹, Заспа А.¹, Семенов А.¹

¹НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ;

²Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: draparnaldia@gmail.com, тел. +7 (915) 2967973

Основным модельным организмом для изучения процессов переноса электрона в комплексах ФС1 традиционно является цианобактерия *Synechocystis* sp. PCC 6803. Реакции переноса электрона в ФС1 из этого организма были описаны методами кинетического моделирования [1, 2, 3]. Нами для ФС1 из *S.6803* был разработан подход к исследованию процессов переноса электрона, который заключается в последовательном удалении терминальных кофакторов переноса электрона и регистрации зависимости кинетики восстановления фотоокисленного первичного донора электронов P_{700} в ответ на единичную лазерную вспышку от концентрации внешнего акцептора для каждого типа комплексов. Для комплексов, лишенных железо-серных кластеров F_A/F_B (F_X -core) и F_X (A_1 -core) были определены скорости рекомбинации зарядов от конечного кофактора в цепи и скорости переноса электрона к внешнему акцептору электронов – метилвиологену (MV). Весь комплекс полученных данных был описан одной кинетической моделью, из которой были рассчитаны значения редокс-потенциалов филлохинонов в сайтах связывания A_1 [4, 5]. В данной работе мы применили такой подход для исследования переноса электрона в ФС1 из зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* и впервые получили кинетическую модель переноса электрона в ФС1 из этого организма.

Кинетики восстановления P_{700}^+ на интактных, F_X -core и A_1 -core комплексах ФС1 из *C. reinhardtii* регистрировали методом лазерной абсорбционной спектроскопии с микросекундным временным разрешением на длине волны 820 нм. В качестве восстановителей использовали 10 мМ аскорбат натрия и 5 мкМ 2,6-дихлорфенолиндофенол. В качестве акцептора электрона использовали MV в концентрациях 0.3 мкМ – 30 мМ.

Полученные данные показывают, что скорость рекомбинации зарядов в ФС1 из *C. reinhardtii* в 1.5 – 2 раза выше, чем в комплексах из *S.6803* в интактных (~30 мс vs ~60 мс), F_X -core (~1 мс vs ~1.5 мс) и A_1 -core комплексах (~50/10 мкс vs ~80/10 мкс).

Значения констант равновесия переноса электрона между A_{1A} и F_X , полученные из модели, составили 8 и 7, в *C. reinhardtii* и *S. 6803*, соответственно. Константа равновесия между F_X и $[F_A/F_B]$ равна 104 и 140 для *C. reinhardtii* и *S. 6803*, соответственно. Полученные данные показывают, что разница в наблюдаемых скоростях рекомбинации зарядов с терминальных железо-серных кластеров $[F_A/F_B]$ в ФС1 из *C. reinhardtii* и *S. 6803*, по-видимому, обусловлена преимущественно ускорением в *C. reinhardtii* скорости рекомбинации с филлохинона A_{1A} на P_{700}^+ в ~2 раза.

Работа была поддержана фондом РФ (грант №21-74-10085).

1. Shinkarev et al. Biophys J 83, 2885–2897 (2002)
2. Santabarbara and Zucchelli. Phys Chem Chem Phys 18, 9687–9701 (2016)
3. Makita and Hastings. Biochim Biophys Acta - Bioenerg 1857, 723–733 (2016)
4. Petrova et al., Photosynthesis Research 133, 175–184 (2017)
5. Milanovsky et al., Photosynthesis Research 133, 175–184 (2017)

Разработка и изучение фотофизических свойств конъюгата на основе хлорина еб с нафталимидным красителем

Титова М.*, Притьмов Д., Летова Ю, Грин М.

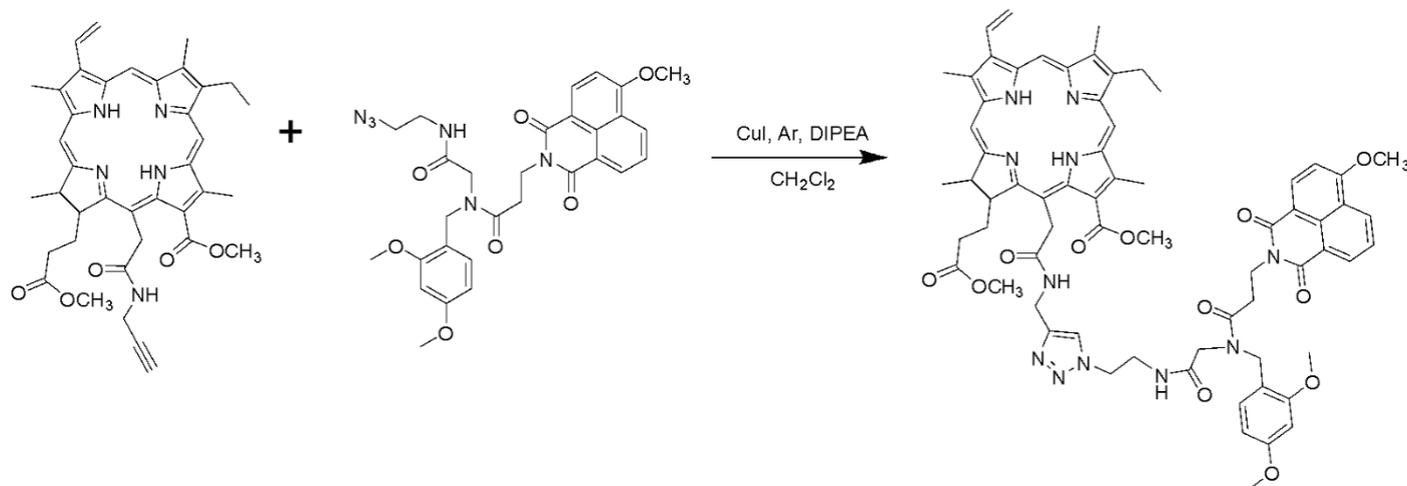
Институт тонких химических технологий, Московский технологический университет

*e-mail: *masha.titova.99@list.ru*, тел. +7 (926) 5925358

Природные хлорофиллы – удивительные соединения, которым находят всё больше практического применения. Благодаря особым свойствам, таким как поглощение и преобразование энергии света, их можно приспособить для солнечных батарей, нанoeлектроники, а также в медицине, при этом структура хлорофилла и хлоринов позволяет осуществлять их модификации по различным положениям макроцикла.

В настоящее время хлорины уже зарекомендовали себя в фотодинамической терапии (ФДТ) как хорошие диагностические препараты и терапевтические агенты против рака кожи, однако необходимо совершенствование препаратов для лечения других типов рака и глубоко залегающих опухолей, вместе с тем предпринимаются попытки получения комбинированных агентов, таких как, например, тераностики – бифункциональные системы, обладающие свойствами как терапевтического, так и диагностирующего агентов.

В нашей лаборатории на основе 15²-производного хлорина методом [3+2] диполярного циклоприсоединения был получен новый конъюгат с нафталимидным красителем и охарактеризован с помощью спектральных методов. Данное соединение представляет интерес в качестве модельной системы как для изучения возможности модификации хлоринов и бактериохлоринов по 15²-положению макроцикла, так и для изучения внутримолекулярного переноса энергии с нафталимида на хлорин. Поскольку в ранних работах на 13¹-бактериохлориновых конъюгатах с использованием короткого спейсера наблюдался почти полный резонансный перенос энергии (FRET) [1] – региоселективная модификация по 15²-положению, а также использование более длинного спейсера должны обеспечить снижение FRET.



Таким образом, варьируя компоненты данной системы, возможно получить и диагностические агенты с улучшенной абсорбцией света и флюоресценцией, и тераностики с отдельной флюоресценцией и терапевтическим действием, осуществляемых при разных длинах волн.

1. P.A. Panchenko; M.A. Grin; O.A. Fedorova et al. Novel Bacteriochlorin–Styrylnaphthalimide Conjugate for Simultaneous Photodynamic Therapy and Fluorescence Imaging // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2017 – Vol. 19 (44) – P. 30195-30206.

Исследование влияния белкового окружения на первичный донор электрона в реакционных центрах пурпурной бактерии *Cereibacter sphaeroides* с тремя аминокислотными замещениями Н(L173)Л+I(L177)Н+F(M197)Н

Третчикова О.*, Васильева Л., Фуфина Т.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
*e-mail: olyatretchikova@yandex.ru, тел. +7 960 509 09 61

Начальные стадии процесса фотосинтеза происходят в фотосинтетических реакционных центрах (РЦ). РЦ пурпурной бактерии *Cereibacter (Cer.) sphaeroides* локализован в клеточной мембране и состоит из трех субъединиц (L, M и H) и десяти кофакторов. Пигмент-белковые взаимодействия димера бактериохлорофилла (БХл) с его белковым окружением определяют многие важные свойства первичного донора электрона, необходимые для обеспечения эффективного разделения заряда в РЦ.

Молекулярно-биологическими и микробиологическими методами был получен штамм *Cer. sphaeroides*, содержащий РЦ с аминокислотными замещениями His на Leu в позиции L173, Leu на His в позиции L177 и Phe на His в позиции M197. Были подобраны условия для выделения и очистки комплекса из мембран. В данной работе были исследованы спектральные, электрохимические и фотохимические свойства, пигментный состав и термостабильность мутантных РЦ.

Показано, что тройная мутация влияет на спектральные свойства РЦ, приводя к полному перекрытию полос Q_YP и Q_YB. Пигментный анализ мутантного РЦ показал, что соотношение БХл:БФео (бактериофеофетин) составляет 1,34, а в РЦ дикого типа оно равно 2. Эти результаты не согласуются со спектрами поглощения и, вероятно, объясняются пониженной стабильностью мутантного РЦ. Первичный донор электрона остается гомодимером БХл [1, 2], однако взаимодействия БХл в специальной паре значительно ослабевают. Такой феномен неизвестен в литературе и представляет интерес для дальнейшего исследования.

Величина редокс-потенциала специальной пары указывает на то, что при замещении Phe-His в позиции M197 гистидин M197 не образует водородной связи с ацетильной группой БХл P_B, вследствие чего повышения термостабильности этого комплекса не происходит [3].

С помощью метода измерения дифференциальных (свет-темнота) спектров поглощения установлено, что мутантные РЦ фотохимически активны. Квантовый выход фотохимического разделения зарядов в РЦ с тройным замещением снижается более чем в 2 раза по сравнению с квантовым выходом в РЦ дикого типа, что позволяет предположить существенные изменения в структуре димера БХл и его взаимодействии с белковым окружением.

1. Fufina T. Y., Vasilieva L. G., Khatypov R. A., Shuvalov V. A. Spectral Properties of the *Rhodobacter Sphaeroides* Mutant Photo Reaction Center with Double Amino Acid Substitution I(L177)H+H(L173)L // Photosynthesis: Research for Food, Fuel and Future—15th International Conference on Photosynthesis, Symposium 02 Type II Reaction Centres. 2013. P. 46–49.

2. Vasilieva L. G., Fufina T. Y., Gabdulkhakov A. G., Leonova M. M., Khatypov R. A., Shuvalov V. A. The site-directed mutation I(L177)H in *Rhodobacter sphaeroides* reaction center affects coordination of P_A and B_B bacteriochlorophylls // Biochim. Biophys. Acta. 2012. V. 1817. P. 1407–1417.

3. Huppman P., Arlt T., Penzkofer H., Schmidt S., Bibikova M., Dohse B., Oesterhelt D., Wachtveit J., Zinth W. Kinetics, Energetics, and Electronic Coupling of the Primary Electron Transfer Reactions in Mutated Reaction Centers of *Blastochloris viridis* // Biophysical Journal. 2002. V. 82. P. 3186–3197.

Свойства мутантных фотосинтетических реакционных центров с замещением Ile M206 на Gln из пурпурной бактерии *Cereibacter sphaeroides*

Фуфина Т.*, Третчикова О., Христин А., Хатыпов Р., Васильева Л.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: tat-fufina@yandex.ru тел. +7 (916) 2203067

В структуре фотосинтетического реакционного центра (РЦ) пурпурной несерной бактерии *Cereibacter (C.) sphaeroides* консервативный аминокислотный остаток Ile M206 расположен вблизи димера бактериохлорофиллов P и мономерного бактериохлорофилла В_A, являющихся первичным донором и ближайшим акцептором электрона, соответственно. Непосредственная близость боковой группы Ile M206 к С2-ацетильной группе бактериохлорофилла Р_B, гидроксильной группе Tyr M210, С9-кетогруппе бактериохлорофилла В_A, а также к молекуле воды вблизи этой группы, позволяет использовать сайт M206 для мутагенеза с целью исследования механизмов первичных фотохимических процессов в РЦ. Ранее в работе Саггу и соавторов [1] показано, что в РЦ близкородственной пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus* внесение аминокислотного замещения Ile-Glu в положение M204 (аналог положения M206 в РЦ *C. sphaeroides*), заметно повлияло на кинетику образования состояния с разделенными зарядами P⁺H_A⁻, а замена Ile M204 на Gln привела к потере БХл В_A из структуры комплекса [2]. В нашей работе показано, что одиночная I(M206)Q и двойная мутация I(M206)Q+F(M208)A в РЦ *C. sphaeroides* не приводят к изменению пигментного состава комплекса и существенно не влияют на редокс-потенциал первичного донора электрона. В то же время замещение Ile M206 на Gln повлияло на положение и амплитуды полос поглощения бактериохлорофиллов РЦ, привело к увеличению времени жизни возбужденного состояния первичного донора электрона P* с 3.1 пс до ~22 пс и снижению квантового выхода образования состояния P⁺Q_A⁻ на ~40%, что указывает на значительные изменения пигмент-белковых взаимодействий в окружении первичного донора и ближайшего акцептора электрона. Также было отмечено снижение устойчивости мутантных РЦ к термальной денатурации, более выраженное для РЦ с двойным замещением I(M206)Q+F(M208)A, и, по-видимому, обусловленное нарушением плотной упаковки белка вблизи бактериохлорофиллов Р_B и В_A. Обсуждаются возможные причины различного влияния одинаковых мутаций на свойства двух высоко гомологичных РЦ из близкородственных пурпурных несерных бактерий.

1. Saggu, M., Carter, B., Zhou, X., Faries, K., Cegelski, L., Holten, D., Boxer, S.G., Kirmaier, C. (2014) Putative hydrogen bond to tyrosine M208 in photosynthetic reaction centers from *Rhodobacter capsulatus* significantly slows primary charge separation. *J. Phys. Chem. B*, 118, 6721–6732, doi: 10.1021/jp503422c.

2. Carter, B., Boxer, S.G., Holten, D., Kirmaier, C. (2012) Photochemistry of a bacterial photosynthetic reaction center missing the initial bacteriochlorophyll electron acceptor. *J. Phys. Chem. B*, 116, 9971–9982, doi: 10.1021/jp305276m.

Кинетическая гетерогенность стимулированного излучения из возбужденного состояния первичного донора электрона в реакционных центрах *Rhodobacter sphaeroides*

Христин А.*, Фуфина Т., Васильева Л., Хатыпов Р.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»

*e-mail: anmaster84@ya.ru

Критерием возбужденного состояния P^* в реакционных центрах (РЦ) служит стимулированное излучение, которое проявляется в дифференциальных спектрах поглощения в виде отрицательного поглощения. Ранее было показано, что стимулированное излучение из возбужденного состояния P^* спектрально гетерогенно [1]. В начальные моменты времени стимулированное излучение локализовано в максимуме поглощения P при 870 нм. Затем, за времена порядка десятков фемтосекунд стимулированное излучение смещается в длинноволновую область до 915 нм. Одновременно появляется стимулированное излучение в области 940 нм, возникающее в виде длинноволнового плеча в дифференциальных спектрах поглощения. В то же время, в кинетике изменений поглощения, ΔA , измеренной как при 870 нм, так и при 915 нм и 940 нм, доминирует кинетический компонент с временем жизни ~ 3 пс, и это позволило заключить, что именно с этой константой времени возбужденный первичный донор отдает электрон в активную цепь кофакторов и переходит в катион-радикальное состояние.

В данной работе с целью выяснения фемтосекундной динамики стимулированного излучения была исследована кинетика отрицательных полос с максимумами при 870, 915 и 940 нм в РЦ *Rhodobacter sphaeroides* с использованием метода интервалов и наведенной положительной дисперсии света в зондирующем импульсе. Показано, что стимулированное излучение из возбужденного состояния проявляет кинетическую гетерогенность: 1) стимулированное излучение, локализованное в максимуме полосы поглощения первичного донора электрона при 870 нм, затухает за времена порядка десятков фемтосекунд; 2) стимулированное излучение с максимумом при 915 нм возникает с задержкой в несколько десятков фемтосекунд и затухает экспоненциально с константой времени ~ 3 пс; 3) кинетика полосы стимулированного излучения при 940 нм модулирована во времени и проявляется в виде затухающих осцилляций, и эта кинетика не содержит постоянного пикосекундного компонента.

Полученные в работе результаты позволяют заключить, что возбужденный первичный донор электрона проявляет спектральную и кинетическую гетерогенность. Эта гетерогенность отражает процессы, протекающие в возбужденном первичном доноре, в частности, образование состояния с переносом заряда $P_A^+P_B^-$. По-видимому, именно эти сверхбыстрые процессы обеспечивают предельно высокий квантовый выход начальных стадий разделения зарядов в РЦ.

1. A. G. Yakovlev V A. Shuvalov. Spectral exhibition of electron-vibrational relaxation in P^* state of *Rhodobacter sphaeroides* reaction centers. *Photosynth Res.*, 125,9-22, 2015

Секция «Окисление воды, транспорт электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи и сопряженные процессы, альтернативные пути переноса электронов»

Влияние узкополосного синего и красного света на способность фотосистем ячменя к тепловой диссипации энергии света

Аверчева О.*, Прохоров И., Жигалова Т., Кочетова Г., Бассарская Е.

Кафедра физиологии растений, Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,

*e-mail: olga.avercheva@gmail.com, тел. +7 (916) 1383830

Спектральный состав света оказывает существенное регуляторное влияние на функционирование фотосинтетического аппарата (ФСА), в том числе на активность световых реакций фотосинтеза [1]. Мы исследовали параметры работы фотосистем I (ФС I) и II (ФС II), измеренные на флуориметре Dual-PAM-100 [2], у 9-дневных проростков ячменя (*Hordeum vulgare* L.), выращенных на узкополосном красном (КС) и синем (СС) свете (максимумы испускания светодиодов 660 и 450 нм, соответственно). Контролем служили растения, выращенные при освещении белыми люминесцентными лампами (БС).

У растений, выращенных на КС, эффективный квантовый выход ФС II ($Y(II)$) был снижен по сравнению с контролем за счет повышения нерегулируемой диссипации энергии ($Y(NO)$). У них также по сравнению с контролем работа ФС I была сильнее лимитирована с донорной стороны (повышен параметр $Y(ND)$), что говорит о менее эффективной передаче электронов между фотосистемами. У растений, выращенных на СС, параметр $Y(II)$ не отличался от контроля. При этом квантовый выход нефотохимического тушения $Y(NPQ)$ был выше, а параметр $Y(NO)$ – ниже, чем на БС. Это указывает на более эффективную работу фотозащитных механизмов у этих растений. ФС I у СС-растений была в меньшей степени лимитирована с акцепторной стороны, чем в контроле (ниже параметр $Y(NA)$), что указывает на более эффективное восстановление акцепторов электронов ФС I и, вероятно, более активную работу углеродных циклов.

Работа была поддержана грантом РФФИ №14-04-31823.

1. Landi, M., Zivcak, M., Sytar, O., Brestic, M., & Allakhverdiev, S. I. (2020). Plasticity of photosynthetic processes and the accumulation of secondary metabolites in plants in response to monochromatic light environments: A review. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1861(2), 148131. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.148131>
2. Pfündel, E., Klughammer, C., & Schreiber, U. (2008). Monitoring the effects of reduced PS II antenna size on quantum yields of photosystems I and II using the Dual-PAM-100 measuring system. *PAM Application Notes*, 1, 21–24.

Новые представления о реакции Мелера – альтернативном пути переноса электронов на кислород в хлоропластах

Борисова-Мубаракшина М.*, Ветошкина Д., Козулева М., Найдов И., Иванов Б.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: borisovamm@pbcras.ru, тел. +7 (496) 7732714

В ходе фотосинтеза происходит не только выделение молекулярного кислорода (O_2), но и поглощение O_2 за счет восстановления молекул O_2 (реакция Мелера) некоторыми переносчиками фотосинтетической электрон-транспортной цепи, расположенной в тилакоидных мембранах хлоропластов. Перенос электронов на молекулярный кислород представляется собой альтернативный транспорт электронов, в результате которого происходит образование активных форм кислорода (АФК), таких как супероксидный анион-радикал и пероксид водорода (H_2O_2).

Известно, что в хлоропластах H_2O_2 образуется в строме в реакции диспропорционирования супероксидных анион-радикалов, образованных компонентами фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Нами показано, что существует дополнительный, отличный от диспропорционирования, путь образования H_2O_2 с участием компонентов ПХ пула, а именно реакции на поверхности тилакоидной мембраны молекул пластогидрохинона и супероксидного анион-радикала; такой H_2O_2 был нами назван мембранным [1, 2]. Обсуждается роль такого H_2O_2 в метаболизме высших растений.

1. Vetoshkina DV et al. (2017) Involvement of the chloroplast plastoquinone pool in the Mehler reaction. *Physiol Plant* 161 (1), 45–55.

2. Borisova-Mubarakshina MM et al. (2018) Oxidation of the plastoquinone pool in chloroplast thylakoid membranes by superoxide anion radicals. *FEBS Letters* 592 (19), 3221–3228

Двухфазная кинетика окисления пула пластохинона в темноте: роль пероксида водорода

Вильянен Д.*, Найдов И., Козулева М., Иванов Б., Борисова-Мубаракшина М.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: vilyadar@gmail.com, тел: +7 (914) 9532170

Пластохинон – мобильный мембранный переносчик электронов в фотосинтетической электрон-транспортной цепи, на свету восстанавливающийся компонентами фотосистемы 2 и окисляющийся в хинол-окисляющем сайте цитохромного b_6f комплекса. Однако также восстановленный пластохинон, пластогидрохинон, может окисляться вследствие реакций с активными формами кислорода (АФК), образующимися в процессе работы электрон-транспортной цепи вследствие реакции Мелера. На свету доля АФК-зависимого окисления пула пластохинона невелика, но она может увеличиваться в условиях, приводящих к повышенной генерации АФК. Исследование АФК-зависимого окисления пула пластохинона на свету затруднено, однако в темноте, когда электронный транспорт прекращается и его окисление осуществляется по кислород-зависимому механизму, это становится возможным. Известно, что в темноте кинетика окисления пула пластохинона имеет двухфазный характер, причем окисление происходит только в аэробных условиях. Изучение окисления пула пластохинона кислородом и АФК в темноте может не только помочь раскрыть механизмы темнового окисления, но также позволит понять процессы АФК-зависимого окисления пула пластохинона на свету.

В данном исследовании использовали изолированные тилакоиды шпината обыкновенного и гороха посевного. Для регистрации кинетики окисления пула пластохинона в темноте использовали ОЖР-тест, основанный на измерении флуоресценции хлорофилла *a*. Суспензию тилакоидов освещали в течение варьированного времени (5 или 30 с) красным светом интенсивностью 600 мкмоль квантов/м²с для полного восстановления пула пластохинона и генерации АФК, преимущественно супероксидного анион-радикала и пероксида водорода, после чего выдерживали в темноте 0,1-60 с и подавали измерительную вспышку света высокой интенсивности (3000 мкмоль квантов/м²с). Редокс-состояние пула пластохинона в темноте оценивали по расчетному параметру ОЖР-теста: *A*_{area} (площадь над кривой флуоресценции). Затем строили зависимости этого параметра от времени выдерживания тилакоидов в темноте; полученные кинетики окисления пула пластохинона подвергали математическому анализу – лучше всего кривые аппроксимировались двухэкспоненциальной функцией.

Разработанный нами подход позволил охарактеризовать две фазы окисления пула пластохинона в темноте: «быструю» (до 1 с) и «медленную» (до нескольких минут). Мы показали, что увеличение длительности предосвещения суспензии тилакоидов приводит к ускорению окисления пула пластохинона в темноте, причем наибольший эффект проявлялся на «медленной» фазе. Внесение каталазы (фермента, катализирующего разложение пероксида водорода на кислород и воду) нивелировало этот эффект, в то время как внесение в среду супероксиддисмутазы (фермента, катализирующего дисмутацию супероксидных анион-радикалов) не оказало действия на кинетику окисления пула пластохинона. Внесение экзогенного пероксида водорода привело к ускорению обеих кинетических фаз, и в особенности «медленной» фазы. Мы предположили, что «медленная» фаза кинетики окисления пула пластохинона соответствует его реакции с пероксидом водорода, накопившимся на свету в процессе работы электрон-транспортной цепи.

Данная работа поддержана РНФ (грант № 22-24-01074).

Влияние экзогенного цитохрома *c* на кинетику генерации разности электрических потенциалов в ядерных комплексах фотосистемы 2.

Витухновская Л.^{1,2*}, Семенов А.^{1,2}, Мамедов М.¹

¹НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;

²Институт химической физики РАН имени Н.Н. Семенова

*e-mail: vitlia@yahoo.com

Комплекс фотосистема 2 (ФС2) катализирует светозависимое окисление молекулы воды и восстановление пластохинона в окисленных фотосинтезирующих организмах. Изучено влияние экзогенного цитохрома *c* (цит *c*) на кинетику фотоэлектрических ответов ($\Delta\Psi$) в интактных и марганец-лишенных ядерных комплексах ФС2 прямым электрометрическим методом. Показано, что в присутствии окисленного цит *c*, локализованного во внутреннем пространстве протеолипосом, содержащих интактные ФС2, помимо быстрой неразрешимой электрогенной фазы в кинетике фотоответа наблюдалась дополнительная электрогенная компонента с $\tau \approx 40$ мкс и амплитудой $\sim 10\%$ от суммарной $\Delta\Psi$. Эта дополнительная фаза была обусловлена векторным переносом электрона от Q_A^- к окисленному цит *c*. При добавлении восстановленного цит *c* к суспензии протеолипосом, содержащих Mn-лишенные ядерные комплексы ФС2, в кинетике образования $\Delta\Psi$ также появлялась дополнительная электрогенная компонента с $\tau \approx 70$ мкс и амплитудой $\sim 20\%$ от суммарной $\Delta\Psi$. Данная компонента была приписана электрогенному переносу электрона от восстановленного цит *c* на фотоокисленный тирозин Y_Z. Полученные результаты могут быть использованы при конструировании гибридных фотоэлектрохимических систем преобразования солнечной энергии на основе фотосинтетических пигмент-белковых комплексов.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ в рамках государственного задания «Химико-физические механизмы взаимодействия интенсивного лазерного излучения с биологическими системами» (АААА-А19-119012990175-9).

Как свет и протоны тилакоидного люмена влияют на работу цитохромного b_6f комплекса высших растений

Козулева М.^{1*}, Вильянен Д.¹, Павлов И.^{1,2}, Иванов Б.¹, Борисова-Мубаракшина М.¹

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

²Биотехнологический факультет Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова
*e-mail: kozuleva@gmail.com, тел. +7 (4967) 732448

Цитохромные b_6f -комплексы являются одним из ключевых компонентов энергопреобразующих мембран эукариот: окисляя хинолы, b_6f -комплексы не только участвуют в переносе электронов, но и вносят вклад в создание трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода, которая используется для синтеза АТФ. Цитохромный b_6f -комплекс дыхательной электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий и цитохромный b_6f -комплекс фотосинтетической ЭТЦ хлоропластов, хотя и представлены общим планом строения и функционирования, имеют ряд структурно-функциональных отличий, в том числе на уровне хинол-окисляющего сайта (Q_o -сайта): 1) b_6f -комплекс характеризуется наличием уникальных для цитохромных комплексов кофакторов – пигментных молекул хлорофилла a и бета-каротина; 2) эффективность окисления пластохинола в b_6f -комплексе *in vivo* падает при понижении концентрации протонов в люмене тилакоидов, вызванном условиями повышенной освещенности; 3) от работы Q_o -сайта b_6f -комплекса зависит активация (механизм активации все еще до конца не расшифрован) STN7 киназы, субстратом которой являются белки светособирающей антенны фотосистемы 2; 4) субстраты для b_6f -комплекса поставляют активируемые светом фотосистема 2 и фотосистема 1. Таким образом, можно предположить, что условия освещения в значительной степени определяют функционирование цитохромного b_6f -комплекса в тилакоидных мембранах.

В работе использовали выделенные функционально активные тилакоиды из шпината, арабидопсиса. Исследовали влияние конкурентных ингибиторов окисления пластохинола в Q_o -сайте цитохромного b_6f -комплекса, динитрофенилового эфира йодонитротимола (ДНФ-ИНТ) и дибромотимохинона (ДБТХ), на скорость электронного транспорта в тилакоидах, которую оценивали либо как светоиндуцированное поглощение O_2 в суспензии тилакоидов в присутствии эффективного акцептора электронов, метилвиологена (МВ), или как стимулирование фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла a при добавке МВ к суспензии тилакоидов при освещении. При этом варьировали концентрации ингибиторов, интенсивность света, величину рН среды реакции, наличие каналаобразователя грамицидина D, выравнивающего концентрации протонов по обе стороны тилакоидной мембраны.,

Обнаружено, что ингибирующее действие и ДНФ-ИНТ, и ДБТХ улучшается с увеличением интенсивности света; однако варьирование наличия грамицидина D, а также уменьшение величины рН среды реакции оказывают противоположный эффект на их ингибиторное действие. Более того, при изменении закисления люмена тилакоидов и интенсивности света происходит изменение типа конкурентного торможения для ДНФ-ИНТ, что говорит о возможных вызванных изменениями в условиях освещения модификациях архитектуры Q_o -сайта, влияющих на связывание ингибитора с ключевыми аминокислотными остатками, участвующими в связывании и/или преобразовании субстрата (пластохинола). Изменение типа конкурентного торможения наблюдали и в тилакоидах из растений арабидопсиса с выключенным геном, кодирующим STN7 киназу, что позволяет исключить активацию STN7 киназы в качестве возможного объяснения светозависимого изменения сродства Q_o -сайта к ДНФ-ИНТ. Вероятным объяснением остается изменение положения молекулы хлорофилла a .

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант №22-24-01074).

Специфичность взаимодействия лантаноидов с Mn-связывающими участками фотосистемы 2 без кислород-выделяющего комплекса

Ловягина Е.*, Лунева О., Локтюшкин А., Семин Б.

Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

*e-mail: Elena.Lovyagina@gmail.com

Методом ЭПР-спектроскопии исследовано взаимодействие катионов лантаноидов (лантана и тербия) с донорной стороной мембранных препаратов фотосистемы 2 без кластера Mn_4CaO_5 и периферических белков – ФС2(-Mn). Ранее результаты, полученные нашей группой, позволили предположить, что в отсутствие кислород-выделяющего комплекса лантаноиды связываются не с Ca-связывающим участком, как в нативной ФС2, а с высокоаффинным Mn-связывающим участком [1]. В настоящей работе мы регистрировали шестикомпонентный ЭПР спектр свободных катионов Mn^{2+} при добавлении их к ФС2(-Mn) в темноте и его исчезновение при включении насыщающего света за счет фотоокисления и связывания катионов Mn с высокоаффинным участком на донорной стороне ФС2(-Mn) [2]. Такой подход позволил нам напрямую установить, заполняют ли катионы La^{3+} и Tb^{3+} высокоаффинный Mn-связывающий участок после инкубации с ФС2(-Mn). Мы обнаружили, что предварительная инкубация препаратов ФС2(-Mn) с катионами лантаноидов в темноте с последующим их удалением из среды с помощью центрифугирования приводит к сохранению ЭПР спектра добавленных катионов Mn^{2+} во время освещения препаратов. Этот результат может быть интерпретирован, как недоступность участков высокого сродства на донорной стороне ФС2(-Mn) для экзогенных катионов Mn^{2+} . Мы проверили, является ли эта недоступность следствием прямого связывания La^{3+} и Tb^{3+} с высокоаффинным Mn-связывающим участком или эти катионы все же связываются с соседним Ca-связывающим участком и за счет этого пространственно экранируют участок высокого сродства от экзогенного Mn^{2+} . Для этого мы встроили экзогенные катионы Ca^{2+} в ФС2(-Mn), заполнив таким образом Ca-связывающий участок, и измерили ЭПР спектр полученных препаратов с добавленными катионами Mn^{2+} в темноте и на свету. При включении света мы зарегистрировали практически полное исчезновение характерного шестиполосного сигнала свободных катионов Mn^{2+} . Это свидетельствует о том, что при заполнении Ca-связывающего участка пространственная конфигурация донорной стороны препаратов ФС2(-Mn) не изменяется настолько, чтобы блокировать доступ катионов Mn^{2+} к высокоаффинному Mn-связывающему участку. Полученные данные подтверждают, что при отсутствии кислород-выделяющего комплекса трехвалентные ионы лантаноидов связываются с высокоаффинным Mn-связывающим участком на донорной стороне ФС2.

Исследование выполнено в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500058-7.

1. *Lovyagina E.R., Loktyushkin A.V., Semin B.K.* Effective binding of Tb^{3+} and La^{3+} cations on the donor side of Mn-depleted photosystem II // *J. Biol. Inorg. Chem.* 2021. Vol. 26. N 1. P. 1–11.

2. *Semin B.K., Podkovirina T.E., Davletshina L.N., Timofeev K.N., Ivanov I.I., Rubin A.B.* The extrinsic PsbO protein modulates the oxidation/reduction rate of the exogenous Mn cation at the high-affinity Mn-binding site of Mn-depleted PSII membranes // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2015. Vol. 47. P. 361–367.

Эволюционные изменения механизмов белок-белковых взаимодействий при формировании комплексов пластоцианина и цитохрома c_6 с цитохромом f

Федоров В., Коваленко И.*, Хрущев С., Ризниченко Г., Рубин А.

Кафедра биофизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

*e-mail: ikovalenko78@gmail.com, тел. +7 (495) 9390289

Мобильный белок пластоцианин взаимодействует со своими редокс-партнерами, перенося электроны от цитохромного bf комплекса к фотосистеме 1 в фотосинтетической электрон-транспортной цепи. В условиях дефицита меди у некоторых цианобактерий и зеленых водорослей пластоцианин не может быть синтезирован в достаточном количестве, и его роль по переносу электронов берет на себя белок цитохром c_6 . Данное исследование направлено на выявление различий молекулярных механизмов формирования комплекса пластоцианина и цитохрома c_6 с цитохромом f .

В работе показано, что формирование комплекса исследуемых белков зеленой водоросли *S. reinhardtii* происходит схожим образом, при этом первым этапом является образование электростатического контакта между отрицательно заряженными областями пластоцианина (D43E44D45D54) или цитохрома c_6 (E69E70E71) с положительно заряженной областью малого домена цитохрома f (K188K189). В дальнейшем происходит поворот вокруг этого электростатического контакта и сближение кофакторов белков одновременно с формированием электростатических и гидрофобных контактов с большим доменом цитохрома f , способствующих стабилизации финального комплекса.

Формирование комплексов пластоцианина и цитохрома f цианобактерии *Nostoc*, в отличие от зеленой водоросли и высших растений [1], не сопряжено с формированием электростатического «шарнирного» контакта. Электростатические взаимодействия приводят к сближению кофакторов уже на стадии диффузионно-столкновительного комплекса. При замене пластоцианина на цитохром c_6 электростатическая связь образовывалась между заряженной отрицательно петлей малого домена цитохрома f (E189D190D64) и положительно заряженной областью цитохрома c_6 (K22K32K86). Однако образование финального комплекса для данной пары молекул сопряжено с разрывом этой электростатической связи в процессе сближения кофакторов и формированием гидрофобных контактов с большим доменом цитохрома f .

Образование комплекса белков пластоцианина и цитохрома c_6 с цитохромом f в цианобактерии *Phormidium laminosum* вообще не сопряжено с электростатической преориентацией молекул.

Работа была поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук МК-2931.2022.1.4.

1. V. A. Fedorov, I. B. Kovalenko, S. S. Khruschev et al. Comparative analysis of plastocyanin-cytochrome f complex formation in higher plants, green algae and cyanobacteria // *Physiologia Plantarum*. — 2019. — V. 166, no. 1. — P. 320-335.

Взаимодействие растворимого и иммобилизованного марганец-стабилизирующего белка PsbO с ионами Mn^{2+} и изолированным комплексом D1-D2-cyt.*b*₅₅₉ реакционного центра ФС II

Христин М.*, Смолова Т.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: khristin_@rambler.ru

Исследовали взаимодействие водорастворимого и иммобилизованного на BrCN активированной агарозе марганец-стабилизирующего белка PsbO с катионами Mn^{2+} и препаратами реакционного центра D1-D2- cyt *b*₅₅₉ (РЦ). Методом электрофореза в нативных условиях установлено образование димера и агрегированной формы белка PsbO при добавлении ионов Mn^{2+} , Mg^{2+} и Fe^{2+} . Впервые показана СОД активность белка в ПААГ после электрофореза при инкубации геля в растворе, содержащем катионы Mn^{3+} , проявление тетразолий - редуктазной активности при электрофорезе белка в смеси с препаратами кислород-выделяющего комплекса (КВК), а также влияние Mn^{2+} на взаимодействие иммобилизованного белка с РЦ. Димеризация PsbO наблюдалась при облучении УФ светом препаратов белка и мембран ФСII, содержащих PsbO. При этом PsbO приобретал способность восстанавливать окисленный цитохром с-550, вероятно, в результате восстановленной дисульфидной связи и радикала тирозина. Облучение УФ светом в присутствии O^2 восстанавливает тирозины белка с образованием его радикалов, которые могут участвовать в редокс-реакциях. Предполагается, что восстановление дисульфидной связи белка PsbO при облучении УФ светом по аналогии с облученным α -лактоальбумином [1] в хлоропластах может быть обратимым с участием окислительных процессов и тиоредоксина.

Планируется продолжить исследование с измерением фотохимической активности реконструированной системы с использованием иммобилизованного белка PsbO, ионов Mn и препаратов РЦ.

С участием аминокислот белка PsbO в образовании протон проводящих мостиков между атомами Mn, КВК и P680 [2], а также участия тирозина -9 белка PsbO в редокс-реакциях[3], предлагается схема взаимодействия иммобилизованного белка с ионами Mn и РЦ.

1. *Permyakov E. A., Permyakov S. E., Deikus G. Y., Morozova-Roche L. A., Grishchenko V. M., Kalinichenko L. P., Uversky V. N.* Ultraviolet Illumination-induced Reduction of α -Lactalbumin Disulfide Bridges // *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*. 2003. V. 51. P.498.

2. *Gerland L., Friedrich D., Hopf L., Donovan E. J., Wallmann A., Erdmann N., Diehl A., Bommer M., Buzar K., Ibrahim M., Schmieder P., Dobbek H., Zouni A., Bondar A.-N., Dau H., Oschkinat H.* pH-Dependent Protonation of Surface Carboxylates in PsbO Enables Local Buffering and Triggers Structural Changes *ChemBioChem* 10.1002/cbic.201900739

3. *Takahashi M., Shigeto J., Sakamoto A., Morikawa H.* Selective nitration of PsbO1, PsbO2, and PsbP1 decreases PSII oxygen evolution and photochemical efficiency in intact leaves of Arabidopsis // *Plant signaling & behavior*. 2017. V. 12. e1376157 <https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1376157>

Взаимосвязь внутренней карбоангидразной активности и влияния бикарбоната на фотосинтетическое окисление воды в Фотосистеме 2 высших растений как основа эффективности функционирования данного пигмент-белково-липидного комплекса

Шитов А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
e-mail: aleksshitow@rambler.ru, тел. +7 (916) 3617197

Фотосистема 2 (ФС-2) — это уникальный пигмент-белково-липидный комплекс тилакоидных мембран цианобактерий, хлоропластов растений и водорослей, способный под действием света окислять воду, являясь единственным источником электронов для цепи их переноса в тилакоидах. Результатом этого переноса является преобразование и запасание энергии, которая затем используется для синтеза углеводов и других соединений. Таким образом, эффективность функционирования ФС-2 фактически определяет продуктивность растений.

Было убедительно показано, что наличие ионов бикарбоната значительно влияет на эффективность функционирования ФС-2 (т.н. «бикарбонатный эффект»). Кроме того, в ряде недавних работ было доказано, что карбоангидразная (КА) активность (катализ обратимых преобразований $\text{CO}_2 \leftrightarrow \text{HCO}_3^-$) также важна для обеспечения максимальной фотосинтетической активности ФС-2. Однако, было неясно, как именно взаимосвязаны эти эффекты и где именно они происходят в ФС-2.

Ранее высказывались предположения, что КА активность в ФС-2 может быть ассоциирована как с низкомолекулярными белками - т.н. «внешняя» КА активность, так и с ядром ФС-2 («коровым» комплексом) - т.н. «внутренняя» КА активность. Ряд результатов (по влиянию сульфаниламидов на КА и фотосинтетическую активности, по анализу КА активности разных компонентов ФС-2) указывают, что именно внутренняя КА-активность связана с проявлением бикарбонатного эффекта и ускорение КА реакций происходит на донорной стороне ФС-2. Таким образом, место соприкосновения карбоангидразной и фотосинтетической активностей следует искать в глубине мембранной части ФС-2 на донорной стороне. Однако, на чём основана эта взаимосвязь?

Известно, что ингибирование фотосинтетического переноса электрона в ФС-2, под действием сульфаниламидных ингибиторов карбоангидраз, снимается добавлением ионов бикарбоната. Кроме того, ранее были получены свидетельства, что бикарбонат может участвовать в отводе протонов от центра окисления воды в ФС-2, препятствуя его закислению, которое негативно сказывается на эффективности ФС-2. Следовательно, взаимосвязь КА и фотосинтетической активностей может быть реализована через ионы бикарбоната. В подтверждение этого, коллегами было обнаружено образование CO_2 (продукт дегидратазной реакции $\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$) наряду с O_2 в процессе фотосинтетического окисления воды. Однако, регистрировавшаяся скорость образования CO_2 была гораздо ниже скорости образования O_2 . Напротив, в нашей работе выявлена в 2 раза большая, по сравнению с фотосинтетическим выделением кислорода, скорость дегидратазной реакции в ФС-2. Таким образом, экспериментально доказано, что высокую скорость фотосинтетического окисления воды поддерживает катализ (КА-активность) отведения протонов из ФС-2, при этом «поглотителем» протонов являются ионы бикарбоната.

Регуляция фотосистемы 2 при недостатке минерального питания

Цыганков А.*, Гречаник В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
*e-mail: ttt-00@mail.ru

Совместное действие таких стрессовых факторов как недостаток минерального питания и аноксии хорошо изучено на фотогетеротрофных культурах *Chlamydomonas reinhardtii*. Показано, что при недостатке серы, азота или фосфора культуры последовательно проходят несколько стадий адаптации. Начиная со стадии поглощения кислорода активность фотосистем II (ФСII) снижается, причем с наибольшей скоростью это происходит при недостатке серы. Когда скорость фотосинтеза становится ниже скорости дыхания, содержание кислорода в среде становится равным нулю, после чего начинается выделение водорода.

Важным отличием фотоавтотрофных от фотогетеротрофных культур является повышенная скорость фотосинтеза и меньшая скорость дыхания. Фотоавтотрофные культуры при недостатке серы способны к выделению водорода, хотя для этого требуется использование специального светового режима (высокая интенсивность света в кислородвыделяющей стадии и низкая в фазе поглощения кислорода). Мы провели анализ особенностей ФСII с использованием JIP теста у этих культур, а также у культур, адаптирующихся к недостатку азота.

Существует несколько предположений, почему происходит падение активности ФСII у фотогетеротрофных культур. В ранних наблюдениях было отмечено, что содержание D1 белка резко снижалось, и это считалось основной причиной падения активности ФСII. Отмечено также, что в момент наступления анаэробноза пул пластохинонов переходит в перевосстановленное состояние, что приводит к повышению количества «закрытых» реакционных центров. В других наблюдениях обнаружено, что в анаэробных условиях происходит резкое возрастание аскорбата внутри клеток. Это приводит к разобщению водоокисляющего комплекса и ФСII, что в итоге завершается деградацией ФСII. Эти данные подтверждаются изучением JIP тестов. Таким образом, существует кажущееся противоречие в выявленных механизмах регуляции ФСII.

В данной работе на основе литературных и собственных данных делается вывод, что фотоавтотрофные культуры, голодающие по сере или азоту, могут проявлять разные механизмы отклика на недостаток питания: отсутствие падения активности ФСII; падение активности ФСII за счет перевосстановления пула пластохинонов или за счет разобщения водоокисляющего комплекса и ФСII. Высказывается предположение, что реакция фотоавтотрофных культур переменна и зависит от внешних факторов. Среди них наиболее важными являются интенсивность света, к которой адаптированы культуры; интенсивность света при адаптации к недостатку элемента питания; разница скоростей фотосинтеза и дыхания в момент наступления анаэробноза; pH и температура выращивания. Обсуждаются предположительные эксперименты, которые позволят выявить наиболее важные факторы внешней среды, определяющие вид отклика культур на недостаток элементов питания.

Работа поддержана грантом РФФИ №19-14-00255-П.

Секция «Транспорт и фиксация неорганического углерода фотоавтотрофами»

Участие альфа-карбоангидразы 2 в регуляции содержания протонов в хлоропластах *Arabidopsis thaliana* при освещении

Надеева Е.*, Игнатова Л., Руденко Н., Ветошкина Д., Козулева М., Иванов Б.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: zhurikova-alena@yandex.ru

Карбоангидраза (КА) представляет собой цинксодержащий фермент, который катализирует обратимую гидратацию углекислого газа $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. Функции многих КА растительной клетки до сих пор неясны. В тилакоидной мембране была обнаружена альфа-КА4 [1]. На основании того, что многие параметры фотосинтеза мутантов с нокаутом альфа-КА4 противоположно отличались от параметров мутантов с нокаутом альфа-КА2 [2], мы сделали вывод о том, что последняя может также располагаться в тилакоидной мембране. Наша работа посвящена определению функции и местоположения альфа-КА2 в растительной клетке.

Эксперименты проводили на растениях *A. thaliana* дикого типа (ДТ) и мутантных растениях с нокаутированным геном *At2g28210*, кодирующим альфа-КА2 (две гомозиготные линии 9-11 и 8-3). Растения выращивали с 8-часовым фотопериодом при интенсивности света 50 мкмоль квантов/м²с и концентрации CO₂ 400 ppm.

Для оценки эффективности функционирования фотосинтетической электрон-транспортной цепи растений, мутантных по альфа-КА2, на 7-ой минуте действия света высокой интенсивности (530 мкмоль квантов м²/с) с помощью Dual-PAM были измерены параметры флуоресценции хлорофилла *a* неотделенных листьев и окислительно-восстановительное состояние P700 в сравнении этих параметров с параметрами растений ДТ. Эффективный квантовый выход ФС2 (YII) и ФС1 (YI) были на 10-15% выше, чем у ДТ.

Измерение параметров ОЖР кинетики показало, что параметр Sm, характеризующий емкость пула пластохинона, у мутанта был выше на 15-20%, чем у ДТ. Параметр delta(R_o) отражающий вероятность, с которой электрон от переносчиков между двумя фотосистемами восстанавливает крайние акцепторы электрона на акцепторной стороне ФС1, у мутанта был выше, чем у ДТ на 10-16%. Параметр Pi total, показатель функциональной активности ФС 2, ФС 1 и цепи переноса электронов между ними, был у мутанта на 13-16% выше, чем у ДТ.

Отсутствие альфа-КА2 влияет на уровень сигнала электрохромного сдвига полосы поглощения β-каротина. В мутанте трансмембранная разность концентраций протонов, ΔpH, была ниже, чем в ДТ, тогда как скорость утечки протонов из люмена в строму в темноте, которую оценивали через 20 секунд после выключения света, когда АТФ-аза уже инактивирована и не обеспечивает перекачку протонов, в мутанте была выше, чем в ДТ.

Отсутствие альфа-КА2 увеличивает проводимость тилакоидной мембраны для протонов, которые неконтролируемо выходят из люмена в строму, тем самым увеличивая скорость электронного транспорта. Мы предположили, что альфа-КА2 может быть связана с антипортером, например, K⁺/H⁺, на его стромальной стороне, тем самым контролируя скорость выхода протонов из люмена в строму.

1. Friso, G., Giacomelli, L., Ytterberg, A. J., Peltier, J. B., Rudella, A., Sun, Q., and van Wijk, K. J. (2004). In-depth analysis of the thylakoid membrane proteome of *Arabidopsis thaliana* chloroplasts: new proteins, new functions, and a plastid proteome database. *The Plant Cell*, 16(2), 478-499.
2. Zhurikova, E. M., Ignatova, L. K., Rudenko, N. N., Mudrik, V. A., Vetoshkina, D. V., & Ivanov, B. N. (2016). Participation of two carbonic anhydrases of the alpha family in photosynthetic reactions in *Arabidopsis thaliana*. *Biochemistry (Moscow)*, 81(10), 1182-1187.

Карбоангидраза гранальных тилакоидов *Arabidopsis thaliana***Маркин Р.*, Козулева М., Иванов Б., Федорчук Т.**

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»
*e-mail: Romanmarkin998@gmail.com

Продукты реакции обратимой гидратации углекислого газа – CO₂, бикарбонат, протоны – участвуют в функционировании фотосинтетического аппарата хлоропластов. *In vivo* эту реакцию катализируют карбоангидразы (КА), и расположение в хлоропластах *Arabidopsis thaliana* установлено для шести КА. В гранальных тилакоидах *A. thaliana* выявляют как минимум два носителя карбоангидразной активности: низкомолекулярную КА, активную в нативных и денатурирующих условиях проведения электрофореза, предположительно α -КА4, и неустановленный источник КА активности, расположенный в области высокомолекулярных белков после проведения нативного электрофореза. До недавнего времени не было уверенности о том, какова природа этого неустановленного источника КА активности, является ли он отдельным белком или белковым конгломератом. Его функция также остается неизвестной.

В ходе данной работы были подобраны условия получения мембран гранальных тилакоидов, содержащих только источник КА активности, расположенный в области высокомолекулярных белков после проведения нативного электрофореза. В денатурирующих условиях КА активность не выявилась, что свидетельствует об отсутствии в исследуемых мембранах низкомолекулярной КА. Белки гранальных тилакоидов солибилизировали и очищали с помощью аффинной хроматографии на колонке с иммобилизованным мафенидом в качестве специфического лиганда КА. В полученном препарате после проведения нативного электрофореза выявили белковую полосу, обладающую КА активностью. В денатурирующих условиях также обнаружили одну белковую полосу, из чего следует, что выявленная ранее КА активность принадлежит отдельному белку.

Одна из предполагаемых функций данной КА может быть связана с функционированием фотосистемы 2 (ФС2), также расположенной в гранальных тилакоидах. Связывание бикарбоната на акцепторной стороне ФС2 уменьшает редокс-потенциал Q_A, что приводит к ускорению переноса электрона от Q_A к Q_B. Формиат натрия способен замещать бикарбонат, снижая скорость переноса электронов на этом участке. Для оценки функционирования ФС2 анализировали ОЖР кривые флуоресценции хлорофилла *a* контрольных и обработанных формиатом тилакоидов *A. thaliana* дикого типа и мутантных растений с нокаутированными генами, кодирующими α -КА2 или α -КА4. В работе сравнивали углы наклона ОЖР кривых на участке OJ, который отражает перенос электронов к Q_A. В выделенных из всех генотипов контрольных тилакоидах угол наклона не изменялся в диапазоне величин pH среды реакции 6,5-7,8. В обработанных формиатом тилакоидах из дикого типа и мутанта с нокаутированным геном, кодирующим α -КА4, угол наклона OJ уменьшался с увеличением pH, что вероятно отражает увеличение скорости переноса электрона вследствие замещения формиата на бикарбонат, концентрация которого растет при повышении pH среды реакции. В обработанных формиатом тилакоидах без α -КА2 угол наклона не изменялся при повышении pH в диапазоне от 7.1 до 7.8. Этот результат позволяет предположить, что α -КА2 может участвовать в поставке/отводе бикарбоната на акцепторной стороне ФС2.

Участие хлоропластных карбоангидраз в регуляции функциональной активности фотосинтетического аппарата

Руденко Н.*, Игнатова Л., Федорчук Т., Надеева Е., Козулева М., Вильянен Д., Иванов Б.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: nataliacherry413@gmail.com, тел. +7 (4967) 732448

Карбоангидразы (КА) - ферменты, катализирующие обратимую гидратацию углекислого газа с образованием бикарбоната и протона. В клетках высших растений присутствуют КА, принадлежащие трем семействам: α , β и γ .

Особым свойством КА активности тилакоидов хлоропластов высших СЗ растений является ее повышение в присутствии ацетазоламида и азида в субмикромольных концентрациях, что является свойством активных КА α -семейства. В более высоких концентрациях эти соединения функционируют как специфические ингибиторы КА, что было обнаружено и для КА активности тилакоидов. Нами было найдено, что возрастание под действием ацетазоламида КА активности гранальных тилакоидных мембран (ГТМ), обогащённых ФС2, не наблюдается в ГТМ, выделенных из листьев растений *A. thaliana* с нокаутированным геном, кодирующим α КА4. Сравнение тилакоидов из растений ДТ и мутантов по этой КА показало, что отсутствие α КА4 не влияло на скорость транспорта электронов через ФС1, но приводило к значительному увеличению скорости переноса электронов от воды до Q_A . Эти факты и еще ряд результатов позволили сделать вывод, что α КА4 находится в тилакоидной мембране вблизи ФС2. Было обнаружено также, что нокаут гена α КА4 приводил к уменьшению энергозависимого компонента нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (НФХТ), то есть, к снижению диссипации поглощённой энергии света в тепло. При этом в мутантах по α КА4 происходил также ряд структурных изменений в тилакоидной мембране, позволяющих растениям адаптироваться к отсутствию этого фермента. По сравнению с ДТ существенно возросло содержание белка PsbS, регулирующего энергозависимое тушение флуоресценции хлорофилла, киназы STN7, а также пигментов виолаксантинового цикла и содержания мажорных белков светособирающего комплекса ФС2 - эти изменения были особенно выражены в растениях, выращенных при повышенной интенсивности света.

Нокаутная мутация *A. thaliana* по α КА2 так же вызывала многочисленные изменения фотосинтетических характеристик растений, большая часть которых была противоположна тем, которые вызывает отсутствие α КА4, в частности, происходило увеличение энергозависимого компонента НФХТ. Кроме того, выключение гена *aca2* приводило к существенному изменению интенсивности экспрессии генов хлоропластных КА - возрастанию экспрессии генов стромальной α КА1 и тилакоидной α КА4, и уменьшению экспрессии генов стромальной β КА1 и люменальной β КА5, по сравнению с растениями ДТ. На уровне экспрессии генов цитоплазматических КА, β КА2 и β КА3, отсутствие синтеза α КА2 практически не влияло. Данные позволяют предполагать, что α КА2, как и α КА4, расположена в тилакоидной мембране, и что она может принимать участие, наряду с другими системами, в регуляции содержания протонов в люмене.

При исследовании тилакоидов, выделенных из гороха и арабидопсиса, мы показали, что обнаруженное ещё в 60-х годах XX в. увеличение скорости фотофосфорилирования при увеличении концентрации ионов бикарбоната в суспензии изолированных тилакоидов определяется активностью КА. Этот эффект отсутствовал в тилакоидах, выделенных из листьев мутанта арабидопсиса с нокаутом гена, кодирующего α КА5. Методом масс-спектрометрии α КА5 была идентифицирована как КА, расположенная в стромальных тилакоидных мембранах, обогащённых комплексами ФС1 и АТФ-синтазы. Экспрессия гена, кодирующего α КА5, была низка, тем не менее, нокаут гена этой КА приводило к существенному возрастанию уровня экспрессии генов других хлоропластных КА, стромальных и тилакоидных и увеличению КА активности фракций стромы, гранальных тилакоидных мембран и люменальных белков.

Роль альфа-карбоангидразы 5 в метаболизме хлоропластов высших растений**Федорчук Т.*, Маркин Р., Миклишанская В., Руденко Н., Иванов Б.**

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: fedor4uk.t@gmail.com +7 (918) 3171360

Механизм стимуляции фотофосфорилирования (ФФ) в изолированных тилакоидах при увеличении концентрации бикарбоната в среде, открытый в 60-х годах прошлого века, долгое время оставался не понятным. Проведенное нами детальное исследование с тилакоидами гороха и арабидопсиса показало, что стимуляция ФФ зависит от функциональной активности карбоангидразы (КА). С помощью исследования этого эффекта в мутантах *Arabidopsis thaliana* и с использованием масс-спектрального анализа было установлено, что этой КА является α -КА5, расположенная в стромальных тилакоидах.

На основании полученных данных была выдвинута гипотеза о механизме стимуляции ФФ при увеличении концентрации бикарбоната. Дегидратация бикарбоната с участием α -КА5, сопровождаемая поглощением протонов, увеличивает рН на стромальной стороне мембран стромальных тилакоидов т.е. в области расположения CF1 (роторная часть АТФ-синтазы). Это приводит к локальному увеличению Δ рН на тилакоидной мембране, что стимулирует скорость ФФ. Результатом КА реакции, катализируемой α -КА5, является также динамическое увеличение в строме концентрации углекислого газа, который с участием Рубиско фиксируется в цикле Кальвина.

Для проверки этой гипотезы в ходе данной работы исследовали растения *Arabidopsis thaliana* дикого типа и двух мутантных линий, в которых ген, кодирующий α -КА5, выключен. Было найдено, что в мутантных растениях как содержание АТФ-синтазы и Рубиско, так и экспрессия генов, кодирующих их отдельные белки, было выше, чем в ДТ. согласуется с предлагаемой гипотезой о связи функциональной активности α -КА5 с функционированием АТФ-синтазы и Рубиско. Как дополнительное свидетельство в пользу этой связи можно рассматривать увеличение содержания крахмала в мутантных растениях.

Влияние карбоангидразы САНЗ на функциональную стабильность водоокисляющего комплекса фотосистемы 2 из *Chlamydomonas reinhardtii***Шукшина А.*, Терентьев В.**

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: sshukshinka@gmail.com, тел. +7 (915) 2690753

Карбоангидраза (КА) САНЗ из зеленой микроводоросли *C. reinhardtii* на данный момент является единственной идентифицированной КА, которая ассоциирована с фотосистемой 2 (ФС2). Целью работы было изучить влияние КА САНЗ на структурно-функциональную организацию водоокисляющего комплекса (ВОК) ФС2 в мембранных препаратах, обогащенных ФС2, изолированных из дикого типа (ДТ) *Chlamydomonas reinhardtii*, и из мутанта *cia3*, с отсутствующей САНЗ в люмене тилакоидов.

При оптимальных для фотосинтетической активности ФС2 значениях pH, равных 6,2-6,5 скорость выделения O₂ не отличалась у препаратов ФС2 из ДТ и *cia3*, и составляла ~285 мкмоль O₂/мг Хл ч. При смещении pH в щелочную сторону ингибирование O₂-выделяющей функции ФС2, значительно отличалось в препаратах ФС2 из ДТ и *cia3*, в мутанте подавление было более выражено. При pH 7,0 наблюдалась максимальная разница в значениях скоростей выделения O₂, достигающая 20%.

Было проведено изучение скорости выделения O₂ препаратами ФС2 в широком диапазоне концентраций ионов Cl⁻ при оптимальном pH 6,5. Препараты ФС2 из ДТ и *cia3* показывали одинаковый уровень O₂-выделяющей активности ФС2 при 35 мМ NaCl. При повышении концентрации ионов Cl⁻ наблюдалось более сильное ингибирование O₂-выделяющей активности ФС2 из *cia3* по сравнению с ФС2 из ДТ. При 100 мМ NaCl она составляла 90% и 70% у ФС2 из ДТ и *cia3*, соответственно, а дополнительное инкубирование снижало значение в ФС2 из *cia3* до 50%.

Вестерн-блот-анализ образцов ФС2, отобранных после измерения скорости выделения O₂ при разных концентрациях NaCl, показал, что содержание белка ВОК PsbO не изменялось в препаратах ФС2 обоих штаммов, при этом содержание другого белка ВОК – PsbP в препаратах при повышении концентрации NaCl, снижалось в результате отмывки, и это было более выражено в случае ФС2 из ДТ. При 100 мМ NaCl в препаратах ФС2 из ДТ терялось ~30% этого белка, а при 500 мМ оставалось только ~10% PsbP. В то время как в препаратах ФС2 из *cia3* при 100 мМ NaCl белок PsbP практически не отмывался, а при 500 мМ NaCl сохранялось до 30% этого белка.

Таким образом, КА-активность САНЗ поддерживает максимальную активность ВОК ФС2 при ее ингибировании смещением pH от оптимального в щелочную сторону. При этом сам белок САНЗ может участвовать в формировании корректной нативной структуры ВОК, что обеспечивает сохранение его максимальной O₂-выделяющей активности в ФС2 из *C. reinhardtii* в широком диапазоне физиологически возможных концентраций ионов Cl⁻ в люмене тилакоидов.

Секция «Механизмы устойчивости фотосинтезирующих организмов к факторам окружающей среды»

Влияние пероксида водорода на фосфорилирование белков светособирающего комплекса фотосистемы 2

Балашов Н.*, Ветошкина Д., Козулева М., Борисова-Мубаракшина М.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»

*e-mail: kbalashovv@mail.ru, тел. + 7 (985) 7237580

Поглощение света является первичным этапом фотосинтеза, и эффективность этого этапа определяет эффективность протекания всех последующих стадий фотосинтеза. Интенсивность и спектральный состав света в естественных условиях часто изменяются, при этом индуцируются как быстрые адаптационные изменения в фотосинтетическом аппарате, происходящие в течение дня, так и более медленные. У высших растений, вследствие неподвижного образа жизни, сформировалось большое количество механизмов, регулирующих поглощение квантов света. Процесс state transitions представляет собой один из быстрых по времени механизмов регуляции, который заключается в миграции части светособирающей антенны фотосистемы 2 (ФС2) между двумя фотосистемами. Этот процесс приводит к перераспределению количества поглощаемой энергии квантов света обеими фотосистемами, что необходимо в том случае, когда преобладает возбуждение одной из фотосистем.

Важным этапом state transitions является фосфорилирование белков Lhcb1 и Lhcb2 ФС2, которое приводит к электростатическому отталкиванию комплексов антенны ФС2, содержащих эти белки, от ФС2 и присоединению их к фотосистеме 1. Ферментом, осуществляющим обратимое фосфорилирование данных белков, является STN7 киназа. Регуляция активности данного фермента имеет несколько этапов и на данный момент механизм этой регуляции остается дискутируемым. В ряде работ показана возможная редокс регуляция активности данной киназы за счет окисления люменальных или стромальных цистеинов STN7 киназы. Известно, что цистеины целого ряда ферментов, в том числе киназ, являются основным местом воздействия пероксида водорода на такие ферменты.

В настоящей работе проведено исследование влияния пероксида водорода на активность STN7 киназы: проведена оценка накопления фосфорилированных белков Lhcb1 и Lhcb2 на выделенных из растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа тилакоидах в присутствии и отсутствие пероксида водорода. Эксперименты проводили в присутствии фторида натрия, блокирующего активность фосфатаз. Среда реакции содержала АТФ в качестве источника фосфата и грамицидин D - разобщитель электронного транспорта. Накопление фосфорилированных белков оценивали в тилакоидах после 2-х и 20-ти минутного освещения светом низкой интенсивности ($60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) до и после добавления пероксида водорода в разных концентрациях, а также светом высокой интенсивности ($600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) в присутствии и отсутствие экзогенной каталазы. Оценку содержания фосфорилированных белков проводили методом вестерн блот анализа с использованием специфичных антител против фосфорилированных белков Lhcb1 и Lhcb2. В работе впервые показано влияние пероксида водорода на накопление фосфорилированных белков Lhcb1 и Lhcb2.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук №МК-4743.2022.

Моховидные растения, как продуценты антиоксидантов и молекул с нейротехнологическим потенциалом

Белышенко А.*, Моргунова М., Дмитриева М., Переляева Е., Шелковникова В., Аксёнов-Грибанов Д.

ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

*e-mail: al.belyshenko@gmail.com

Лекарственные растения широко используются в качестве альтернативных терапевтических средств для профилактики или вспомогательной терапии различных заболеваний. Представители моховидных растений могут быть перспективными источниками новых биологически активных соединений, о чем свидетельствует низкая степень изученности состава синтезируемых природных соединений. Известно, что немногочисленные из описанных вторичных метаболитов моховидных проявляют различную биологическую активность, в т.ч. противомикробную, противогрибковую, противоопухолевую, антиоксидантную, противовоспалительную и др. Однако, ввиду способности данных растений аккумулировать в себе токсиканты и ионы тяжелых металлов, дикорастущие моховидные растения практически не применяются в терапевтических и профилактических целях.

Целью данного исследования являлась качественная оценка содержания природных соединений с нейротехнологическим потенциалом - биогенных аминов в образцах мхов, как собранных в природе, так и выращенных в лабораторных условиях.

Исследования проведены на образцах эксплантов мхов *Marchantia polymorpha* L. (1753). Эксплант *M. polymorpha* был выращен методом жидкостной культивации в стерильной минеральной среде Тамия (10%) на орбитальном шейкере при интенсивности вращения 140 об/мин. Время культивации составило 1 месяц при температуре 22-24 °С с искусственным светодиодным освещением (60-80 Лк.) и фотопериодом 12/12ч. Из эксплантов собранных, в природной среде, а также из образца мха, культивированного в жидкой питательной среде, проводили экстракцию вторичных метаболитов. Идентификацию нейроактивных аминов проводили методом ВЭЖХ-МС в режиме мониторинга множественных реакций на базе хромато-масс-спектрометрического комплекса Agilent Infinity II с масс-спектрометрическим детектором QQQ 6470В. В образцах экстрактов мхов оценивали наличие таких биогенных аминов, как дофамин, гистамин, серотонин, триптамин, тирамин.

Анализ хроматограмм показал, что гистамин, серотонин, триптамин, тирамин присутствуют в образцах мхов *M. polymorpha*, собранных как в природе, так и выращенных в условиях жидкостного культивирования. Дофамин, напротив, был обнаружен только в образцах мха *M. polymorpha*, собранных в природе, и достоверно идентифицирован по двум дочерним ионам (91/137 m/z).

В здоровье человека биоактивные амины играют важную и ключевую роль в качестве нейротрансмиттеров и участвуют в реализации таких биологических функций, как синаптическая передача, контроль артериального давления и температуры тела, а также рост и дифференцировка клеток. В ходе настоящего исследования впервые показана способность моховидных растений к биосинтезу биогенных аминов.

Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий под руководством молодых ученых при научно –образовательных центрах (проект 075-03-2021-141/4, НОЦ Байкал), Гранта Президента РФ МК-1245.2021.1.4. и Грантов Иркутского государственного университета, направленных на поддержку молодых ученых.

Структурно-функциональная реорганизация светособирающей антенны ФС2 высших растений: роль в адаптации к факторам среды

Ветошкина Д.*, Руденко Н., Найдов И., Балашов Н., Иванов Б., Борисова-Мубаракшина М.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: vetoshkina_d@mail.ru, тел. +7 (977) 5027590

Свет является ключевым фактором, обеспечивающим поддержание жизни фотосинтезирующих организмов. Первичные процессы фотосинтеза, инициируемые поглощением энергии световых квантов фотосинтетической антенной, т.е. светособирающими пигмент-белковыми комплексами, приводят к последующим этапам преобразования световой энергии в энергию химических связей.

Обычно регуляция поглощения световой энергии рассматривается как адаптационный механизм к изменению условий освещения. При этом происходит запуск как кратковременных ответов – state transitions, ксантофилового цикла, активности PsbS белка, так и долговременных ответов, связанных с регуляцией экспрессии ядерных генов, в том числе генов, кодирующих белки светособирающей антенны фотосистемы II (ФС II), что необходимо для изменения количества поглощаемой энергии света. Однако при исследовании влияния абиотических (засухи, засоления почвы) и биотических факторов среды на растения (арабидопсис, ячмень) нами было обнаружено, что и в этих условиях происходит регуляция светосбора за счет структурно-функциональной регуляции светособирающей антенны ФС II, даже в условиях низкой освещенности.

Интересным является вопрос о существовании взаимосвязи между кратковременными ответами на изменение освещенности и последующими долговременными. В качестве ключевых компонентов, которые могут осуществлять такую взаимосвязь в различных работах рассматриваются активные формы кислорода и STN7 киназа. Кроме того, предполагается, что важное значение может иметь не сама STN7 киназа, а фосфорилированные белки светособирающей антенны ФС II - Lhcb1 и Lhcb 2 – продукт активности STN7. Количество Lhcb1 и Lhcb2 в фосфорилированном состоянии определяется активностью не только киназы, но и TAP38/PPH1 фосфатазы.

Для исследования взаимосвязи всех перечисленных компонентов в механизмах регуляции светосбора нами были проведены следующие эксперименты. Растения арабидопсиса дикого типа, а также мутантные растения с заблокированным синтезом либо STN7 киназы, либо TAP38/PPH1 фосфатазы подвергали длительному воздействию повышенной освещенности. Далее через 1, 3, 5 часов после начала воздействия, а также через 1, 5 и 10 суток проводили оценку: фотосинтетических параметров, рассчитанных на основании измерения флуоресценции хлорофилла а, накопления активных форм кислорода, уровня экспрессии генов, кодирующих белки ФС2, и содержания соответствующих белков.

С использованием всех вышеперечисленных методов были выявлены отличия в адаптационных механизмах растений без STN7 киназы по сравнению с растениями дикого типа.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук №МК-4743.2022.

Непрерывное зондирование состояния зеленых микроводорослей в фотобиореакторе для целей биотестирования

Тодоренко Д.¹, Конюхов И.¹, Хрущев С.¹, Маторин Д.¹, Антал Т.^{2*}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова;

²Псковский государственный университет

*e-mail: taras_an@mail.ru

В работе исследовали влияние металлов кадмия и хрома на скорость роста и фотосинтетические процессы пресноводных одноклеточных зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Chlorella vulgaris* (термофильный штамм), которые являются модельными организмами и используются для биотестирования. Для этого использовали 1-л экспериментальном фотобиологическом реактор (ФБР) с автоматизированным комплексом оптических приборов, созданным на кафедре биофизики биологического факультета МГУ (И.В. Конюховым) [1]. Комплекс приборов включал в себя модуль отбора проб, блок оптических приборов (спектрофотометр и флуориметр с проточной кюветой), сосуд с промывочной чистой водой и персональный компьютер для управления автоматикой. В ФБР в автоматическом режиме оценивали три параметра состояния культуры: скорость роста по разнице оптической плотности на 675 и 725 нм, фотосинтетическую активность, измеряя потенциальный и эффективный фотохимический квантовый выход фотосистемы 2 (F_v/F_m и F'_v/F'_m), и отношение содержания каротиноидов к хлорофиллу ($D_{470\text{нм}}/D_{675\text{нм}}$). Предварительно для каждой культуры были подобраны индивидуальные контрольные условия культивирования. Так, *C. vulgaris* культивировали на модифицированной среде Тамия (1/30) при температуре 37°C и интенсивности света 100 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹. *S. quadricauda* культивировали на среде Успенского при температуре 24°C и интенсивности света 60 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹. Металлы добавляли, когда оптическая плотность культур достигала 0.1 единиц для *C. vulgaris* на 17 ч культивирования, а для *S. quadricauda* на 40 ч. На этот момент культуры, выращенные на обедненной среде, были чувствительны к стрессовым воздействиям. В присутствии кадмия и хрома в концентрациях 20 и 50 мкМ происходило снижение скорости роста и фотосинтетической активности культур. Металлы вызывали быстрое значительное ингибирование скорости роста культур и снижение фотосинтетической активности (F_v/F_m и F'_v/F'_m), а также увеличение доли каротиноидов при воздействии хрома за счет замедления синтеза хлорофилла. На основании полученных данных показано, что разработанная система зондирования состояния микроводорослей может быть использована при проведении биотестирования.

Работа была поддержана фондами РФ (грант №20-64-46018) и РФФИ (грант №20-04-00465).

1. Plyusnina T., Khruschev S., Degtereva N., Konyukhov I., Solovchenko A., Kouzmanova M., Goltsev V., Riznichenko G., Rubin A. (2020) Gradual changes in the photosynthetic apparatus triggered by nitrogen depletion during microalgae cultivation in photobioreactor. *Photosynthetica* 58.

Изменение ультраструктуры хлоропластов гороха в результате воздействия солей тяжелых металлов

Власова Т.*, Хрущёв С., Тодоренко Д.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет
*e-mail: tat_vla@list.ru, тел. +7 (495) 9392118

Ультраструктурное рассмотрение изменений в хлоропластах гороха (*Pisum sativum* L) под действием тяжёлых металлов проводили как раздел комплексного исследования влияния металлов на электрон-транспортную цепь растений гороха *in vivo* в зависимости от концентрации и времени воздействия токсических факторов.

Десятидневные растения гороха инкубировали на питательной среде в присутствии солей металлов в течение нескольких суток. Контролем служили растения на чистой питательной среде. Использовали следующие соли металлов Cr, Cd и Cu: $K_2Cr_2O_7$, $CdSO_4$ и $CuSO_4$, для изучения ультраструктуры материал (кусочки листьев гороха) фиксировали глутаровым альдегидом, затем постфиксировали OsO_4 , обезвоживали и заключали в смесь эпоксидных смол и изготавливали ультратонкие срезы, которые исследовали в трансмиссионных электронных микроскопах JEM-1011 и JEM-1400. Работу проводили в межкафедральной лаборатории электронной микроскопии биологического факультета МГУ.

В начале опыта клетки мезофилла контрольных растений имели ультраструктуру, типичную для высших растений и, в частности, для гороха. Хлоропласты были многочисленны, располагались по периферии клеток в пристеночном слое цитоплазмы и имели типичную линзовидную форму. Тилакоиды компактных гран были ориентированы параллельно друг другу и, в основном, длинной оси хлоропласта, и расстояния между ними равнялись приблизительно их толщине. В процессе инкубации в хлоропластах появлялись крахмальные зёрна, размеры которых увеличивались с возрастом растений.

Воздействие как $K_2Cr_2O_7$, так и $CdSO_4$ приводило к изменениям ультраструктуры хлоропластов уже через 48 часов, и ещё в большей степени через 96 часов. Наблюдалось уменьшение количества хлоропластов в клетках мезофилла. Форма гран становилась менее правильной, промежутки между тилакоидами варьировали, то увеличиваясь, то сокращаясь. В обоих случаях в хлоропластах появлялись глобулярные включения со средней электронной плотностью, которые, по мнению ряда авторов, могут иметь происхождение из липидов разрушающихся тилакоидных мембран. Через 96 часов в обоих вариантах появлялись мелкие крахмальные зёрна, несколько крупнее при действии $CdSO_4$. Наблюдалось некоторое искривление стромальных ламелл, особенно под действием $K_2Cr_2O_7$.

При воздействии $CuSO_4$ изменения ультраструктуры были заметно менее выражены, чем у $K_2Cr_2O_7$, и $CdSO_4$, что указывало на более слабое токсическое действие.

Проведён первичный анализ электронных микрофотографий. В дальнейшем будет выполняться более детальный количественный анализ данных.

Результаты будут использоваться в комплексном исследовании для установления взаимосвязи морфологических изменений хлоропластов с наблюдаемыми изменениями функциональных параметров и разработки модели стромальных и гранальных ламелл хлоропласта с реалистичной геометрией компарментов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-04-00465).

Изменение метаболизма зеленых водорослей в ответ на токсичное действие тяжелых металлов**Волгушева А.^{1*}, Годоренко Д.¹, Байжуманов А.¹, Соловченко А.^{1,2}, Кукарских Г.¹, Антал Т.²**¹Кафедра бифизики, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12²Лаборатория комплексных экологических исследований, Псковский государственный университет Россия, 180000, Псков, пл. Ленина, д. 2*e-mail: volg-alena@yandex.ru, тел. +7 (495) 9391963

Тяжелые металлы (ТМ) представляют серьезную опасность для окружающей среды вследствие их высокой токсичности, устойчивости к микробному биоразложению и способности накапливаться в живых организмах, вызывая отравление всей пищевой цепочки и, в конечном итоге, угрожая здоровью человека [1]. Ионы хрома (Cr) и кадмия (Cd) являются наиболее опасными ТМ, поскольку широко применяются в промышленности и проявляют токсичное действие при относительно низких концентрациях. Микроводоросли являются первичными продуцентами и лежат в основе водных пищевых цепей, поэтому воздействие ТМ на фитопланктон приводит к негативному влиянию на всю водную экосистему. Проникновение ТМ в растительную клетку приводит к деградации белков, инактивации ферментов и образованию активных форм кислорода, что нарушает регуляторные процессы фотосинтеза и приводит к окислительному стрессу, основной мишенью которого является фотосинтетический аппарат автотрофной клетки [2].

В исследовании проведен анализ изменения метаболизма двух модельных зеленых микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Chlorella sorokiniana* при длительном воздействии 20 и 50 мкМ Cr(VI) и Cd. С этой целью были измерены ключевые параметры, связанные с повреждением клеток и акклиматизации к стрессу: скорость роста, содержание хлорофилла и крахмала, фотосинтетическая активность и скорость дыхания, содержание и состав жирных кислот, антиоксидантная активность, содержание малонового диальдегида (окислительный стресс) и фенолов. Такой подход позволил выявить общие и специфические закономерности действия ТМ, а также выделить наиболее чувствительные характеристики. Ответные реакции метаболизма были индивидуальными для каждого токсиканта и водоросли, но были выявлены и общие эффекты. Так, содержание МДА, крахмала и скорость дыхания были параметрами, наиболее подверженными влиянию Cd и Cr у обеих водорослей. Скорость дыхания была единственным параметром, показывающим сильное увеличение при всех проведенных обработках. Реакция *C. sorokiniana* на Cr была необычайно сильной, что свидетельствует о применимости этой водоросли для биотестирования наличия Cr в водоемах. В то же время, *C. sorokiniana* показала высокую устойчивость к Cd и высокую способность поглощать этот металл из среды, что позволяет использовать эту водоросль для очистки сточных вод от Cd. Предлагаемый подход можно применять для комплексного скрининга водорослей на их способность противостоять стрессу, вызванному ТМ. Измерения скорости дыхания микроводорослей могут быть использованы для экспресс-мониторинга токсического загрязнения водоемов.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант № 20-64-46018). Результаты, полученные с помощью анализатора кислорода OxuGraph Plus, выполнены в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500058-7.

1. Sall et al., 2020. Environ Sci Pollut Res Int. 27(24). doi: 10.1007/s11356-020-09354-3
2. Berni et al., 2019. Env. Exp. Bot. 161. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.10.017>

Альтернативная оксидаза митохондрий влияет на функционирование фотозащитных систем хлоропластов

Гармаш Е.*, Дымова О., Силина Е., Белых Е., Малышев Р., Велегжанинов И.

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук», Сыктывкар, Россия
*e-mail: garmash@ib.komisc.ru, тел. +7 (8212) 249687

Хлоропласты и митохондрии тесно связаны метаболическими реакциями и сигнальными взаимодействиями. Эта взаимосвязь позволяет избежать окислительного стресса в фотосинтезирующей клетке. Считается, что альтернативная оксидаза (АОХ), обеспечивающая транспорт электронов по альтернативному пути в электрон-транспортной цепи митохондрий (мЭТЦ), участвует в окислении экспортируемых из хлоропластов восстановителей, тем самым «разгружая» фотосинтетическую цепь и защищая клетку от фотоокисления [1]. В хлоропластах основным механизмом защиты от избытка световой энергии является нефотохимическое тушение, измеряемое по затуханию флуоресценции хлорофилла (NPQ), связанное, в том числе, с конверсией виоласкантинового цикла (ВКЦ) [2].

Для изучения роли АОХ в функционировании фотозащитных систем хлоропластов проведены эксперименты по влиянию уровня экспрессии *AOX1a* в растениях *Arabidopsis thaliana* на состояние ФС II и функционирование ВКЦ при повышенном освещении (400 мкмоль/м²с). Для этого 4-х недельные растения трех генотипов (дикого типа, Col-0 и двух модифицированных по *AOX1a* линий), выращенные при 100 мкмоль/м² с, экспонировали к уровню освещения 400 мкмоль/м² с в течение 8 часов. При повышенной освещенности уровень NPQ и активность ВКЦ в растениях Col-0 и со сверхэкспрессией *AOX1a* (XX-2) поддерживались на стабильном уровне. При этом в линии XX-2 величина Yield была выше по сравнению с другими линиями. Антисенсовые растения (AS-12) после 8 ч демонстрировали самые низкие среди линий уровни NPQ и дезоксидации виолаксантина (DEPS). Судя по количеству белка виолаксантиндезоксидазы (ВДЭ) и функционированию ВКЦ снижение DEPS было связано с недостаточной активностью ВДЭ, которая использует аскорбат (Asc) в качестве восстановителя [2]. После 8 ч экспозиции при высокой освещенности относительное содержание цитозольного и пластидного пула восстановленного Asc в листьях AS-12 снижалось. Известно, что последний этап биосинтеза Asc связан с мЭТЦ, где L-галактоно-1,4-лактондегидрогеназа (GLDH) катализирует превращение GL в Asc и передает электроны цитохрому *c* (цит *c*). АП способствует синтезу Asc за счет поддержания пула цит *c* в более окисленном состоянии [3]. Одновременно после 8 ч экспозиции растений на «высоком свете» в линии AS-12 увеличивалась экспрессия генов и активность аскорбатпероксидазы (АРХ), использующей Asc в качестве субстрата для детоксификации H₂O₂. Таким образом, сверхэкспрессия *AOX1a* способствовала стабильности протекания процессов фотозащиты; подавление гена ослабляло фотопротекторную функцию хлоропластов и активировало клеточную антиоксидантную защиту. В работе обсуждается роль АОХ в поддержании взаимоотношений между митохондриями и хлоропластами.

Работа поддержана РНФ (грант № 22-24-01082).

1. Vanlerberghe G.C., et al. Mitochondrion. 2020. V. 52. P. 197-211.
2. Latowski D. et al. Redox Report: Commun. in Free Rad. Res. 2011. V. 16. P. 78-90.
3. Bartoli C.G. et al. Journal of Experimental Botany. 2006. V. 57. P. 1621-1631.

Влияние эндогенных жасмонатов на фотосинтез и антиоксидантную систему пшеницы и арабидопсиса

Дегтярёв Е.^{1,2}, Хоробрых А.¹, Тихонов К.¹, Пиголев А.¹, Мирошниченко Д.³, Савченко Т.^{1*}

¹ Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

²Пушкинский государственный естественно-научный институт;

³Филиал Института Биоорганической химии РАН им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова

*e-mail: savchenko_t@rambler.ru, тел. +7 (915) 2250839

Фитогормоны играют важную роль в регуляции фотосинтеза растений при оптимальных и стрессовых условиях окружающей среды. Одними из стрессовых гормонов растений являются жасмонаты. Мы исследовали роль жасмонатов в фотосинтезе пшеницы и арабидопсиса, а также их влияние на антиоксидантную систему. Объектами изучения стали генетически модифицированные растения яровой пшеницы Саратовская 60 и *Arabidopsis thaliana* с измененным содержанием жасмонатов: трансгенные растения пшеницы, сверхэкспрессирующие ген фермента биосинтеза жасмонатов 12-оксофитодиеноатредуктазы 3 (*AtOPR3*) арабидопсиса, характеризуются повышенным содержанием жасмонатов (Тр.3) по сравнению с нетрансгенными контрольными растениями, а мутантные растения арабидопсиса *aos* лишены жасмонатов из-за отсутствия функционального гена алленоксидсинтазы (*AOS*) Срезанные листья пшеницы и арабидопсиса подвергали действию избыточного освещения, и активность фотосинтетических процессов в ходе фотоингибирования и репарации изучали с помощью ПАМ флуориметрии.

Результаты анализа выявили роль жасмонатов в регуляции процессов, связанных с фотосинтезом. Так растения пшеницы Тр.3 с повышенным содержанием жасмонатов характеризовались повышенным содержанием фотосинтетических пигментов и были менее устойчивы к фотоингибирующему освещению. Было выявлено различие в распределении поглощённой световой энергии между процессами фотохимического тушения и диссипации в растениях арабидопсиса, отличающихся содержанием жасмонатов: при интенсивности действующего света от 29 до 343 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹ в *aos* больше энергии приходилось на фотохимическое тушение и меньше - на неконтролируемую тепловую диссипацию. При интенсивности действующего света выше 343 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹ различий между *aos* и диким типом не наблюдалось. Анализ быстрой фазы индукции флуоресценции (OJIP тест) выявил различия в области J в листьях дикого типа и *aos* после обработки светом высокой интенсивности, свидетельствующие о том, что дикий тип арабидопсиса более подвержен фотоингибированию, чем *aos*. Таким образом, наличие жасмонатов в листьях негативно влияет на фотосинтетический аппарат при действии ингибирующего света.

Так как антиоксидантная система может быть вовлечена в защиту растений от избыточного освещения, мы провели анализ активности антиоксидантной системы в исследуемых растениях в условиях оптимального и избыточного освещения. В растениях *aos*, не подверженных световому стрессу, активность пероксидазы уменьшена на 18%, а активность каталазы увеличена на 12% по сравнению с диким типом. В растениях Тр.3, не подверженных стрессу, активность пероксидазы увеличена на 66%. Активность каталазы в Тр.3 достоверно не отличалась от активности в Саратовской 60. Возможно, влияние жасмонатов на фотосинтез опосредованно антиоксидантной системой.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-16-0047.

Формирование устойчивости либо чувствительности растений ярового ячменя к действию кадмия

Дикарев А.

ФГБНУ ВНИИРАЭ, г. Обнинск, Россия
e-mail: *ar.djuna@yandex.ru*, тел. +7 (484) 3954255

Ныне актуальна проблема загрязнения агроценозов тяжелыми металлами (ТМ), например, кадмием [1]. Несмотря на существенное значение данной проблемы, особенности воздействия кадмия на сельскохозяйственные растения требуют дополнительного изучения [2]. Поэтому важно исследовать механизмы ответа растений на действие ТМ, отобрав сорта основных культур, отличающихся повышенной устойчивостью к ТМ [2]. Ячмень – подходящий тест-объект для оценки устойчивости к действию кадмия. Таковым ячмень делает то обстоятельство, что он является широко распространенной культурой, хорошо изученной во всех отношениях.

Поставлен вегетационный эксперимент на дерново-подзолистой почве с внесенным Cd^{2+} в дозах 25 и 50 мг/кг. Такие дозы существенно угнетают жизненные процессы ячменя, но не ведут к гибели растений, позволяя оценить устойчивость различных сортов этой культуры [2, 3]. Взяты 4 сорта ярового ячменя, контрастные по устойчивости к кадмию (Са 220702, Malva – чувствительные; Местный, Симфония – устойчивые) [3]. Оценивались: внешний вид растений, морфометрические параметры (высота растений, биомасса, площадь листьев), физиолого-биохимические критерии (содержание в надземной биомассе фитогормонов – АБК, зеатина, ИУК, ИМК, СК; активность ферментов – каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы), структура урожая (масса зерна и 1000 зерен, соломы), накопление Cd^{2+} в надземной биомассе.

Показаны значимые различия по ответу устойчивых и чувствительных сортов на дозу Cd^{2+} 50 мг/кг. Наиболее ярко они проявились по продуктивности – у чувствительных сортов масса зерна оказалась значимо ниже, чем у устойчивых, аналогичные данные получены для массы соломы. Морфометрические показатели демонстрировали сходную картину (устойчивые сорта превосходят чувствительные). Анализ содержания фитогормонов показал, что у чувствительных сортов ниже содержание стимулирующих гормонов (ИУК, ИМК, зеатина), но выше стрессовых (АБК, СК). У чувствительных сортов отмечено снижение активности ферментов, за исключением пероксидазы, активность которой выше у устойчивых сортов. Отмечено, что устойчивые сорта накапливали значимо меньшие количества ТМ, чем чувствительные (1,2-2,5 раза меньше для соломы). Доза 25 мг/кг не позволила уверенно дифференцировать группы сортов. Выявленный полиморфизм сортов ячменя по устойчивости сохраняется на протяжении всей вегетации растений и отражается на урожайности и других хозяйственно-ценных признаках.

Собранные данные позволяют оценить последствия техногенного загрязнения агроценозов, они полезны для задач селекции сортов культур, обладающих высокой устойчивостью к ТМ и дающим безопасную продукцию, а также могут найти применение при разработке методологии оценки состояния и экологического нормирования загрязнения почв тяжелыми металлами.

1. Clemens S. Molecular mechanisms of plants metal tolerance and homeostasis // *Planta*. – 2001. – V. 212. – P. 475-486.

2. Тяжелые металлы в агроценозах: миграция, действие, нормирование. Под ред. Н.И. Санжаровой, П.Н. Цыгвинцева. – Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2019. – 398 с.

3. Гераськин С.А., Дикарев А.В., Лыченкова М.А. Дифференциация сортов ячменя по устойчивости к кадмию сохраняется на протяжении всего жизненного цикла растений // *Агрехимия*. – 2021. – №2. – С. 75-85.

Структурно-функциональное состояние хлоропластов у разных генотипов ярового ячменя при гельминтоспориозе

Кабашникова Л.*, Виск Т., Мартысюк А.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

*e-mail: kabashnikova@mail.ru, тел. +375 (17) 3422888

Свет является ключевым фактором, оказывающим влияние на ответные реакции растений при биотическом стрессе, обеспечивая большую часть энергии и множество сигналов для развертывания защитных барьеров. В этом контексте хлоропласты являются не только основным источником энергии, но и обеспечивают пути биосинтеза гормонов стресса и вторичных метаболитов, активных форм кислорода и других сигналов, которые модулируют экспрессию ядерных генов и устойчивость растений к патогенам [1]. Важным представляется изучение структурно-функционального состояния хлоропластов у разных генотипов ячменя при инфицировании грибными патогенами.

Объектами исследований являлись первые листья зеленых проростков ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сортов белорусской селекции – пленчатых (Магутны, Рейдер) и голозерного (Адам). Проростки разного возраста (3-, 5- и 10-дневные) заражали спорами гриба *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (10^6 спор/мл) – возбудителя гельминтоспориоза, и анализировали через 2 дня после заражения. У голозерного сорта Адам наблюдали ускоренный выход первого листа из колеоптиля при меньших размерах по сравнению с сортами Магутны и Рейдер, а также появление второго листа уже в 5-дневном возрасте. При грибном инфицировании в 5-дневном возрасте обнаружено ускорение роста первого листа у сортов Магутны и Рейдер, тогда как у сорта Адам наблюдали достоверное снижение его размеров. Устойчивость пигментного аппарата у голозерного сорта к грибной инфекции оказалась существенно ниже, чем у пленчатых сортов. Так, у сорта Адам содержание хлорофилла (Хл) и каротиноидов в 5-дневных листьях снижалось на 36,1 и 46,5% соответственно, тогда как у сорта Рейдер снижение количества Хл и каротиноидов составило только 18-23%, а у сорта Магутны содержание Хл практически не изменялось на фоне увеличения содержания каротиноидов на 54,6%. У сортов Магутны и Адам не обнаружено существенных изменений потенциального (Fv/Fm) и реального (Y(II)) квантовых выходов фотохимии ФС II в онтогенезе и при заражении. Вместе с тем, реакция хлоропластов сорта Магутны на заражение была более значимой по возрастанию параметров нефотохимического тушения флуоресценции Хл *a*, особенно в 12-дневных проростках: qN на 42,0%; NPQ на 60,8%; Y(NPQ) на 79,3%; Y(NO) на 11,7%, чем у сорта Адам: qN на 15,1%; NPQ на 21,3%; Y(NPQ) на 10,5%, при этом параметр Y(NO) снижался на 9,5%. Коэффициент фотосинтетической эффективности [2] здоровых листьев ячменя всех сортов снижался к 12-дневному возрасту почти в 2 раза относительно более молодых листьев, при этом инфицирование патогеном вызывало более значимое снижение этого показателя у сортов Рейдер и Магутны, чем у сорта Адам при сравнении листьев одинакового возраста.

Таким образом, установлены сортовые и онтогенетические различия ответной реакции хлоропластов ячменя при гельминтоспориозе, что обусловлено, по-видимому, генотипическими особенностями растений.

1. Delprato ML, Krapp AR, Carrillo N. Green Light to Plant Responses to Pathogens: The Role of Chloroplast Light-Dependent Signaling in Biotic Stress //Photochem Photobiol. 2015 Sep-Oct; 91(5):1004-11. doi: 10.1111/php.12466. Epub 2015 Jun 11. PMID: 25989185.

2. Акиншина Н.Г., Азизов А.А., Карасева Т.А. и др. Коэффициент фотосинтетической эффективности растений для оценки качества городской среды // Вестник МГУ. 2008. № 2. С. 17-24.

Кадмий в хлоропластах: Поступление и влияние на активность ФС1 и ФС2**Лысенко Е.*, Клаус А., Карташов А., Кузнецов В.**

Институт физиологии растений (РАН) ФАНО, г. Москва, 127276, Россия.

*email: genlysenko@mail.ru; +7 (499) 231-83-44

Кадмий (Cd) – один из наиболее токсичных и изучаемых тяжелых металлов. Фотосинтез является одной из мишеней, повреждаемых кадмием. В отличие от большинства неэссенциальных тяжелых металлов, для кадмия известно, что он попадает в хлоропласты [1]. Традиционное мнение о влиянии Cd на фотосинтез колеблется между двумя возможностями: а) кадмия в хлоропласты поступает слишком мало и все его эффекты на фотосинтез не прямые и б) кадмий в хлоропластах замещает Ca в водоокисляющем кластере ФС2 (Mn₄CaO₅).

Мы показали, что при поступлении *in vivo* внутри хлоропластов Cd в основном (80%) накапливается в тилакоидах; в тилакоидах количество Cd сопоставимо с количествами Cu, Zn и Mn, кадмий может замещать один из этих катионов и ингибировать, соответственно, пластоцианин, тилакоидную карбоангидразу, протеазу FtsH или марганцевый кластер ФС2 [2]. Эти данные указывают на возможность прямого ингибирования кадмием компонентов электрон-транспортной цепи в хлоропластах.

Анализируя молодые растения ячменя, мы показали, что Cd ингибирует ФС2 на акцепторной стороне, что приводит к формированию большого числа «закрытых» ФС2 [3]. Фотохимическая активность ФС1 снижалась под действием Cd сильнее, чем таковая у ФС2, что указывает на ингибирование ФС1, независимое от ФС2 [3]. Такое ингибирующее действие на активность фотосистем было специфично для Cd, другие тяжелые металлы - Fe, Cu, Pb, Hg, Ba - не оказывали такого действия ([3] и новые данные). Выявленные нами детали ингибирования фотосистем плохо согласуются с моделью ингибирования кадмием водоокисляющего комплекса и хорошо объясняются моделью ингибирования кадмием пластоцианина.

Нами обнаружены возможные механизмы защиты фотосинтетического аппарата от Cd. При поступлении Cd *in vivo*, внутри хлоропластов основной пул Ca перемещается из стромы в тилакоиды [2]. Избыток Ca защищает водоокисляющий кластер Mn₄CaO₅ от замещения Ca (и, возможно, Mn) кадмием. При поступлении Cd *in vitro*, хлоропласты из чистых (безкадмиевых) растений поглощают много Cd [2], а хлоропласты из «кадмиевых» растений поглощают гораздо меньше Cd (новые данные). Видимо, у растений существуют индуцибельные механизмы, ограничивающие поступление Cd в хлоропласты, запускающиеся при поступлении Cd в клетки.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема №121040800153-1), а также поддержана грантом РНФ № 14-14-00584.

1. Lysenko E.A. et al. // Photosynth. Res. 2015, v.125, p.291-303.
2. Lysenko E.A. et al. // Photosynth. Res. 2019, v.139, p.337-358.
3. Lysenko E.A. et al. // Plant Physiol. Biochem. 2020, v.147, p.191-204.

Влияние подвоя на синтез метаболитов в листьях *Prunus domestica* L

Мотылева С.*, Упадышева Г.

Федеральный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, Москва

*e-mail: motyleva_svetlana@mail.ru

Для выращивания сливы в Центральном регионе России используют саженцы сливы домашней и алычи, привитые на клоновые подвои разной силы роста: сильнорослые - 13-113, среднерослые - ОПА-15-2, ОП-23-23, СВГ-11-19 и слаборослые - 140-1, Новинка, ВВА-1. В мире успешно решены многие вопросы, связанные с размножением сортов сливы и подбором комбинаций привой-подвой, но недостаточно изучены физиолого-биохимические аспекты взаимоотношения [1].

Цель - изучение влияния подвоя на синтез фотосинтетических пигментов, антиоксидантную активность, накопление суммы фенольных соединений, зольных элементов и низкомолекулярных метаболитов в листьях *Prunus domestica* L. сортов Утро и Яичная синяя, привитых на корнесобственные подвои разной силы роста.

Влияние подвоев на синтез фотосинтетических пигментов изучали методами спектрофотометрии (Helios Y UV-vis (USA), газовой хромато-масс-спектрометрии (JEOL JMS-Q1050GC (JEOL Ltd, Japan) и энергодисперсионной спектрометрии (REM JEOL JSM - 6010 LA (JEOL Ltd, Japan).

Содержание хлорофиллов Chl *a* и Chl *b* является одним из основных показателей вегетативной продуктивности деревьев сливы домашней. Общее содержание Chl ^a в среднем в 3-4 раза выше, чем Chl *b*, и колеблется от 4,12 мг/мл (саженцы) до 13,71 мг/мл (ОП-23-23). Увеличение содержания суммы Chl *a* + Chl *b* и наибольшее соотношение Chl *a* / *b* отмечено в листьях сортов Яичная синяя и Утро на подвоях ОПА-15-2 и ОП-23-23, что приводит к более высокой интенсивности процесса фотосинтеза. Наибольшее содержание каротиноидов было зарегистрировано в экстрактах листьев подвоя ОП-23-23 (1,26 мг/мл), комбинаций Утро/Новинка (0,9 мг/мл), Утро/ОП-23-23 (0,79 мг/мл) и Яичная синяя (0,75 мг/мл). Следовательно, синтез фотосинтетических пигментов зависел не только от генотипа, но и от используемого подвоя. Общая антиоксидантная активность (АА) экстрактов листьев сливы (свободнорадикальные реакции с DPPH+) и общее содержание фенолов (ТРС) с реактивом Фолина-Чокальтеу свидетельствуют о наличии биологически активных веществ-антиоксидантов, которые синтезируются в листьях сливы. Подвой оказывает влияние на синтез веществ-антиоксидантов в листьях привоя. ТРС в листьях всех привойно-подвойных комбинаций выше, чем в листьях подвоев на 3-12 мг/г. Сравнение профилей спектров экстрактов листьев подвоев и привойно-подвойных комбинаций в диапазоне 190-700 нм выявили значительные различия в диапазоне 200-350 нм, что свидетельствует о влиянии подвоя на синтез метаболитов в листьях. Выявлены существенные различия компонентного состава метаболитов и существенные количественные различия содержания таких веществ веществ как эритроновая кислота, глицерин, эллиновая кислота, молочная кислота, левоглюкозан, антиоксидант мио-инозитол, пролин. В листьях сорта Утро и Яичная синяя на подвое ОП-23-23 синтезируется на 15% и 10% больше хлорогеновой кислоты, чем в листьях подвоя. Хлорогеновая кислота участвует в адаптивных процессах [2]. Содержание сахарозы, фруктофуранозы и фруктозы в листьях сорта Яичная синяя в 2,5-3 раза больше, чем в листьях подвоя. Содержание таких зольных элементов как К, Р, Са, Со, Мп в листьях сортов Яичная синяя и Новинка на подвое ОП-23-23 существенно выше, чем в листьях подвоя. Отмечена роль этих элементов адаптивных процессах растений [3].

Установлено влияние подвоя на процесс фотосинтеза, антиоксидантную активность, накопление минералов и метаболический ответ в листьях малоизученных привойно-подвойных комбинациях *Prunus domestica* L.

1. Moin, A, Langlois N, Svanella L, Zanetto A. and Gaudillere J.P. Variability in sorbitol:sucrose ratio in mature leaves of different *Prunus* species. J. Soc. Hort. Sci. 1997:122(1):83-90

2. Upadyshev M.T. The role of phenolic compounds in life processes of garden plants, Moscow: Izd. Dom MSP, (2008) 320 p. ISBN 978-5-902178-41-5

3. Maathuis FJM Mint: Physiological functions of mineral macronutrients. Curr.ent Opinion in Plant Biology. 2009:12: 250—258. DOI 10.1016/j.pbi.2009.04.003

Особенности обмена азота в симбиотическом сообществе зеленой микроводоросли *Trebouxia sp.* в лишайнике *Parmelia sulcata*.

Павлова Е.*, Маслов А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: HelenaLekseevna@mail.ru, тел. +7 (496) 7732880

Лишайники представляют собой организмы, в которых сосуществуют фототрофные водоросли (фотобионты) и гетеротрофные грибы (микобионты).

Симбиоз дает эффективную адаптацию к разнообразным экстремальным условиям внешней среды, как в отношении физических факторов, так и в использовании питательных ресурсов. Совместное существование вырабатывает функциональные и структурные особенности этих организмов, включая метаболическую интеграцию бионтов. Лишайники – пример взаимовыгодного симбиоза. Хотя фотобионт составляет не более 10% биомассы лишайника, он является главным источником углерода для микобионта. Вклад фотосинтезирующих зеленых водорослей в ассоциацию состоит в обеспечении грибов питательными веществами - углеводами и другими органическими соединениями, образующимися в процессе фотосинтеза путем фиксации CO₂. Менее изучен метаболический вклад гриба в ассоциацию, что касается, прежде всего, азотного обмена.

Объектом нашего изучения служил повсеместно распространенный лишайник *Parmelia sulcata*, содержащий в качестве фотобионта зеленую водоросль *Trebouxia sp.* Ранее нами с использованием собственной методики разделения и очистки бионтов было установлено, что фотобионт не способен к поглощению нитратного азота, в отличие от свободноживущих зеленых водорослей. Препараты микобионта и фрагменты таллома, содержащие оба бионта, поглощали нитрат, т.е. ассимиляция нитрата проходила в клетках микобионта. Форма, в которой азот транспортировался в клетки фотобионта была установлена с помощью хроматографического и изотопного масс-спектрометрического анализа аминокислот, экскретируемых микобионтом после инкубации с Na¹⁵NO₃. Таким образом, наряду с углеродным потоком фотосинтезированных продуктов из фотобионта в микобионт, существует и обратный поток азота. Азотсодержащие продукты поступают из микобионта в фотобионт в виде аминокислот и коротких пептидов. Выявлены некоторые различия в синтезе и метаболизме аминокислот в бионтах лишайника.

На изолированном фотобионте при одновременном использовании тяжелых изотопов углерода ¹³C и азота ¹⁵N был показан устойчивый фотосинтез, а также отсутствие у водоросли ассимиляции нитрата. В интактном талломе наблюдалось обогащение нитратным азотом. У водоросли после импульсной подачи метки показан практически неизменный достигнутый уровень обогащения меченым ¹³C и также очень слабое и не меняющееся обогащение ¹³C в инкубационной жидкости. Это указывает на низкую скорость транспорта вновь синтезированных продуктов фотосинтеза из изолированного фотобионта. Возможно, что для транспорта фотосинтатов имеет важное значение наличие контакта клеток водоросли и гриба – хозяина, или сигнальных веществ, предположительно, нескольких дипептидов, синтезируемых микобионтом, обнаруженных в экскрете микобионтов.

Участие компонента фотосистемы II PsbS в защите от холодового стресса у зелёной водоросли *Lobosphaera incisa*

**Птушенко В.^{1,2*}, Виноградова Е.^{3,4}, Глаголева Е.^{1,3}, Карпова О.³, Птушенко О.^{1,3},
Соловченко А.^{3,5}, Шибзухова К.^{1,3}, Лобакова Е.³**

¹НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (МГУ);

²Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН;

³Биологический факультет МГУ;

⁴Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»;

⁵Псковский государственный университет

*e-mail: ptush@belozersky.msu.ru, тел. +7 (495) 9391454

Нефотохимическое тушение (НФТ) возбуждённых состояний хлорофилла является универсальным механизмом защиты фотосинтетического аппарата (ФСА) от повреждающего действия избыточного освещения среди оксигенных фотосинтетиков. Этот механизм задействует различные компоненты ФСА, среди которых большую роль играют белки, локализованные в тилакоидной мембране. Белок LhcSR, принадлежащий к суперсемейству антенных белков, участвует в НФТ в хлоропластах зелёных и некоторых других групп водорослей, а также у мохообразных. У сосудистых растений НФТ зависит от наличия компонента фотосистемы II (ФСII) — белка PsbS, принадлежащего к тому же суперсемейству; в то же время, LhcSR утерян ими. PsbS также встречается и выполняет защитную функцию, по крайней мере, у некоторых мохообразных, дополняя LhcSR-зависимое НФТ. Кодированные PsbS участки также были обнаружены в геноме зелёных водорослей, однако обнаружить сам белок или его дифференциальную экспрессию в ответ на воздействие стрессовых условий долгое время не удавалось. На этом основании делали вывод, что в ФСА зелёных водорослей PsbS не активен [1].

Лишь шесть лет назад удалось обнаружить PsbS в клетках модельного организма *Chlamydomonas reinhardtii*, причем было показано, что содержание PsbS возрастает в ответ на рост интенсивности света. Однако наблюдаемое возрастание содержания PsbS было кратковременным (часы) и интерпретировалось как проявление участия PsbS лишь в переходных процессах в момент возникновения стрессовых условий [2,3].

В настоящей работе мы впервые показали продолжительное (порядка нескольких суток) возрастание уровня экспрессии PsbS в клетках зелёных водорослей (Chlorophyta) в ответ на стресс. Так, мы обнаружили у зелёной микроводоросли *Lobosphaera incisa* сохраняющийся в течение четырёх суток значительный (более чем на три порядка) рост уровня экспрессии гена PsbS в ответ на спровоцированный низкой температурой световой стресс; при этом менее значительное (порядка десятикратного) повышение уровня экспрессии PsbS сохранялось вплоть до девяти суток. Мы предполагаем, что функции PsbS в ФСА зелёных водорослей шире, чем это предполагалось ранее, и PsbS является полноценным компонентом долговременной защиты ФСА в стрессовых условиях.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант № 22-24-00323).

1. Anwaruzzaman, M., Chin, B.L., Li, X.-P., Lohr, M., Martinez, D.A. and Niyogi, K.K. (2004) *Photosynthesis Research*, Springer. **82**, 265–276.
2. Tibiletti, T., Auroy, P., Peltier, G. and Caffarri, S. (2016) *Plant Physiology*, American Society of Plant Biologists. **171**, 2717–2730.
3. Correa-Galvis, V., Redekop, P., Guan, K., Griess, A., Truong, T.B., Wakao, S. et al. (2016) *Journal of Biological Chemistry*, ASBMB. **291**, 17478–17487.

Динамика индукции защитных механизмов при холодовом стрессе у водоросли *Lobosphaera incisa*

**Птушенко О.^{1,2*}, Птушенко В.^{1,3}, Бондаренко Г.⁴, Глаголева Е.^{1,2}, Соловченко А.^{2,5}, Трубицин Б.⁶,
Чивкунова О.², Шибзухова К.^{1,2}, Лобакова Е.²**

¹НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (МГУ);

²Биологический факультет МГУ;

³Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН;

⁴Химический факультет МГУ;

⁵Псковский государственный университет;

⁶Физический факультет МГУ

*e-mail: ksyun88ster@gmail.com, тел. +7 (495) 9391454

Растения используют набор механизмов для защиты своего фотосинтетического аппарата (ФСА) при высокой освещённости или при неблагоприятных значениях других характеристик окружающей среды, которые могут ограничивать эффективность использования света. Эти механизмы используют «подгонку» пигментного состава ФСА и изменение соотношения комплексов фотосинтетической электрон-транспортной цепи хлоропластов. В результате изменяется распределение потоков энергии в фотосинтетической антенне: происходит усиление тепловой диссипации поглощённой энергии света и снижение эффективности фотохимических реакций. Это перераспределение может изменяться со временем за счёт включения/выключения (усиления/ослабления) различных механизмов акклимации ФСА к неблагоприятным условиям.

Мы исследовали воздействие низкой температуры (около 0 °С) на ФСА зеленой микроводоросли *Lobosphaera incisa* IPPAS С-2047 в течение нескольких суток (9-15). Квантовая эффективность фотосистемы 2, F_{PSII} , монотонно снижалась в течение всего времени эксперимента, однако отчётливо выделялись две фазы: фаза относительно быстрого падения F_{PSII} (в 2-2,5 раза по сравнению с начальным значением в течение первых нескольких дней после начала низкотемпературного воздействия) и дальнейшее медленное снижение F_{PSII} (ещё в 1,3-1,5 раза в течение следующих 5-10 суток). При этом в течение первой фазы не происходило заметных изменений содержания общего хлорофилла (Хл) или каротиноидов (Кар) в клетках, а также изменений состава каротиноидов. В ходе дальнейшего культивирования при низкой температуре наблюдалось ожидаемое снижение общего содержания Хл в клетках, снижение доли Хл *b*, возрастание отношения Кар/Хл и содержания Кар виолаксантинового цикла. Одновременно мы анализировали изменение жирнокислотного состава липидов клетки. Измерения показали, что основные жирные кислоты также практически не меняли своё содержание в течение первой фазы акклимации, в то время как при длительной (более 5 суток) акклимации наблюдался рост доли α -линоленовой кислоты за счёт снижения доли линолевой кислоты. Исключение составляла арахидоновая кислота (АК), содержание которой возрастало с самого начала низкотемпературной акклимации. Наши данные позволяют предположить, что изменения содержания пигментов являются компонентами долговременной фотозащитной реакции ФСА у *L. incisa* в рассмотренных нами условиях низкотемпературного воздействия на фоне относительно низкой освещённости. «Подгонка» жирнокислотного состава липидов клетки также имеет две фазы, причём накопление АК происходит сразу же с началом стресса, в отличие от других основных ЖК клетки.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант № 22-24-00323).

Нелистовой фотосинтез

**Савченко Т.^{1*}, Сундырева М.², Яныкин Д.¹, Хоробрых А.¹, Христин М.¹, Смолова Т.¹,
Тихонов К.¹, Ашихмин А.¹, Семенова Г.³**

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»;

²Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, ул. 40-летия Победы, д. 39, г. Краснодар, Россия;

³Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»

*e-mail: *savchenko_t@rambler.ru*, тел. +7 (915) 2250839

Лист высших растений в процессе эволюции был сформирован как основной фотосинтезирующий орган, морфология которого приспособлена для эффективного поглощения световой энергии и углекислого газа. Благодаря транспирации воды через устьица листа, осуществляются доставка необходимых минеральных соединений из почвы/субстрата и терморегуляция. Цветы, черешки, плоды, семена, стебли и в отдельных случаях даже подземные органы, корни и клубни, также содержат хлоропласты, способные осуществлять процесс поглощения и трансформации энергии света, однако, условия протекания фотосинтетических процессов в этих органах значительно отличаются от окружения фотосинтетических мембран в хлоренхиме листа. Основные отличия связаны с тем, что свет, достигающий фотосинтетических мембран в нелистовых органах, имеет иные характеристики интенсивности и спектрального состава, а из-за затрудненного газообмена с окружающей средой углекислый газ поступает не из атмосферы, а из окружающих тканей, то есть происходит ре-фиксация углерода, выделяющегося в процессе дыхания. Также может заметно отличаться и содержание воды в нелистовых тканях. В связи с этим, фотосинтез в нелистовой хлоренхиме характеризуется отличиями как светозависимых реакций, так и темновых метаболических процессов.

Растущий объем данных показывает, что вклад нелистового фотосинтеза в рост и продуктивность растений значителен, особенно в неблагоприятных условиях среды, появляется информация о необходимости рассмотрения характеристик нелистового фотосинтеза при выведении и внедрении новых сортов. Однако, до сих пор нет достаточной информации об организации и особенностях функционирования фотосинтетического аппарата в нелистовых органах, что, скорее всего, объясняется сложностью экспериментальной работы с этими объектами и отсутствием необходимых методов и подходов. В этой работе будут представлены результаты наших собственных исследований и литературные данные, обобщающие современные знания в области фотосинтеза нелистовых органов с более подробным рассмотрением стеблевого фотосинтеза. Будут обсуждаться экспериментальные подходы в изучении стеблевого фотосинтеза и перспективы практического применения полученных знаний.

Образование различных типов светособирающих комплексов - способ адаптации *Rhodospseudomonas palustris* к условиям экстремально низкой освещенности

Сердюк О.*, Смолыгина Л., Абдуллатыпов А., Ашихмин А., Большаков М.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: serdyuko@rambler.ru; тел. +7 (916) 6911846

У фототрофных пурпурных бактерий наиболее изученным является светособирающий комплекс LH2, который на высоком свете экспрессируется как один тип - В 800-850 с основным максимумом при 850 нм, а при низкой освещенности (LL) имеет инвариантные спектральные формы. Таковыми являются LH3 (В800-820) комплексы *Rhodoblastus (Rbl.) acidophilus* (ранее известная как *Rps. acidophila*) и LH 4 (В800) комплексы *Rhodospseudomonas (Rps.) palustris*. LH4 комплекс имеет те же максимумы поглощения, что и LH2 комплекс, но в отличие от него максимум при 800 нм является основным и в очищенных комплексах соотношение 800/850 приближается к 3:1. В геноме *Rps. palustris* присутствуют пять копий пар *psuBA* генов, кодирующих $\alpha\beta_{abcde}$ – апоротеины LH комплексов. LH4 комплекс включает по крайней мере два типа полипептидов: *PsuABa*, *PsuABd* и *PsuBb*. В дальнейшем было показано, что взаимодействие субъединиц *PsuABd* и *PsuABa* из-за неоднородного распределения энергий узлов бактериохлорофилла *a* (BChl) внутри кольца LH2 ответственно за уменьшение полосы 850 в LH4 комплексе. Нами у *Rps. palustris* наряду с LH4 комплексом в условиях экстремально низкой освещенности (10 лк) был обнаружен еще один тип комплекса, обозначенный как LL LH2, отличающийся от LH4 по соотношению максимумов 800/850 нм и их положению, а также по положению пиков в каротиноидной, 400 – 540 нм, части спектра поглощения. Методом ВЭЖХ-МС/МС спектрометрии нами было показано наличие в LL LH2 комплексе $\alpha_d\beta_{ab}$ –цепей, что отличало его от LH2 комплекса, содержащего $\alpha\beta_{ab}$ – апопротеины и от LH4 по отсутствию α_d –апопротеина. ВЭЖХ анализ пигментного состава обнаружил различия у LH 4 и LL LH2 комплексов по каротиноидам (в mol %): ликопину 16.2 и 1.7, родопину 43.4 и 65.8, дидегидрородопину 32.5 и 17.4, спириллоксантину 0 и 9.6, соответственно. Были обнаружены также различия между LL комплексами по эффективности передачи энергии от Car к BChl *a*. Вариабельность состава пептидов и каротиноидов в LH комплексах делает их уникальными системами в условиях адаптации фототрофных пурпурных бактерий к различным условиям освещенности. Полученные данные позволяют, по-видимому, позиционировать LL LH2 в качестве нового типа периферического LH комплекса у *Rps. palustris*, а также свидетельствуют о том, что адаптация у *Rps. palustris* к изменениям условий освещенности происходит за счет биосинтеза различных типов LH комплексов с гетерогенным составом пептидов и, как указывают литературные данные, с различной пространственной ориентацией колец BChl *a* к ним. Как следствие этого, все типы LH комплексов у *Rps. palustris* имеют специфические спектральные характеристики. LH3 комплекс из *Rbl. acidophilus* за исключением голубого сдвига В 800-820, в остальном подобен комплексу LH2. Ранее сдвиг связывался с удалением водородных связей, что приводит к изменениям в ацетильной части BChl. В настоящее время с использованием инструментов расчета и моделирования на соответствующих кристаллических структурах показано, что наиболее критическим фактором для сдвига является кривизна кольца макроцикла. Детальное понимание механизма спектральной настройки на молекулярном уровне будет иметь большое значение в разьяснении стратегии адаптации бактерий к условиям окружающей среды для достижения оптимального использования света.

Работа выполнена в рамках госзадания № 122041200039-0.

Исследование воздействия тяжелых металлов на фотосинтез лишайников для применения в экологическом мониторинге

Слепнёва В.^{1*}, Лихачева О.², Волгушева А.², Антал Т.²

¹Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова;

²Лаборатория комплексных экологических исследований Псковского государственного университета

*e-mail: lera.ru-93@mail.ru, тел. +7 (926) 7033140

Антропогенное воздействие развивающихся городов и хозяйственной деятельности человека на окружающую среду ведет к усугублению экологических проблем, которые необходимо своевременно выявлять различными системами мониторинга техногенных загрязнений и разрабатывать новые более эффективные.

Фотосинтетический аппарат является уязвимой целью для действия неблагоприятных факторов, особенно таких токсикантов, как тяжелые металлы. Высшие растения менее чувствительны ввиду сложной системы регуляции и налаженного многоуровневого механизма адаптации к стрессу по сравнению низшими растениями, поэтому лишайники с более простым строением организма выбраны нами в качестве объекта. В частности, традиционный метод, такой как лишайноиндикация, использует лишайники в качестве биоиндикатора благодаря чувствительности этих объектов к различным видам загрязнений, а также достаточной распространенности и относительной устойчивости лишайников к меняющимся природным условиям.

Наличие второго компонента в качестве фототрофного микроорганизма (зеленой водоросли) в таллومه лишайника делает возможным использование флуоресцентных методов для анализа изменений в процессах фотосинтеза лишайника, в том числе *in situ*. В связи с этим мы разрабатываем подходы для анализа фотосинтетической активности лишайника в лабораторных и полевых условиях, учитывая особенности строения и физиологии этих организмов. В частности, в настоящее время проводятся исследования, направленные на выяснение возможностей и ограничений регистрации кривых индукции быстрой и замедленной флуоресценции хлорофилла, и модулированного отражения на длине волны 820 нм в таллومه лишайника с помощью прибора МРЕА-2.

Выявлены виды лишайников, известные и исследуемые в биомониторинге в качестве индикатора загрязнений (*Xanthoria parietina* и *Parmelia sulcata*), а также состояния, подходящие для подобного рода измерений. Подобраны условия для изучения воздействия тяжелых металлов, в частности, хрома и кадмия, на параметры фотосинтеза водорослевого компонента лишайников в лабораторных условиях. Показано, что токсический эффект тяжелых металлов в значительной степени зависит от насыщения лишайника влагой и длительности обработки токсикантами. Так же показано, что токсический эффект проявляется в изменении ряда фотосинтетических параметров, в основном, в долгосрочных экспериментах при восстановлении фотосинтетической активности после высушивания. Кроме того, выявлены изменения параметров кинетики редокс переходов P700 и пластоцианина, а также кривых замедленной флуоресценции.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант №20-64-46018).

Ингибирующие действие света высокой интенсивности и УФ-В на активность ФА при дефиците фоторецепторов

Строкина В.*, Худякова А., Креславский В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: *strokina.93@mail.ru*, тел. +7 (985) 640 29 35

Свет жизненно важен для роста и развития растений. При этом свет действует через набор различных фоторецепторов, среди которых ключевую роль играют фитохромы, криптохромы и фототропины [1]. Они регулируют многие процессы метаболизма и фотоморфогенеза растений. Однако роль фитохромов и криптохромов в регуляции процессов фотосинтеза менее изучена, прежде всего это относится к стрессоустойчивости фотосинтетического аппарата (ФА) и адаптации к факторам внешней среды, в частности, к УФ-радиации и свету высокой интенсивности (СВИ) [2,3].

В представленной работе были изучены возможные пути влияния фоторецепторов – фитохромов и криптохромов, на ФА томата и арабидопсиса при воздействии СВИ и УФ-В.

На примере мутантов *Solanum lycopersicum* с дефицитом ключевых фоторецепторов этих растений (ФхА, ФхВ1, ФхВ2 и криптохром 1) и *A. thaliana* дикого типа (ДТ) с дефицитом ФхА и ФхВ или криптохромов 1 или 2 было изучено влияние СВИ (1000 мкмоль квантов м⁻² с⁻¹) и УФ-В (7 мкмоль квантов м⁻² с⁻¹) на фотохимическую активность ФС2 и фотосинтез, а также на содержание пигментов (каротиноиды и флавоноиды) и низкомолекулярных антиоксидантов и активность антиоксидантных ферментов при дефиците этих фоторецепторов.

Обнаружено, что у растений арабидопсиса, выращенных с дефицитом ФхВ, по сравнению с растениями дефицитными по ФхА или криптохрому 1, по сравнению с растениями с дефицитом криптохрома 2 было более существенно снижено содержание различных пигментов (каротиноиды, фенольные соединения), а также понижена активность ряда антиоксидантных ферментов. После облучения СВИ или УФ-В эта тенденция сохранялась. Дефицит ФхВ, и в меньшей степени ФхА, был также критичен для устойчивости ФА к СВИ и УФ-В. При этом скорость фотосинтеза и максимальный квантовый выход ФС2 томатов к действию кратковременного СВИ возрастает в следующем ряду: Кр1хВ1ФхА>ФхАФхВ1ФхВ2>ФхВ1ФхВ2=ФхВ1А=ФхВ2А>Кр1>ФхВ1=ФхВ2=ФхА. При этом и содержание фотосинтетических пигментов, и активность ключевых ферментов были исходно ниже и оставались сниженными после облучения растений СВИ именно у тройных мутантов.

Сделано заключение, что низкая устойчивость ФА мутантов томатов и арабидопсиса к СВИ и УФ-В в значительной степени связана с пониженным содержанием в листьях низкомолекулярных антиоксидантов (антоцианы, каротиноиды и флавоноиды), и сниженной активностью ключевых антиоксидантных ферментов (гваякол-зависимая пероксидаза, глутатионредуктаза).

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 20-04-00512А.

1. Allakhverdiev S.I, Kreslavski V.D, Klimov V.V, Los D.A, Carpentier R, Mohanty P. (2008) Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynth. Res.*, 98, 541–550
2. Powles S.B. 2003. PHOTOINHIBITION OF PHOTOSYNTHESIS INDUCED BY VISIBLE LIGHT. *Ann. Rev. Plant Physiol. Annual Review of Plant Biology.*, doi: 10.1146/annurev.pp.35.060184.000311.
3. Креславский В. Д., Карпентьер Р., Климов В. В., Мурата Н., Аллахвердиев С.И. (2007) Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу (обзор). *Биол. Мембраны*. 24 (3), 195 - 217.

Сравнительная характеристика штаммов микроводорослей *Micractinium* из разных мест обитания

Тебина Е.^{1,2}, Дегтярёв Е.^{1,2}, Темралеева А.³, Кривина Е.³, Савченко Т.^{1*}

¹ Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

² ФГБОУ «Пушкинский государственный естественно-научный институт»;

³ Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»

*e-mail: savchenko_t@rambler.ru, тел. +7 (915) 2250839

Micractinium — род зеленых водорослей семейства *Chlorellaceae*. Некоторые представители этого рода обладают высоким биотехнологическим потенциалом, благодаря простоте выращивания, относительно высокой скорости роста и способности накапливать биологически ценные метаболиты, в первую очередь полиненасыщенные жирные кислоты. В данной работе рассматривались два штамма этого рода: *Micractinium* sp.1 ACSSI 332 и *Micractinium* sp.2 ACSSI 343. Штамм ACSSI 332 изолирован из горячих источников на Чукотском полуострове, а ACSSI 343 выделен из оз. Большое Васильевское (г. Тольятти, Самарская область, Россия).

В ходе исследования жирнокислотного состава микроводорослей было установлено, что преобладающими жирными кислотами у обоих видов являются гексадекановая, 7,10,13-гексадекатриеновая кислота и 9,12,15-октадекатриеновая кислота, (79,9% и 63,6% от общего содержания жирных кислот в сумме у *Micractinium* sp.1 и *Micractinium* sp.2, соответственно). Жирнокислотный состав исследуемых организмов заметно различается по степени ненасыщенности жирных кислот. Более высокая степень ненасыщенности жирных кислот у *Micractinium* sp.2 (индекс ненасыщенности равен 2,27), а у *Micractinium* sp.1 этот показатель ниже на 20% (равен 1,81). Еще одним отличительным признаком является наличие пентадекановой кислоты исключительно у *Micractinium* sp.1, а 4,7,10,13-гексдекатетраеновой кислоты – у *Micractinium* sp.2. Кроме того, в обоих видах было обнаружено несколько минорных жирных кислот, содержание которых у *Micractinium* sp.1 в сумме составляет 2,3 мол.%, а у *Micractinium* sp.2 2,6 мол.%.

Изучение содержания фотосинтетических пигментов показало, что этот показатель выше у *Micractinium* sp.2 по всем параметрам. Интересно, что количество каротиноидов также значительно (более чем в три раза) меньше у *Micractinium* sp.1, что может свидетельствовать о более низкой устойчивости фотосинтетического аппарата к действию избыточного света. Действительно, низкое содержание каротиноидов *Micractinium* sp.1 согласуется с выявленными низкими значениями нефотохимического тушения (NPQ). В широком диапазоне условий интенсивности света (от 1 до 2000 мкмоль фотонов с⁻¹ м²) эффективный квантовый выход, который отражает фактическую эффективность фотосистемы II (ФСII) при заданных условиях в *Micractinium* sp.1 была значительно ниже, чем у *Micractinium* sp.2. Все полученные данные указывают на сниженную фотосинтетическую активность *Micractinium* sp.1. Кинетика подъема быстрой фазы переменной флуоресценции (так называемая OJР кинетика) в *Micractinium* sp.1 характеризуется повышенной флуоресценцией в O-J фазе, что может быть связано с более восстановленным состоянием пластохиноновых акцепторов в ФСII адаптированных к темноте клеток, или увеличенной долей Q_B-невосстанавливающих центров ФСII. Отсутствие различий в I-P фазе между кинетикой *Micractinium* sp.1 и *Micractinium* sp.2 может отражать сходный размер и состояние восстановления пула акцепторов конечных электронов в ФСII.

Каротиноиды тилакоидных мембран цианобактерии *Arthrospira platensis*.

Тыщенко А., Вечтомова Ю.*, Телегина Т., Крицкий М.

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук

*e-mail: vechtomova@inbi.ras.ru, тел. +7 (926) 2903571

Цианобактерия *Arthrospira platensis* (спирулина) содержит каротиноиды в составе цитоплазматической и наружной мембран, в тилакоидных мембранах, а также в виде водорастворимых каротиноид-белковых комплексов [1-3]. В составе комплексов с белками каротиноиды могут выполнять различные функции: структурные, фотопротекторные, антенные. Распределение тех или иных каротиноидов между различными органеллами цианобактерии может указывать на возможные функции каротиноидов в этих органеллах. Известно, что каротиноиды играют важную роль в работе фотосинтетического аппарата в тилакоидных мембранах.

Нами был разработан метод выделения каротиноид-белковых комплексов из тилакоидов цианобактерии *Arthrospira platensis* (спирулина) с использованием ультрацентрифугирования при 220000 g в градиенте водного раствора сахарозы. Было получено несколько фракций, содержащих каротиноиды и хлорофилл. Выделенные фракции анализировались методами спектроскопии в видимой и УФ областях спектра, КД-спектроскопии. А также с помощью ТСХ и ВЭЖХ. Было показано, что в спирулине каротиноиды находятся как в транс-форме, так и в виде цис-изомеров в комплексе с белками. Ксантофиллы, которые были найдены в спирулине, находятся в виде сложных эфиров жирных кислот липопротеинов тилакоидных мембран.

Работа была поддержана РНФ (грант №21-74-20155).

1. Телегина Т.А., Бирюков М.В., Терехова И.В. Вечтомова Ю.Л., Крицкий М.С. // Прикл. биохим. микробиол. 2018. Т. 54. Вып. 6. С. 594-602.

2. Aakermann T., Skulberg O.M., Liaaen-Jensen S. // Biochem. System. Ecol. 1992. Vol. 20. № 8. P. 761-769.

3. Телегина Т.А., Геворгиз Р.Г., Нехорошев М.В., Бирюков М.В., Вечтомова Ю.Л., Крицкий М.С. // Акт. вопр. биол. физ. и хим. 2018. Т. 3. Вып. 4. С. 706-710.

Исследование механизмов действия солей тяжелых металлов на первичные процессы фотосинтеза у высших растений

Хрущёв С.^{1*}, Плюснина Т.¹, Тодоренко Д.¹, Mattila Н.², Власова Т.¹, Маслаков А.¹, Ризниченко Г.¹, Рубин А.¹

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет;

²University of Turku, Finland

*e-mail: styx@biophys.msu.ru, тел. +7 (495) 9390289

Предложен комплексный подход к изучению механизмов ответной реакции фотосинтетического аппарата высших растений на токсическое воздействие тяжелых металлов с использованием совокупности современных экспериментальных и математических методов. Выраженное токсическое действие $K_2Cr_2O_7$, $CdSO_4$ в концентрации 20 и 50 мкМ на проростки гороха *Pisum sativum* проявляется через 48–96 часов, токсическое действие $CuSO_4$ менее выражено. Выполнена комплексная оценка влияния металлов на электрон-транспортную цепь растений гороха *in vivo* в зависимости от концентрации и времени воздействия. Измерены индукционные кривые быстрой и замедленной флуоресценции хлорофилла, а также окислительно-восстановительные превращения P700 – фотоактивного пигмента фотосистемы 1 и мобильных переносчиков электрона пластоцианина и ферредоксина (по изменению отражения света листьями в ближней инфракрасной области) при разных режимах освещения. Выявлены характерные для действия тяжелых металлов изменения в индукционных кривых флуоресценции и кривых изменения редокс-состояния переносчиков электрона. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии исследовано изменение ультраструктуры хлоропластов.

С помощью стохастической агентной модели электронного транспорта [1] выявлены наиболее чувствительные к действию токсического стресса стадии переноса электрона. Показано, что действие солей кадмия приводит к снижению эффективности линейного транспорта между фотосистемами 2 и 1 [2], в то время как при действии бихромата калия наблюдается снижение активности фотосистемы 2. Для установления взаимосвязи морфологических изменений хлоропластов с наблюдаемыми изменениями функциональных параметров разработана модель стромальных и гранальных ламелл хлоропласта с реалистичной геометрией компартментов и явным учетом диффузии подвижных переносчиков электрона и протонов. Модель построена на основе упрощенной аналитической геометрии грани и окружающих ее стромальных ламелл, воспроизводящей наблюдаемую в эксперименте ультраструктуру и позволяющей варьировать форму компартментов изменением числовых параметров. Подвижность мобильных переносчиков электронов и протонов и окислительно-восстановительные реакции моделируется по принципу клеточного автомата. Белковые молекулы занимают несколько соседних ячеек, их форма задается по данным рентгеноструктурного анализа или криоэлектронной микроскопии.

Исследование выполнено при поддержке грантов РФФИ № 20-04-00465 и РНФ № 22-11-00009.

1. Маслаков А.С. Описание процессов в ансамблях фотосинтетических реакционных центров с помощью кинетической модели типа Монте-Карло // Компьютерные исследования и моделирование, 2020, т. 12, № 5, с. 1207-1221. DOI: 10.20537/2076-7633-2020-12-5-1207-1221

2. Todorenko D., Volgusheva A., Timofeev N., Kovalenko I., Matorin D., Antal T. Multiple *in vivo* Effects of Cadmium on Photosynthetic Electron Transport in Pea Plants. *Photochemistry and Photobiology*, 2021, v. 97, pp. 1516-1526. DOI: 10.1111/php.13469

Влияние теплового стресса на фотосинтетические процессы растений *A. thaliana* при дефиците фитохромов А и В

Худякова А.*, Ширшикова Г., Кособрюхов А., Креславский А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: s_t_i_m_a_@mail.ru, тел. +7 (968) 6552216

Известно, что состояние фитохромной системы зависит от температуры [1,2]. В свою очередь, изменения содержания фитохромов влияет на ответные реакции фотосинтетического аппарата (ФА) на стресс [3]. Однако роль фитохромов при действии повышенных температур на ФА практически не изучен

Исследовано влияние кратковременного тепловой обработки (2 ч, 40° С) проведенной как на свету, так и в темноте, на флуоресцентные параметры, характеризующие активность фотосистемы 2 (ФС2) 24-дн. растений *Arabidopsis thaliana* ДТ и мутантов, дефицитных по ключевым фитохромам (Фх) А и В такие как максимальный квантовый выход ФС2 (Fv/Fm) и индекс производительности (PI_{ABS}), а также диссипацию поглощенной световой энергии (DI₀/RC). Также изучено влияние повышенной температуры на содержание фотосинтетических пигментов, скорости фотосинтеза и дыхания.

Показано, что фотохимическая активность ФС2, характеризуемая величинами Fv/Fm и PI_{ABS}, снижается, а величина DI₀/RC возрастает у ДТ и фитохромных мутантов при 2 ч выдерживании растений при температуре 40° С в темноте или на светодиодном свету при интенсивности 40 мкмоль квантов м⁻² с⁻¹. При этом наибольшее снижение величин Fv/Fm и PI_{ABS} и увеличение DI₀/RC при действии 40° С в темноте наблюдалось у мутанта с дефицитом ФхВ. Использование ингибитора белкового синтеза линкомицина (3 мМ) достоверно увеличивало снижение Fv/Fm только у мутанта с дефицитом ФхВ. Вероятно, это связано с тем, что восстановление ФС2 у мутанта с дефицитом ФхВ происходит более эффективно, чем у ДТ и мутанта с дефицитом ФхА.

Исходно скорость фотосинтеза мало отличалась у ДТ и мутантов. Однако если скорость фотосинтеза у ДТ и мутанта с дефицитом ФхА при 2 ч выдерживании растений при 40° С в темноте снижалась примерно на 25%, то у мутанта с дефицитом ФхВ снижалась более заметно – на 63%. При этом скорость дыхания снижалась только у мутанта с дефицитом ФхВ. При 2 ч действии 40° С на свету изменения скорости фотосинтеза и дыхания были примерно одинаковы во всех вариантах.

Также мы обнаружили, что только у мутантов, дефицитных по ФхВ, обработанных 2 ч 40° С в темноте, снижалось содержание хлорофилла *a* и *b*, а также каротиноидов.

Следовательно, CO₂ газообмен, активность ФС2 и содержание фотосинтетических пигментов, именно при дефиците ФхВ, наиболее чувствительны к негативному кратковременному действию повышенной температуры.

Таким образом, в нашей работе обнаружен новый научный факт, что устойчивость ФА к повышенной температуре зависит от ФхВ.

Работа была поддержана РФФИ (грант №20-04-00512А).

1. Foreman J., Johansson H., Hornitschek P., Josse E.M., Fankhauser C., Halliday K.J. Light receptor action is critical for maintaining plant biomass at warm ambient temperatures. *Plant J.*, 2011. 65:441–452.

2. Franklin K.A., Toledo-Ortiz G., Pyott D.E., Halliday K.J. Interaction of light and temperature signaling. *J. Exp. Bot.*, 2014. 65:2859–2871.

3. Kreslavski et al. 2018. Kreslavski V.D., Los D.A., Schmitt F.J., Zharmukhamedov S.K., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I. The impact of the phytochromes on photosynthetic processes. *Biochim Biophys Acta Bioenerg.*, 2018. 1859(5):400–408.

Секция «Подходы к повышению эффективности работы фотосинтетического аппарата и синтеза ценных биопродуктов фотоавтотрофами»

Накопление липидов и крахмала в клетках зеленой микроводоросли *Coelastrella* sp. IPPAS H-626 при азотном голодании в условиях автотрофного, миксотрофного и гетеротрофного роста

Заднепровская Е.^{1*}, Синетова М.А.¹, Аллахвердиев С.И.^{1,2}

¹Институт физиологии растений им К.А. Тимирязева РАН;

²Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: zadneprovskaya@ifr.moscow, тел. +7 (978) 7180172

Микроводоросли, в частности, одноклеточные зеленые водоросли, являются ценными источниками биологически активных веществ, таких как липиды, каротиноиды, белки, углеводы и т.д. Спектр применения этих веществ широк: медицина, биоэнергетика, пищевая индустрия, косметология и тд [1].

В настоящее время остро стоит вопрос обеспечения населения планеты энергетическими ресурсами, замены традиционных способов получения энергии на более экологические и т.д. В этом плане особенный интерес представляют липиды, которые можно использовать для производства биотоплива третьего поколения. Также липиды микроводорослей богаты омега-3-жирными кислотами и могут использоваться в пищевой и косметологической промышленности. В связи с этим, перед исследователями первоочередной задачей становится поиск продуктивных штаммов микроводорослей и изучение способов повышения содержания ценных биологически активных веществ (в частности липидов).

Объектом изучения является зеленая микроводоросль *Coelastrella* sp. штамм IPPAS H-626 (коллекция IPPAS ИФР РАН им. К.А. Тимирязева, Москва). Целью нашего исследования являлось изучение влияния органических источников углерода и азотного голодания на накопление липидов клетками *Coelastrella* sp. IPPAS H-626.

Культивирование штамма IPPAS H-626 проводилось в течение 18 суток на агаризованных средах BG-11 и BG-11-N [2] при 27°C в камере роста MLR-352-PE на свету (30 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹) и в темноте. В качестве органических источников углерода использовались 0,1% растворы глюкозы, маннозы, галактозы, лактозы, глицерина и 0,01М раствор ацетата калия. Наличие липидов в клетках определяли с помощью флуоресцентной микроскопии (окрашивание флуоресцентным красителем Bodipy 505/515) [3].

Было определено, что азотное голодание вызывало хлороз культуры, замедляло рост, приводило к накоплению крахмала и липидов, утолщению клеточных стенок. Глюкоза, манноза и ацетат калия являлись оптимальными источниками экзогенного органического углерода для роста штамма *Coelastrella* sp. IPPAS H-626.

Наиболее интенсивное образование липидов и крахмала наблюдалось при азотном голодании при наличии в среде дополнительных источников углерода.

Результаты получены в рамках государственного задания Минобрнауки и высшего образования Российской Федерации (121033000136-14) и при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-44-08001).

Литература:

1. Pauline Spolaore, Claire Joannis-Cassan, Elie Duran, Arsène Isambert, Commercial applications of microalgae, *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2006. 101: 2, p. 87-96.
2. Stanier R.Y., Kunisawa R., Mandel, M., Cohen-Bazire G. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriol. Rev.* 1971. 35. p. 171–205
3. Rumin J., Bonfond H., Saint-Jean B., et al. The use of fluorescent Nile red and BODIPY for lipid measurement in microalgae. *Biotechnol. Biofuels*. 2015. 8: 42.

Световые реакции фотосинтеза и урожайность растений *Triticale*

Косогова Т.

Луганский государственный педагогический университет
e-mail: *inbotanlit87@list.ru*, тел. +38 (072) 1637239

Известно, продуктивность растений во многом зависит от интенсивности фотосинтетических реакций [1, 2]. Интенсивность фотосинтетического фосфорилирования (ФФ) и фотохимическую активность изолированных хлоропластов (ФХА), выделенных из флагового листа растений пшенично-ржаного амфидиплоида *Triticale trispecies* разновидность *erythroalbum* (гексаплоидный амфидиплоид, сорт АД-206, созданный селекционером Шулындиным А.Ф. с соавт.), в фазе начала колошения определяли в соответствии с методом, описанным Гавриленко с соавт. [3]. Интенсивность ФФ и ФХА хлоропластов определяли в присутствии кофакторов – феназинметасульфат (ФМС) и гексацианоферрат (III) калия $[K_3Fe(CN)_6]$. Реакционная среда для циклического фосфорилирования содержала 3 мл смеси: *трис*-HCl-буфер (pH 7,8) – 45, NaCl – 60, $MgCl_2$ – 10, АДФ – 10, K_2HPO_4 – 10, ФМС – 0,1 мкМ и суспензию хлоропластов (0,08–0,12 мг хлорофилла); для нециклического фосфорилирования: *трис*-HCl-буфер (pH 7,8) – 45, NaCl – 60, $MgCl_2$ – 12, АДФ – 4, KH_2PO_4 – 12, $[K_3Fe(CN)_6]$ – 2 мкМ и суспензию хлоропластов такой же концентрации. Пробы освещали на специальной установке в течение 5 минут (освещенность 25000 лк, температура 18–20°C). Реакцию останавливали введением в смесь 1 мл 10% ТХУ и 1М CH_3COOH . После осаждения хлоропластов в темновых и световых пробах определяли R_n методом Чена с соавторами [4].

Анализ результатов определения ФХА показал, что в хлоропластах растений, выращенных из зерновок, подвергнутых действию неблагоприятных факторов (температура 25-40 °С и 80-100 % относительная влажность воздуха) (НФ), резко снижается скорость потока электронов по электрон-транспортной цепи. Также значительно снижается интенсивность ФФ как с кофактором ФМС (циклическое фотосинтетическое фосфорилирование), так и $[K_3Fe(CN)_6]$ (нециклическое фотосинтетическое фосфорилирование). Скорость переноса электронов и синтеза АТФ в реакциях циклического и нециклического ФФ повышалась под действием БАП (6-бензиламинопурин – синтетический аналог цитокинина). Интенсивность ФФ с ФМС хлоропластов повысилась на 16,6 % по отношению к контролю. Аналогичная закономерность имела место в случае нециклического фотофосфорилирования с кофактором $[K_3Fe(CN)_6]$, интенсивность которого повысилась на 11,7%. Уборку урожая осуществляли при средней влажности зерновок культуры 20,0 %. Структуру урожая анализировали в соответствии с методикой государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Под действием НФ снизилось количество продуктивных побегов с 1 растения, масса 1000 зерновок и масса зерна как с 1 растения, так и 1 м².

Таким образом, сравнительное исследование растений *Triticale trispecies*, выращенных из семян со сниженными посевными качествами в результате действия НФ, позволило выявить значительную разницу в функционировании фотосинтетического аппарата на уровне первичных световых реакций фотосинтеза.

1. Володарский Н.И., Быстрых Е.Е. Активность первичных реакций фотосинтеза как показатель уровня продуктивности растений // Эколого-физиологические исследования фотосинтеза и водного режима растений в полевых условиях. Иркутск. 1983. 167.

2. Гавриленко В.Ф., Рубин Б.А., Жигалова Т.В. Фотосинтетическое фосфорилирование изолированных хлоропластов и интенсивность фотосинтеза у проростков пшеницы различной продуктивности // Сельскохозяйственная биология. 1974.9. №3. 345-351.

3. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. – М.: Высшая школа, 1975. – 392 с.

4. Chen P., Toribara T. Warner H. Anal. Chem., 1956. – 28. – N. 11. – P.1756.

Минеральное голодание как фактор накопления биотехнологически важных соединений в клетках зеленой микроводоросли *Nannochloris* sp. штамм IPPAS C-1509

Крапивина А.^{1,2*}, Бобровникова Л.^{1,3}, Синетова М.¹, Аллахвердиев С.^{1,4}

¹Институт физиологии растений им К.А. Тимирязева РАН;

²Российский государственный аграрный университет им. К.А. Тимирязева;

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова;

⁴Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино

*e-mail: a.krapivina35@gmail.com, тел. +7 (926) 970 99 28

Клетки зеленых микроводорослей, способные запастись значительное количество крахмала или липидов, являются перспективными для биотехнологии. Биомассу, богатую углеводами, можно использовать в качестве субстрата для переработки бактериями и получать этанол и метан. Биомассу богатую триацилглицеринами (ТАГ) можно использовать для получения биотоплива и в качестве пищевых и кормовых добавок [1].

Объектом исследования являлся штамм зеленой микроводоросли *Nannochloris* sp. IPPAS C-1509, который отличается высокими скоростями роста, способностью расти в широком диапазоне солености и использовать бикарбонат в качестве источника углерода [2].

Исследовали влияние азотного и магниевого голодания на рост, фотосинтез и биохимический состав клеток *Nannochloris* sp. IPPAS C-1509.

В условиях минерального голодания по азоту и магнию рост культуры замедлялся, интенсивность фотосинтеза снижалась, но в разной степени. Интересно отметить, что в условиях азотного голодания культура преимущественно накапливала липиды, а при магниевом голодании – преимущественно крахмал.

Результаты получены в рамках государственного задания Минобрнауки и высшего образования Российской Федерации (121033000136-14) и при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-44-08001).

1. Bobrovnikova L.A., Pakholkova M.S., Sidorov R.A., Sinetova M.A. Starch and triacylglycerol accumulation in the cells of the strain *Chlorella* sp. IPPAS C-1210. *Voprosy sovremennoi algologii [Issues of modern algology]*. 2021. №2 (26). P. 1–7.

2. Simionato D., Block M.A., La Rocca N., et al. The response of *Nannochloropsis gaditana* to nitrogen starvation includes de novo biosynthesis of triacylglycerols, a decrease of chloroplast galactolipids, and reorganization of the photosynthetic apparatus. *Eukaryot Cell*. 2013;12(5):665-676.

Особенности конъюгативного переноса ДНК в *Rhodobacter capsulatus* и последующего анализа клонов

Майорова Е.*, Петушкова Е.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: ekaterina.majorova.97@mail.ru, тел. +7 (496) 7732791

В настоящее время получение новых штаммов пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter capsulatus* с целью улучшения ее биотехнологических свойств является актуальным. Конъюгативный перенос – наиболее часто используемый метод передачи генетической информации в клетки пурпурных бактерий. В качестве штамма-донора при этом используют *Escherichia coli* S17-1. Целью данной работы была оптимизация условий конъюгативного переноса плазмидной ДНК и селективного отбора конъюгантов *Rba. capsulatus* с учетом особенностей данной бактерии. Проанализированы две методики конъюгации. Одна из них применяется при работе с пурпурной серной бактерией *Thiocapsa bogorovii* BBS [1]. Перенос конструкции в этом случае проводят в анаэробном осадке культур донора-реципиента при их соотношении 1:9. Другая методика используется при работе с пурпурной несерной бактерией *Cereibacter sphaeroides* [2]. Перенос плазмиды происходит во время аэробной инкубации донора и реципиента при их соотношении 1:5 на богатой твердой среде.

Культура *Rba. capsulatus* склонна к повышенному капсулообразованию и выделению слизи, что снижает эффективность конъюгативного переноса. В работе использованы компетентные к передаче экзогенной ДНК клетки *Rba. capsulatus* с минимальной капсулой, полученные при смене ростового субстрата с лактата на ацетат в ранней логарифмической фазе роста [3]. После высева конъюгационной смеси на селективной среде наблюдалось большое число смешанных колоний донора и реципиента. Это препятствовало обнаружению целевого мутанта. Для решения данной проблемы были подобраны условия лимитирования роста культуры-донора: в качестве единственного органического субстрата в селективную среду добавляли только 20 мМ ацетата. Показано, что данный состав среды приводит к подавлению роста культуры-посредника. Кроме того, ПЦР-скрининг выросших клонов был затруднен по причине расположения клеток *Rba. capsulatus* в цепочках. Это ведет к появлению смешанных колоний конъюганта и родительского штамма с преобладанием последнего. Такие колонии демонстрируют ложно-отрицательный ПЦР-сигнал, характерный для исходной родительской культуры. Осуществление дополнительного этапа селективного роста конъюгантов на жидкой среде позволит решить эту проблему.

Работа выполнена в рамках госзадания № 122041200039-0.

1. Khasimov M. Kh., Petushkova E. P., Khusnutdinova A. N., Zorin N. A., Batyrova Kh. A., Yakunin A. F., Tsygankov A. A. The HydS C-terminal domain of the *Thiocapsa bogorovii* HydSL hydrogenase is involved in membrane anchoring and electron transfer // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 2021. Vol. 1, №12. 148492.

2. Simon R., Priefer U., Piihler A. A broad host range mobilization system for *in vivo* genetic engineering: transposon mutagenesis in gram negative bacteria // *BioTechnology*. 1983. Vol. 1, №9. P. 784-791.

3. Майорова Е. В., Петушкова Е. П. Оптимизация подходов генетической модификации *Rhodobacter capsulatus* // Сборник тезисов 25-ой Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА». 2022. С. 26.

Изучение особенностей системы рестрикции-модификации *Rhodobacter capsulatus* и методов защиты экзогенной ДНК от разрушения

Майорова Е., Петушкова Е.*, Цыганков А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: peteka2008@gmail.com, тел. +7 (496) 732791

Генетическая модификация пурпурной несерной бактерии *Rba. capsulatus* актуальна в связи со способностью данной бактерии к синтезу большого числа практически значимых соединений. Перенос генетического материала в клетки *Rba. capsulatus* с помощью электропорации является наиболее быстрым подходом, открывающим широкие перспективы использования λ -Red системы рекомбинации для осуществления бесшовной делеции и инсерции генов. Однако при работе с пурпурными бактериями применение электропорации затруднено в связи с разрушением вводимой ДНК защитной системой рестрикции-модификации (СРМ) клетки. СРМ, состоящие из метилтрансфераз и родственных рестрикционных ферментов, служат механизмом, используемым для защиты генома хозяина от инвазии транспозонов и вирусной ДНК [1]. Эта система отличает чужеродную ДНК по модификации оснований («правильному» их метилированию) и защищает собственную ДНК от эндонуклеаз рестрикции (ЭР). По механизму действия и молекулярной структуре различают 4 типа СРМ и, соответственно, ЭР. Нами не обнаружено экспериментальных работ по изучению ферментов СРМ *Rba. capsulatus*. В соответствии с имеющейся аннотацией геномной ДНК в базе данных GenBank и функциональной аннотацией базы данных KEGG Orthology в геноме *Rba. capsulatus* присутствует несколько последовательностей генов, аннотированных как сайт-специфические ДНК-метилтрансферазы: RCAP_rcc00201 (аденин-специфичная [ЕС:2.1.1.72]), RCAP_rcc00943 (цитозин-N(4)-специфичная), RCAP_rcc01260 (аденин-специфичная, тип III СРМ RcaSBIP, субъединица *Mod*, [ЕС:2.1.1.72]), RCAP_rcc02003 (*dam*; ДНК-метилтрансфераза аденин-специфичная [ЕС:2.1.1.72]), RCAP_rcc02717 (цитозин-специфичная, ДНК (цитозин-5)-метилтрансфераза 1 [ЕС:2.1.1.37]), RCAP_rcc02741 (аденин-специфичная), RCAP_rcc02742 (цитозин-специфичная, ДНК (цитозин-5)-метилтрансфераза 1 [ЕС:2.1.1.37]). Однако требуется подтверждение функциональной активности и уточнение сайтов узнавания ферментов, кодируемых перечисленными генами. Ранее нами были подобраны условия для получения электрокомпетентных клеток *Rba. capsulatus* с минимальной капсулой. Продемонстрирована возможность трансформации в них метилированной плазмидной ДНК широкого круга хозяев [2]. Для этого была использована плазида, выделенная из конъюганта *Rba capsulatus* pRK415Kan^R. В рамках текущей работы была проверена возможность использования метилирования плазмидной ДНК (выделенной из *E. coli*) с помощью метилтрансфераз бесклеточного экстракта *Rba. capsulatus in vitro* для защиты от разрушения ЭР при последующей трансформации в электрокомпетентные клетки *Rba. capsulatus*.

Разные разделы работы были поддержаны Российским научным фондом № 19-14-00255П (<https://rscf.ru/project/19-14-00255/>) и ГЗ № 122041200039-0.

1. Seong HJ, Han S -W, Sul WJ. 2021. Prokaryotic dna methylation and its functional roles. J Microbiol. 59(3):242–248.

2. Майорова Е.В., Петушкова Е.П. Оптимизация подходов генетической модификации *Rhodobacter capsulatus*. 25-ая Пушинская школа-конференция молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» Пушино, 18–22 апреля 2022 г

Выделение H_2 $h\nu r^-$ штаммами *Anabaena sp.* PCC 7120 с нативной и модифицированной нитрогеназой в лабораторных и внелабораторных условиях

Романова А.*, Лауринавичене А., Цыганков А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: gavrisheva.ast@gmail.com, тел. +7 (909) 9041593

В настоящее время в связи с негативным воздействием продуктов сгорания ископаемых топлив на климат, усиливается интерес к нетрадиционным источникам энергии. Молекулярный водород является одним из наиболее экологически чистых энергоносителей для энергетики будущего, поскольку продуктом его сгорания является вода. Одним из возможных путей получения водорода без загрязнения окружающей среды является биологическое преобразование солнечной. Азотфиксирующие цианобактерии рассматриваются в качестве потенциального элемента систем биоконверсии солнечной энергии [1]. Целью наших исследований было сравнить выделение H_2 $h\nu r^-$ штаммами гетероцистных цианобактерий *Anabaena sp.* PCC 7120 с нативной и модифицированной нитрогеназой в условиях, приближенных к природным и изучить возможность получения H_2 $h\nu r^-$ штаммом *Anabaena sp.* 7120 (родительским) на открытом воздухе в пластиковых пакетах, в качестве простых фотобиореакторов.

Была оценена фотосинтетическая активность и особенности выделения H_2 у родительского штамма цианобактерии *Anabaena sp.* PCC 7120 ΔNup (не синтезирующих водород-поглощающую гидрогеназу) и мутантов $dc-Q193S$ и $dc-R284H$, с мутациями вблизи активного центра нитрогеназы. Нитрогеназная активность по выделению водорода, а также фотосинтетическая активность мутантов была ниже, чем у родительского штамма ΔNup . Мутант $dc-Q193S$, в отличие от родительского штамма ΔNup , продемонстрировал более низкий температурный оптимум для выделения H_2 . При этом выделение H_2 у мутантов мало отличалось от родительского штамма по энергии активации, по константам насыщения светом и по ингибированию ацетиленом. Однако в отличие от родительского штамма выделение H_2 у них не ингибировалось молекулярным азотом. Возможность использования азота или воздуха вместо аргона при получении водорода перспективна с практической точки зрения, но пониженная активность и повышенная хрупкость филаментов у изученных мутантов ограничивает возможности их практического использования.

Изучена возможность выделения H_2 цианобактерией *Anabaena sp.* PCC 7120 ΔNup во внелабораторных природных условиях в Подмосковье с использованием простейших фотобиореакторов. Два эксперимента были выполнены в июле и августе при средней дневной температуре $21^\circ C$, средней дневной интенсивности света 340 μmol квантов $\text{m}^{-2} \text{c}^{-1}$. Максимальная скорость выделения H_2 составляла $20,6$ ml $\text{день}^{-1} \text{л}^{-1}$ культуры с накоплением $33,2$ ml/l в течение 5 дней. Полученные активности были ниже по сравнению с лучшими описанными в литературе экспериментальными данными на открытом воздухе. Это могло быть связано с неоптимальными погодными условиями и конструктивными недостатками таких фотобиореакторов. Однако результаты доказывают, что выделение H_2 цианобактериями принципиально возможно на открытом воздухе в средней полосе России в условиях умеренно-континентального климата с использованием пластиковых пакетов, в качестве дешевых фотобиореакторов.

Разные разделы работы были поддержаны фондом РФФИ (№15-54-50032), РНФ (№15-14-30007; 19-14-00255-П) (<https://rscf.ru/project/19-14-00255/>) и ГЗ № 122041200039-0

1. Sakurai H., Tsygankov A. (2019) Photobiological biohydrogen production. Second and Third Generation of Feedstocks. Angelo Basile and Francesco Dalena. Published by Elsevier Inc., Chapter 16, pp. 437-467.

Фотосинтетические пигменты в растениях рода *Allium* L.**Середин Т.*, Марчева М., Молчанова А.**ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства
e-mail: timofey-seredin@rambler.ru

В настоящих исследованиях показано содержание фотосинтетических пигментов: хлорофилл А, хлорофилл В и каротиноиды в листьях многолетних луков. Изучение биохимического состава многолетних луков позволило выявить сортовые различия и сходство образцов по основным его компонентам. Исследования зеленых листьев многолетних луков по содержанию фотопигментов было сделано в первой декаде мая. В 2015-2021 годы был проведен биохимический анализ коллекционных образцов лука батун: Баяй Верде, Ишакура Лонг уайт, Легионер, Русская трапеза, Семилетка, Чиполлино, Шиодоме; лука шнитт: Медонос и Альбион; лука косоного: Великан и Новичок; лука алтайского: Альвес; лука слизуна: Лидер и Очарование; лука душистого: Априор и Пикантный, а также лука краснеющего Чародей. Отмечено, что содержание хлорофилла А в листьях лука батун по сортам располагалось по мере убывания: Шиодоме > Семилетка > Русская трапеза > Ишакура Лонг уайт > Легионер > Баяй Верда > Чиполлино.

Следует отметить, что лук батун наиболее распространен в нашей стране для получения ранней высоковитаминной зелени, а также для выращивания в тепличных комбинатах. Поэтому в наших исследованиях было использовано семь коллекционных образцов по изучению содержания фотосинтетических пигментов в листьях. Сорт Шиодоме из изученных содержит максимальный показатель хлорофилла А (1,08 мг/г) и хлорофилла В (0,72 мг/г), а сорта лука батун Чиполлино и Баяй Верда наименьшее по сумме хлорофиллов 0,62 мг/г и 0,69 мг/г соответственно.

Содержание каротиноидов в зависимости от сорта лука батун изменялось в диапазоне от 0,03 до 0,19 мг/г. Максимальное содержание каротиноидов наблюдалось у сорта лука батун Шиодоме, минимальное у сорта Чиполлино.

По остальным видам рода *Allium* L. в исследованиях было использовано по одному-двум сортообразцам. Активным накопителем хлорофилла А, В и каротиноидов по результатам наших исследований является сорт лука краснеющего Чародей. Вторым накопителем фотосинтетических пигментов является сорта лука косоного Новичок и Великан. Лук алтайский Альвес и сорта лука душистого Априор и Пикантный содержание хлорофилла А колеблется от 1,0 до 1,12 мг/г. Среднее содержание хлорофилла В было отмечено у лука слизуна Лидер. Необходимо отметить, что накопление каротиноидов по видам располагается в следующий ряд в порядке убывания: лук шнитт Альбион > лук слизун Лидер > лук шнитт Медонос > лук душистый Пикантный > лук алтайский Альвес > лук косоного Новичок > лук душистый Априор > лук косоного Великан > лук краснеющий Чародей.

Интенсификация культивирования пурпурной несерной бактерии *Rhodopseudomonas palustris* и подбор условий хранения биомассы

Старыгина П.^{1*}, Чудакова О.¹, Кондратьева Т.², Черкасов Р.², Цыганков А.¹

¹Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

²Компания ООО «Смарт гигиена», Большой бульвар, 42, тер-рия Инновационного центра Сколково

*e-mail: staryginapolina@yandex.ru, тел. +7 (4967) 732791

Пурпурные бактерии – фотосинтезирующие прокариоты, которые преобразуют световую энергию в химическую в процессе аноксигенного фотосинтеза. Благодаря достаточно подвижному метаболизму, пурпурные несерные бактерии способны использовать широкий спектр органических соединений для роста в фото- и хемогетеротрофных условиях, многие из них устойчивы к органическим и азотным загрязнениям, высокой солености, низким температурам [1, 2]. Этими свойствами обусловлено использование пурпурных несерных бактерий, в частности, *Rhodopseudomonas (Rps.) palustris* в биотехнологических процессах, таких как очистка сточных вод, фильтрация воды в системах замкнутого водоснабжения, получение аминокислот.

Целью данной работы являлись подбор условий культивирования и способа хранения биомассы *Rps. palustris*. В качестве режима культивирования был выбран продленный периодический способ с подпиткой культуры титрующей средой. Первоначально в титрующей среде использовались концентрации питательных веществ, подобранные для интенсивного культивирования *Cereibacter sphaeroides* [3]. Затем, основываясь на анализе компонентов культуральной жидкости, которая отбиралась из реактора по мере роста культуры, состав среды был пересчитан в соответствии с потреблением веществ. Также изучалось влияние парциального давления кислорода (pO_2). Выращивания проводили при pO_2 1%, 5% и 20%. Было установлено, что конечная оптическая плотность (ОД) культуры, как и вес высушенных клеток не зависят от значения pO_2 , в отличие от скорости роста культуры и времени ее культивирования. Минимальное время культивирования составило 121 час при pO_2 равном 5%. В результате интенсификации удалось получить 19,4 г/л высушенных клеток при ОД 65 опт.ед., что на 33% и 35% больше первоначальных результатов соответственно.

Были подобраны оптимальные условия замораживания биомассы с сохранением максимального титра колониеобразующих единиц (КОЕ). Установлено, что при замораживании с контролируемой скоростью ($-1^\circ\text{C}/\text{мин}$) до -72°C и помещением биомассы в морозильную камеру при -20°C титр КОЕ уменьшался в 1,3 раза. Замораживание в жидком азоте показало уменьшение КОЕ в 2,5 раза. Таким образом, показано, что наибольшее количество жизнеспособных клеток сохраняется при замораживании биомассы при -20°C . Кроме того, этот метод является наиболее экономичным и менее трудоемким. Обнаружено, что титр КОЕ при хранении биомассы при -20°C в течение 42 дней практически не изменился. Изучено влияние ряда криопротекторов (пептон, обезжиренное молоко, альгинат/сахароза, альгинат/маннитол) на титр КОЕ при лиофилизации биомассы. Показано, что как с криопротекторами, так и без них титр КОЕ уменьшился примерно в 15 раз.

Работа выполнена в рамках ГЗ № 122041200039-0 (Интенсификация культивирования *Rps. palustris*) и договора №129 от 23.12.2021 в рамках гранта ФГБУ «Фонд содействия инновациям» 4231Гс1/70493 от 27.10.2021.

1. Lu G. Bio-conversion of pb from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment: a review *Bioresour. Technol.*, -2019-Т.278, P. 383-399.

2. Hülsen T., Hsieh K., Batstone D. J. Saline wastewater treatment with ppb // *Water research.* – 2019. – Т. 160. – P.259-267.

3. Старыгина П. А. Интенсификация культивирования *Cereibacter sphaeroides* ВКМ В-3534D–продуцента бхл а / П.А. Старыгина, А.Н. Хуснутдинова, О.О. Чудакова, А.А. Цыганков // *Материалы IX съезда РФО – 2021– С. 109.*

Влияние дополнительного рис-оперона на синтез бактериохлорофилла *a* клетками *Cereibacter sphaeroides*

Чудакова О.*, Васильева Л., Лауринавичене Т., Старыгина П., Цыганков А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: *Chuda94@yandex.ru*, тел. 8 (4967) 732791

Получение большого количества бактериохлорофилла *a* (БХл *a*) является актуальной задачей современной биотехнологии. Его производные считаются перспективными фотосенсибилизаторами для использования в фотодинамической терапии [1]. Пурпурные несерные бактерии синтезируют БХл *a* в больших количествах и имеют удивительную гибкость метаболизма. Они способны расти как в аэробных условиях в темноте, так и в анаэробных условиях либо при освещении, либо в темноте за счет брожения. БХл *a* у пурпурных несерных бактерий находится преимущественно в светособирающих комплексах (ССК). Известно, что у бактерий белки ССК кодируются в рис-опероне [2]. Цель данной работы заключалась в создании мутантного штамма пурпурной несерной бактерии *Cereibacter (C.) sphaeroides* с дополнительным рис-опероном и оценке влияния данной мутации на синтез БХл *a* в анаэробных условиях при освещении и в темноте. Бактерия *C. sphaeroides* была выбрана в связи с высокой продукцией БХл *a*, что было показано в наших предыдущих работах [3]. Предполагалось, что увеличение синтеза белков, составляющих основу ССК, может привести к увеличению количества ССК и, как следствие, к увеличению количества БХл *a* в клетках. Мутация заключалась в вырезании целого рис-оперона *C. sphaeroides* с собственным промотором и помещением его в плазмиду pRKM-415 для дальнейшего встраивания в клетки *C. sphaeroides* штамм ВКМ В-3534D методом конъюгативного переноса. Поддерживание и выращивание штамма, полученного в лаборатории первичных процессов фотосинтеза ИФПБ РАН, проводили на среде Ормеруда с канамицином (25 мг/л).

Влияние интенсивности света на синтез БХл *a* исследовали в фототрофных анаэробных условиях. Для этого культивирование родительского и рекомбинантного штаммов проводили при интенсивности света 40 Вт/м², 25 Вт/м², 5 Вт/м², а также в темновых условиях. В культурах измеряли конечную оптическую плотность (ОП) и содержание БХл *a*. Было обнаружено, что изменение интенсивности света при выращивании как родительского, так и рекомбинантного штаммов не приводит к изменению конечной ОП культур, которая составляет 2,65 опт. ед. Установлено, что снижение интенсивности света приводит к повышенному накоплению БХл *a*. У родительского штамма при 40, 20 и 5 Вт/м² содержание БХл *a* составляет 4,86, 6,21 и 12,5 мкг/мл, а у мутантного – 5,72, 5,46 и 10,38 мкг/мл соответственно. В темновых условиях как конечная ОП, так и содержание БХл *a* у мутантного и родительского штаммов также практически совпадают. Из полученных результатов можно сделать вывод, что внесение дополнительных генов рис-оперона в клетки не приводит к увеличению содержания БХл *a* в фототрофных и темновых анаэробных условиях. Влияние дополнительного рис-оперона на синтез БХл *a* в темновых аэробных условиях является предметом дальнейших исследований.

Работа выполнена в рамках ГЗ № 122041200039-0.

1. Grin M.A., Suvorov N.V., Mironov A.F. Natural chlorins as a promising platform for creating targeted theranostics in oncology. *Mendeleev Communications*, 2020, 30(4), 406–418.
2. Nagashima S., Nagashima K.V.P. Comparison of photosynthesis gene clusters retrieved from total genome sequences of purple bacteria. *Advances in Botanical Research*, 2013, 66, 151–178.
3. Старыгина П.А., Хуснутдинова А.Н., Чудакова О.О., Цыганков А.А. Интенсификация культивирования пурпурной несерной бактерии *Cereibacter sphaeroides* ВКМ В-3534D – продуцента бактериохлорофилла *a*. *Материалы IX съезда Российского фотобиологического общества Всероссийской конференции "Современные проблемы фотобиологии"*, 2021, С.109.

Секция «Искусственные преобразователи солнечной энергии на основе фотосинтетических реакционных центров и альтернативная энергетика»

Исследование водород-продуцирующей способности некоторых штаммов цианобактерий

Бозиева А.^{1*}, Хасимов М.², Волошин¹, Синетова М.¹, Куприянова Е., Жармухамедов С.², Аллахвердиев С.^{1,2}

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН;

²Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: ayshat2696@mail.ru, тел. +7(928)6908326

В результате истощения мировых запасов ископаемого топлива, являющегося невозполнимым энергоносителем для классической энергетика, перед человечеством встает задача найти и научиться эффективно использовать новые источники энергии и энергоносители. Одним из претендентов на роль такого энергоносителя является водород (H₂). Водород - экологически чистый и возобновляемый источник энергии, он обладает высокой энергоемкостью и может быть использован в топливных элементах. В настоящее время известны различные пути получения водорода, но наиболее привлекательными с точки зрения экологичности являются биологические пути, основанные на использовании фототрофных микроорганизмов (цианобактерий, микроводорослей). Интерес к фототрофным микроорганизмам обусловлен их способностью к более быстрому накоплению биомассы, а также относительной простотой культивирования. В ходе данной работы исследована способность к выделению водорода следующих штаммов цианобактерий: *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200, *Dolichospermum* sp. IPPAS B-1213, *Sodalinema gerasimenkoae* IPPAS B-353 из коллекции цианобактерий и микроводорослей IPPAS ИФР РАН. В качестве положительного контроля выбран штамм *Synechocystis* sp. PCC 6803 GT-L с описанной в литературе гидрогеназной активностью [1]. Оценено влияние различных концентраций DCMU на скорость выделения водорода. В темновых анаэробных условиях водород-продуцирующая способность была выявлена у штаммов *S. gerasimenkoae* IPPAS B-353 и *Synechocystis* sp. PCC 6803 GT-L, а в условиях искусственного освещения - у *Synechocystis* sp. PCC 6803 GT-L, *Dolichospermum* sp. IPPAS B-1213 и *Cyanobacterium* sp. IPPAS B-1200. В ходе данного эксперимента для исследуемых штаммов получены следующие максимальные значения концентраций водорода: для контрольного штамма *Synechocystis* sp. PCC 6803 GT-L – 0,72 мкмоль H₂(мг Хл*ч)⁻¹ (через 24 часа темновой инкубации в присутствии 20 мкМ DCMU); *S. gerasimenkoae* IPPAS B-353 – 0,45 мкмоль H₂(мг Хл*ч)⁻¹ (через 24 часа темновой инкубации в присутствии 30 мкМ DCMU); *Dolichospermum* sp. IPPAS B-1213 – 4,24 мкмоль H₂(мг Хл*ч)⁻¹ (через 24 часа инкубации на свету в присутствии 20 мкМ DCMU). Полученные значения соотносятся с литературными данными для других штаммов цианобактерий [2] и свидетельствуют о необходимости и перспективности дальнейших исследований в данном направлении. Отдельной задачей представляется поиск путей повышения эффективности процесса выделения водорода фототрофной биомассой.

Результаты получены в рамках государственного задания Минобрнауки и высшего образования Российской Федерации (121033000136-14) и при поддержке Российского научного фонда (грант 19-14-00118).

1. Kossalbayev B.D., Tomo T., Zayadan B.Z., Sadvakasova A.K., Bolatkhan K., Alwasel S., Allahverdiev S.I. Determination of the potential of cyanobacterial strains for hydrogen production. *Int J Hydrog Energy* 2020; 45(4):2627-2639.

2. Allahverdiyeva Y., Leino H., Saari L., Fewer D.P., Shunmugam S., Sivonen K., Aro E-M. Screening for biohydrogen production by cyanobacteria isolated from the Baltic Sea and Finnish lakes. *Int J Hydrog Energy* 2010; 35:1117-1127.

Influence of Forest Stands and Ways of Wood Use on the Stock of C-CO₂ from the Earth's Atmosphere

Bulatkin G.

Institute of Basic Biological Problems RAS

e-mail: genbulatkin@yandex.ru

According to the FAO [1], the world's forests store 662 billion tons of carbon, of which 44.5% is biomass. In the Paris Climate Agreement, forests play a major role in reducing CO₂ levels in the atmosphere. During the growing season, managed forest stands absorb a huge amount of CO₂, ten times greater than emissions due to direct and indirect costs of technical energy [2]. The generally accepted calculation of C-CO₂ fluxes in forests leads to the conclusion that with an increase in planting area and their productivity, the runoff of carbon dioxide from the atmosphere increases sharply. Based on this approach, country-by-country carbon balances are compiled and emissions trading is proposed. However, further, deeper consideration of the fate of wood in time leads to a different conclusion. We have developed a methodology and proposed a new three-stage method for calculating the C-CO₂ balance when growing forests and using wood. The mode of use of industrial wood is essential in the release of carbon dioxide into the atmosphere. The service life of buildings made of wood fluctuates slightly and averages about 50 years. After this period of time, buildings are usually dismantled, the remains of wood are either burned or partially used for a short time on the farm. Thus, the positive impact of forest planting on reducing the concentration of carbon dioxide in the atmosphere when wood is used only in construction will not be significant due to the short period of operation of structures. Eventually, the former timber will rot and turn back into CO₂. Part of the wood is used to make paper, cardboard, plywood, and furniture. However, these materials and products have a short life span. First of all, paper and cardboard are consumed. Furniture usually lasts no more than 25 years.

Thus, the initial large carbon sink with industrial wood leads to a temporary (up to 150 years) removal of CO₂ from the atmosphere. The long-term cycle of C-CO₂ in the system atmosphere - green plants - industrial

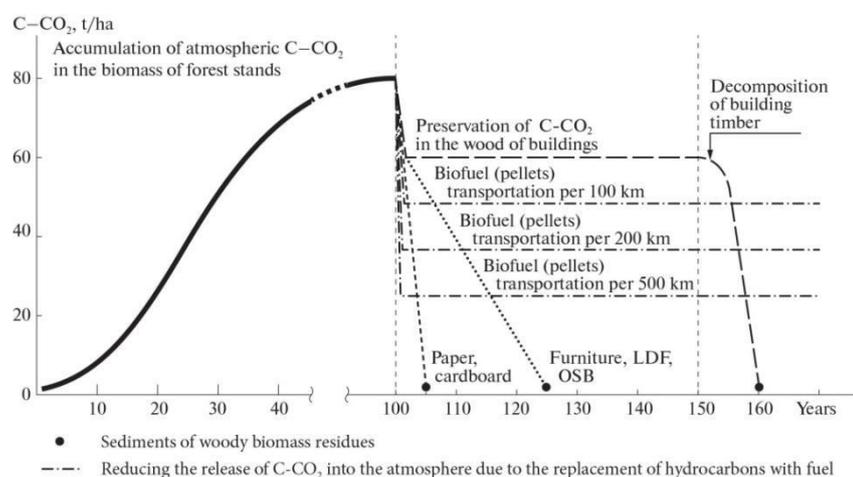


Figure. Diagram of a three-stage method for calculating the balance of C-CO₂ in the atmosphere when growing forests and using wood

wood - man-made buildings dust- the atmosphere ends only with a small positive balance. It is known that only a small part – 0.8-1.0% of the organic matter synthesized by plants enters the large geological cycle, transforms and is preserved for millions of years [3, 4]. *There is a highly effective way of using forest plantations to regulate the content of carbon dioxide in the atmosphere.* This path is the use of a part of the wood for energy production and the replacement of fossil hydrocarbons. Indeed, when wood is used for energy, biomass carbon burns out and also enters the atmosphere in the form of CO₂. In this case, carbon dioxide does not replenish the pollutant pool. C-CO₂ simply recirculates. It is important to take into account that the transportation of biofuel from wood over long distances significantly reduces its energy efficiency and increases C-CO₂ emissions into the atmosphere.

1. Global Forest Resources Assessment 2020. Main report. FAO: Rome, Italy. 2021. 184 p.
2. Bulatkin G.A. Assessment of the impact of managed forests on the balance of carbon dioxide in the Earth's atmosphere // *Life of the Earth*. 2021. №1. V. 43. P. 54-66.
3. Kovda V.A. Fundamentals of the doctrine of soils. Book 1. M.: Science. 1973. 447 p.
4. Alpatiev A.M. Development, transformation and protection of the natural environment. L.: Science. 1983. 239 p.

Пути переноса электронов в фотоэлектрохимической ячейке, содержащей тилакоидные мембраны

Волошин Р.^{1*}, Кулакова Д.¹, Жармухамедов С.², Аллахвердиев С.^{1,2}

¹Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН;

²Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: voloshinr@ifr.moscow, тел. +7(928)6908326

В нативных тилакоидных мембранах происходит фотоиндуцированный перенос электронов от молекулы воды к молекуле НАДФН, а также реализуется перенос электронов по циклическому и псевдоциклическому механизмам. При инкорпорировании тилакоидных мембран в биогибридный электрод, путь переноса электронов изменяется. В фотоэлектрохимических ячейках с фотоанодом на основе наноструктурированного слоя диоксида титана, сенсibilизированного тилакоидными мембранами, конечным акцептором электронов является TiO_2 . При этом, первичный донор электронов определяется типом электролита, опосредующего перенос зарядов между электродами. В литературе описаны ячейки, в которых фотоэлектрод погружен в электролит на основе ионов йода. При рассмотрении данных систем возникает вопрос о роли кислород-выделяющего комплекса (КВК) в переносе зарядов, поскольку вода не требуется для работы ячейки.

Мы анализировали работу донорной стороны фотосистемы 2 в фотоэлектрохимической ячейке. Для этого были получены ячейки, сенсibilизированные тилакоидными мембранами, лишенными кислород-выделяющего комплекса. Тилакоидные мембраны для сенсibilизации были выделены из листьев шпината. Для удаления КВК применялась последовательная обработка препаратов хлоридом кальция и, затем, гидроксиламином и ЭДТА. Успешность удаления КВК и сохранение функции фотоиндуцированного разделения зарядов в фотосистемах подтверждалась полярографическим и флуориметрическим методами.

Фотоэлектрохимические ячейки, на основе препаратов без КВК генерировали существенно более слабый фототок в сравнении с контрольными ячейками (~10 нА против ~50 нА). Данный результат может являться следствием быстрого разрушения безмарганцевых мембран в процессе иммобилизации.

Результаты получены в рамках государственного задания Минобрнауки и высшего образования Российской Федерации (121033000136-14) и при поддержке Российского научного фонда (грант 19-14-00118).

Макропористые электроды из диоксида титана, сенсibilизированные антоцианами для эффективной иммобилизации ФСII

Доронин И.^{1*}, Бушнев С.¹, Ежова А.², Парунова Ю.¹, Плохих К.¹, Василев Р.¹

¹НИИ «Курчатовский институт»

²МИРЭА-Российский технологический университет

*e-mail: *idoronin@yandex.ru*, тел. +7 (926) 1256680

Способность фотосистемы II(ФСII) расщеплять воду за счёт света делает возможным создание систем, продуцирующих водород на её основе. Использование пористых электродов позволяет увеличить количество иммобилизованного комплекса и соответственно многократно увеличить плотность тока [1]. Для продукции водорода без внешнего напряжения только за счёт света необходимо использовать Z – схему.[2] При этом данную схему можно реализовать, используя в качестве анода полупроводник с соответствующей шириной запрещённой зоны или сенсibilизированный широкозонный полупроводник.[3]

В настоящей работе использовался малиновый экстракт, содержащий антоцианы, для сенсibilизации пористых электродов из наночастиц TiO₂. Поры диаметром 1 мкм были получены с помощью сфер из полиметилметакрилата и наночастиц TiO₂ (80% анатаз) диаметром 21 нм на поверхности FTO. На полученные электроды наносился раствор ФСII из мезофильных цианобактерий *Synechocystis 6803* [4] с проводящим полимером PEDOT-PSS. Были опробованы различные способы нанесения и соотношения концентраций ФСII и PEDOT-PSS с использованием растворимых медиаторов и без.

Структура пористых электродов была исследована с помощью сканирующей электронной микроскопии. Полученные изображения свидетельствуют о том, что полученные поры связаны воедино. Количество иммобилизованной ФСII было определено с помощью УФ-видимой спектроскопии и составило 60 пмоль см⁻². Электроды с иммобилизованной ФСII были охарактеризованы с помощью хроноамперометрии в трёхэлектродной ячейке со ступенчатым изменением потенциала. Было показано, что добавление диметилбензохинона не оказывает значительного влияния на плотность фототока. При использовании PEDOT-PSS для переноса электронов от ФСII к аноду плотность тока увеличивается в два раза и достигает 30 мкА см⁻², что сравнимо эффектом полимеров на основе Os.[3] Использование ФСII вместе с TiO₂, сенсibilизированным антоцианами позволяет эффективно использовать солнечный свет, поскольку антоциан имеет пик поглощения 520 нм и соответственно слабо перекрывается со спектром поглощения ФСII. Полученный фотоанод может использоваться для эффективной фотоэлектрохимической продукции водорода.

1. Bricker TM, Morvant J, Masri N, Sutton HM, Frankel LK. Isolation of a highly active Photosystem II preparation from *Synechocystis 6803* using a histidine-tagged mutant of CP 47 // *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1998. Vol. 1409, № 1. P. 50–57.

2. Dau H, Zaharieva I. Principles, efficiency, and blueprint character of solar-energy conversion in photosynthetic water oxidation // *Acc. Chem. Res.* 2009. Vol. 42, № 12. P. 1861–1870.

3. Sokol KP, Mersch D, Hartmann V, Zhang JZ, Nowaczyk MM, Rögner M, Ruff A, Schuhmann W, Plumeré N, Reisner E. Rational wiring of photosystem II to hierarchical indium tin oxide electrodes using redox polymers // *Energy Environ. Sci.* 2016. Vol. 9, № 12. P. 3698–3709.

4. Sokol KP, Robinson WE, Warnan J, Kornienko N, Nowaczyk MM, Ruff A, Zhang JZ, Reisner E. Bias-free photoelectrochemical water splitting with photosystem II on a dye-sensitized photoanode wired to hydrogenase // *Nat. Energy.* Springer US, 2018. Vol. 3, № 11. P. 944–951.

Фотосенсибилизированные димером хлорофилла в белках семейства WSCP редокс-реакции с участием экзогенных доноров и акцепторов электрона

Неверов К.^{1,2}, Обухов Ю.^{1,2}, Малеева Ю.², Крицкий М.¹

¹Институт биохимии им. А. Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук;

²Биологический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова
e-mail: *neverovk@mail.ru*

Водорастворимые хлорофилл (Хл)-связывающие белки (Water Soluble Chlorophyll-binding Proteins, WSCP) высших растений, в отличие от пигмент-белковых комплексов фотосинтетического аппарата, не связаны с мембранными структурами, локализованы вне хлоропластов и не участвуют в фотосинтезе. Тетрамерные холоформы WSCP несут до 4-х молекул Хл *a* (или Хл *a* + Хл *b*), которые упакованы в виде двух димеров. Подобную димерную организацию в реакционных центрах (РЦ) растений и фотосинтетических бактерий имеет «специальная пара» (бактерио)хлорофиллов, выполняющая роль донора электрона в первичном фотохимическом акте. Несмотря на обнаруженную ранее фотогенерацию возбужденного триплетного состояния Хл в WSCP, способность WSCP фотоиндуцировать реакции переноса электрона изучена не была.

Для выяснения способности WSCP к индукции фотохимических реакций, нами было изучено взаимодействие собранных *in vitro* холоформ WSCP классов Па и Пб с донорами и акцепторами электрона при облучении растворов красным светом, поглощаемым только Хл.

При облучении насыщенных воздухом растворов WSCP красным светом ($\lambda \geq 650$ нм, $I = 850$ мкЕ/м²с) наблюдалось эффективное окисление доноров электрона, НАДН или аскорбата. Скорость фотоокисления уменьшалась при добавлении NaN₃ – тушителя триплетного состояния и синглетного кислорода (¹O₂). Константа скорости фотоокисления НАДН заметно не отличалась для WSCP классов Па (BoWSCP) и Пб (LvWSCP). В бескислородных условиях фотоокисления НАДН и аскорбата не наблюдалось. В процессе фотоокисления доноров электрона амплитуда пика Хл в спектре поглощения, а также амплитуда димера Хл в спектрах кругового дихроизма падали незначительно (до 10% за 15 мин экспозиции), что указывает на значительную фотоустойчивость как самого Хл в WSCP, так и его димерной структуры к активным формам кислорода. Кинетика фотоокисления аскорбата при облучении BoWSCP была выше, чем НАДН, хотя последний является более сильным восстановителем. Это может указывать на разную эффективность окисления доноров электрона синглетным кислородом.

Облучение WSCP в присутствии цитохрома С в бескислородной среде приводило к восстановлению цитохрома, детектируемое по росту его пика поглощения при 550 нм. Константа скорости фотовосстановления цитохрома С линейно зависела от концентрации цитохрома, что говорит о прямом взаимодействии цитохрома С с фотовозбужденным димером Хл в WSCP. Молярное соотношение фотовосстановленного цитохрома к фотоокисленному Хл в WSCP составляло 2,5-3 : 1, что указывает на то, что электроны поступают на цитохром в основном не от Хл, а от других источников, возможно – аминокислотных остатков белка.

Обнаруженная в данном исследовании фотосенсибилизирующая активность димера Хл в WSCP открывает перспективу как для разработки нового поколения нанобиосенсоров и фототерапевтических препаратов, так и для создания на базе этих белков моделей эволюционных прототипов раннего фотосинтеза.

Работа поддержана фондом РФФ (грант № 21-74-20155).

Влияние дефектов периодической структуры хлоропласта на поглощение света

Панкин П.^{1,2*}, Шабанов А.¹, Максимов Д.^{1,2}, Наболь С.^{1,2}, Бузин Д.^{1,2}, Краснов А.^{1,2}, Романенко Г.^{1,3}, Сутормин В.^{1,2}, Гуняков В.¹, Зеленев Ф.^{4,3}, Масюгин А.^{4,3}, Вяткин В.⁵, Немцев И.^{1,2,5}, Волочаев М.^{1,3}, Ветров С.^{1,2}, Тимофеев И.^{1,2}

¹Институт физики им. Л.В. Киренского ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск;

²Сибирский федеральный университет, г. Красноярск;

³Сибирский университет науки и технологии им. Решетнёва, г. Красноярск;

⁴АО «НПП «Радиосвязь», г. Красноярск;

⁵ФИЦ КНЦ СО РАН, 660036, г. Красноярск

*e-mail: *p.s.pankin@mail.ru*, тел. +7 (923) 3346479

Анализ микрофотографий иридопластов [1] и хлоропластов [2,3] растений показывает наличие в них структур, которые можно рассматривать как фотонный кристалл с дефектом [4], причем пространственное положение дефектного слоя в структуре может быть несимметричным. Благодаря наличию дефекта свет может локализоваться на нём, что проявляется в оптических спектрах структуры в виде резонансов, соответствующих дефектным модам. Молекулы хлорофилла, распределенные в структуре, позволяют обеспечить резонансное поглощение света за счет увеличения плотности энергии электромагнитного поля на длине волны дефектной моды. Расчеты, выполненные методом трансформатрицы, показывают, что величина поглощения света и плотность электромагнитного поля на длине волны дефектной моды зависят от пространственного положения дефекта. Точные численные расчеты были объяснены на основе временной теории связанных мод [5], в рамках которой была решена задача резонансного поглощения в несимметричной структуре. Для проведения модельного эксперимента была изготовлена серия образцов фотонных кристаллов с поглощающим дефектным слоем, положение которого варьировалось. Измерения спектров отражения и пропускания структуры подтвердили теоретические выводы.

Работа была поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук (грант № МК-4012.2021.1.2).

1. M. Jacobs et al., Nature Plants, V. 2, 16162, (2016).
2. N. J. Masters et.al., Journal of the Royal Society Interface, V.5(148), 20180559, (2018).
3. E. R. Bukhanov et.al., Plants, V. 10(9), 1967, (2021).
4. А.В. Шабанов и др., Комп. оптика, Т.43(2), С.231-237, (2018).
5. S. Fan et. al., JOSA A, V. 20(3), P. 569-572 (2003).

Экранирование С-концевым фрагментом Fe-S кластера HydSL гидрогеназы *Thiocapsa bogorovii* от различных ингибиторов.

Стародубов А.*, Зорин Н., Хасимов М., Цыганков А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: alexkex3@gmail.com, тел. 89054806780.

В практическом плане определение пределов устойчивости гидрогеназы к денатурирующему действию различных факторов, включая ионы тяжелых металлов, необходимо для оценки возможности применения этого фермента, например, для разработки новых типов водородных топливных элементов. Действие ионов тяжелых металлов влияет на активность и структуру многих ферментов, включая гидрогеназу. Например, ионы серебра оказывают сильное токсическое действие на многие белки. [2].

Наши эксперименты показали, что в присутствии 5 мМ AgNO₃ степень ингибирования гидрогеназы достигала более 90% в течение 20 мин. Полное удаление ионов серебра из раствора не приводило к восстановлению активности, что говорит о необратимом характере ингибирования. Железосерные кластеры в составе гидрогеназы имеют характерное поглощение в области 410 нм [3]. После инкубации гидрогеназы *T. bogorovii* с 5 мМ Ag⁺ выцветание полосы поглощения при 410 нм не происходит. Можно предположить, что ион серебра замещает один атом железа в железосерном кластере гидрогеназы, как и в случае ферредоксина *Pyrococcus furiosus* [4], что приводит к образованию гибридного AgFe₃S₄ кластера. Действие ионов серебра на гидрогеназу с усеченной на 54 аминокислоты с-концевой последовательностью, полученной из мутантного штамма *T. bogorovii* Δ54-6His было более эффективным по сравнению с гидрогеназой из родительского штамма. Значительный ингибиторный эффект нитрата серебра проявлялся уже при концентрации 0,5 мМ. В этой гидрогеназе отсутствует с-концевой остаток, содержащий 54 аминокислоты. Вполне возможно, что этот с-концевой остаток экранирует проникновение Ag⁺ в белковую глобулу молекулы гидрогеназы и снижает эффективность действия этого ингибитора. Для проверки этого предположения были проведены дополнительные исследования гидрогеназы из мутанта Δ54-6His и родительского штамма *T. bogorovii*. Сравнительное исследование зависимости активности гидрогеназы из родительского штамма и мутанта от температуры показывает практически полное совпадение кривых. Это указывает на сохранение каталитических параметров фермента при удалении с-концевого остатка и, следовательно, сохранение нативной структуры активного центра у фермента из мутантного штамма. На полное сохранение белковой глобулы подтверждает и сравнительное изучение термостабильности гидрогеназы из родительского штамма и мутанта в широком диапазоне температуры. Значительная инактивация фермента как из родительского штамма, так из мутанта Δ54-6His при 10 минутном прогревании наблюдается при температуре выше 80 °С. Эти данные свидетельствуют об одинаковом действии теплового шока на фермент как из родительского штамма, так и из мутанта. Таким образом удаление с-концевого фрагмента не приводит к изменению стабильности и, следовательно, белковой глобулы гидрогеназы, но может увеличивать доступность металлсодержащих центров к действию ионов серебра. Действие Ag⁺ на HydSL гидрогеназу *T. bogorovii* приводит к трансформации железосерных кластеров, разрушению NiFe-активного центра и нативной структуры фермента.

Работа поддержана Российским научным фондом № 19-14-00255П (<https://rscf.ru/project/19-14-00255/>).

1. Зорин Н.А., Стародубов А.С., Цыганков А.А. // Прикл. биохимия и микробиология. 2020. Т. 56. № 1. С. 135-140.
2. Задворный О.А., Зорин Н.А., Гоготов И.Н. // Биохимия. 2000. Т. 65. № 11. С. 1525-1529.
3. Kamachi T., Uno S., Hiraiishi T., Okura I. // J. Mol. Catal. A: Chemical. 6. Martic M., Jacab-Simon I. N., Naahr L.T., Hagen W.R., Christensen H.E.M. // J. Biol. Inorg. Chem. 2013. V.18. P. 261-276.
4. Martic M., Jacab-Simon I. N., Naahr L.T., Hagen W.R., Christensen H.E.M. // J. Biol. Inorg. Chem. 2013. V.18. P. 261-276.

Анализ центральных метаболических путей пурпурной серной бактерии *Thiocapsa bogorovii* на основе функциональной аннотации геномной последовательности

Хасимов М., Петушкова Е., Стародубов А., Цыганков А.*

Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»

*e-mail: ttt-00@mail.ru, тел. +7 (496) 7732791

Фототрофная пурпурная серная бактерия *T. bogorovii* BBS семейства *Chromatiaceae* была выделена в 1969 году из эстуария Белого моря [1]. Недавно был получен и опубликован полноразмерный геном *T. bogorovii* BBS (GenBank: CP089309.1). Это позволило уточнить систематическое положение бактерии и подтвердить правомерность выделения бактерии в новый типовой вид рода *Thiocapsa*, как ранее предложено Туровой и соавторами [2]. Целью данной работы было уточнение автоматической аннотации полноразмерного генома бактерии *T. bogorovii* BBS и определение месторасположения генов изученных белков в геноме бактерии. Для этого были использованы возможности функциональной аннотации генов в базе данных KEGG, программное обеспечение для online анализа генома Subsystem Technology (RAST; version 2.0), проведен сравнительный анализ с геномом пурпурной серной бактерии *Alc. vinosum*, ручной поиск некоторых генов с помощью алгоритма tBlastn. В результате в геномной ДНК были выявлены и ассоциированы с функцией гены, детерминирующие функционирование центральных метаболических путей *T. bogorovii*. Для фиксации CO₂ с участием RuBisCO ДНК у бактерии есть две копии green-like формы I RuBisCO. Гены расположены на большом расстоянии друг от друга и их окружение различно. В одном случае ген окружен белками активации RuBisCO, в другом непосредственно за структурными генами RuBisCO находятся гены, кодирующие карбоксисомные белки и регулятор транскрипции оперона RuBisCO. Карбоксисомы не только концентрируют CO₂, но и обеспечивают защиту RuBisCO от O₂, так как O₂ может конкурировать с CO₂ за его сайт связывания. Однако на сегодняшний день в литературе нет данных об обнаружении карбоксисом в клетках бактерии. В геноме также присутствует ген, относящийся к IV типу RuBisCO-like белков, не участвующих в фиксации CO₂. Согласно KEGG pathway *T. bogorovii* имеет гены, кодирующие все ферменты, необходимые для функционирования цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и гены глиоксилатного шунта. Из ранних работ известно, что *T. bogorovii* имеет восстановительный ЦТК, что подтверждается данными генома, при этом цикл разомкнут в виду отсутствия генов ферментов необходимых для замены необратимой цитратсинтазы, работающей в окислительном ЦТК. Для синтеза и распада углеводов до фосфоенолпирувата, пирувата и ацетил-КоА в геноме *T. bogorovii* присутствуют гены пути Эмбдена-Мейергофа, окисления пирувата и глюконеогенеза. Путь Энтера-Дудорова не имеет генетического потенциала для функционирования в *T. bogorovii*. Проведен ручной поиск генов гидрогеназ, определено их расположение в геномной последовательности бактерии. Выявлены гены цитохром bd и цитохром cbb3 оксидаз, необходимые для хемотрофного роста бактерии в присутствии кислорода.

Способность фиксировать молекулярный азот обеспечивается двухкомпонентным Мо-содержащим нитрогеназным комплексом nifHDK. *T. bogorovii* не имеет части генов, необходимых для ассимиляционной нитратредукции, денитрификации и нитрификации, но имеет предпосылки для диссимиляционной нитратредукции. Бактерия не имеет генетического потенциала для ассимиляционной сульфатредукции, но обладает необходимыми генами для диссимиляционной сульфатредукции и окисления тиосульфата с помощью SOX-комплекса.

Работа поддержана Российским научным фондом № №19-14-00255-П (<https://rscf.ru/project/19-14-00255/>).

1. Богоров Л.А. О свойствах *Thiocapsa roseopersicina* штамм BBS, выделенного из эстуария белого моря. // Микробиология, 1974;43:326-333.

2. Tourova, T., Keppen, O.I., Kovaleva, O.L., Slobodova, N.V., Berg, I.A., and Ivanovsky, R., Phylogenetic characterization of the purple sulfur bacterium *Thiocapsa* sp. BBS by analysis of the 16S rRNA, cbbL, and nifH genes and its description as *Thiocapsa bogorovii* sp. nov., a new species, Microbiology (Moscow), 2009, vol. 78, pp. 339–349.

Теоретическая оценка ресурсного потенциала биомассы микроводорослей для производства биотоплива и связывания углерода

Чернова Н.*, Киселева С.

НИЛ ВИЭ географического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

*e-mail: chernova_nadegda@mail.ru

В настоящее время в мире уделяется большое внимание методам снижения выбросов CO₂ в атмосферу, что отражается в концепции низкоуглеродной экономики. Плантации микроводорослей (МКВ) служат эффективным краткосрочным стоком антропогенного CO₂, поэтому водорослевые технологии рассматриваются среди существующих стратегий улавливания и хранения CO₂. Поскольку проблема высоких затрат на выращивание МКВ и низкой конкурентоспособности продуктов из них остается актуальной, большое значение имеет выбор территорий (регионов), обеспечивающих наиболее благоприятные природные и инфраструктурные условия для их производства и, следовательно, снижение себестоимости.

Наиболее низким по себестоимости продукции и широко используемым способом является открытое культивирование МКВ. На основе собственных многолетних лабораторных и натуральных экспериментов, а также анализа литературных источников обоснованы пороговые значения климатических факторов для открытого культивирования МКВ: падающая солнечная радиация не менее 4,0 кВтч/м²/сут., соотношение световой и темновой фаз не менее, чем 18:6, температура окружающей среды не ниже 15°C, уклон поверхности Земли – не более 5%; наличие источника термальных вод, пресной или морской воды, тип землепользования, исключающий территории в частной собственности, сельскохозяйственные, селитебные земли и особо охраняемые территории. Многофакторный анализ территории с использованием ГИС-технологий позволяет на основе предложенных пороговых значений выбирать площадки для открытых систем культивирования МКВ. Авторами проведена апробация методики для ряда регионов России и стран Средней Азии. На основе БД NASA POWER был собран массив данных о средних месячных температурах воздуха (на высоте 2 м), среднемесячных суточных суммах суммарной солнечной радиации и продолжительности светлого времени суток (пространственная детализация данных – 1°; период осреднения – 20 лет (1999-2019 гг.)). В качестве объекта исследований были рассмотрены МКВ родов *Dunaliella* и *Arthrospira*.

Выявлены районы Республики Дагестан и Узбекистана, потенциально пригодные для культивирования МКВ и производства со-продуктов с высокой добавленной стоимостью. Определен ресурсный потенциал указанных регионов, под которым понимается площадь территории, которая может быть использована для производства биомассы МКВ открытым способом в пределах заданного региона, и/или потенциальная годовая урожайность МКВ, и/или количество биотоплива, полученное на этой территории с помощью современных технологий конверсии биомассы. При размещении плантаций МКВ на площади 400 га (обоснованная с технико-экономической точки зрения площадь единичной плантации) в Дагестане (часть Прикаспийской низменности, включающая в себя Каякентский, Кизилюртовский и Докузпаринский административные районы) количество выращенной за вегетационный период биомассы (5 месяцев) составит 12 000 т, что в пересчете на бионефть, получаемой технологией гидротермального сжижения, – 4 800 т/год.

В Узбекистане на территории Каракалпакстана за вегетационный период (6 месяцев) может быть получено 14 400 т (по биомассе) или 5 760 т/год (по бионефти) из хлореллы или спирулины на той же площади 400 га. При выращивании дуналиеллы, урожайность которой существенно ниже (2-6 г/м²/сутки), потенциальная урожайность на той же площади составит в 3 – 10 раз меньше, а именно – 1 440–4 800 т/год (по биомассе) и потенциальное производство биотоплива из нее – 580–1900 т/год, соответственно.

Алфавитный указатель

- Аверчева Ольга Владимировна 7, 36
- Аллахвердиев Сулейман Ифхан Оглы 2, 4, 5, 11, 74, 76, 83, 85
- Ашихмин Александр Александрович 5, 10, 22, 24, 66, 67
- Балашов Николай Владимирович 10, 51, 53
- Бельшенко Александр Юрьевич 8, 52
- Беляева Наталья Евгеньевна 5, 23
- Бозиева Айшат Магомедовна 11, 83
- Большаков Максим Александрович 6, 10, 24, 30, 67
- Борисова-Мубаракшина Мария Мансуровна 4, 7, 9, 10, 37, 38, 40, 51, 53
- Булаткин Геннадий Александрович 9, 84
- Васильева Людмила Григорьевна 4, 5, 6, 10, 14, 27, 33, 34, 35, 82
- Ветошкина Дарья Васильевна 4, 8, 10, 37, 46, 51, 53
- Вечтомова Юлия Леонардовна 11, 71
- Вильянен Дарья Валентиновна 4, 7, 38, 40, 48
- Витухновская Лия Алексеевна 10, 17, 39
- Вишневская Анна Игоревна 10, 25, 31
- Власова Татьяна Анатольевна 8, 55, 72
- Волгушева Алёна Александровна 10, 56, 68
- Волошин Роман Александрович 11, 83, 85
- Гармаш Елена Владимировна 8, 57
- Дегтярёв Евгений Андреевич 11, 58, 70
- Дикарев Алексей Владимирович 9, 59
- Доронин Иван Андреевич 11, 86
- Заднепровская Елена Вадимовна 11, 74
- Иванов Борис Николаевич 2, 4, 5, 7, 37, 38, 40, 46, 47, 48, 49, 53
- Кабашникова Людмила Федоровна 7, 8, 60
- Киселева Софья Валентиновна 91

Кленина Ирина Борисовна 10, 26, 27

Коваленко Илья Борисович 7, 42

Козулева Марина Алексеевна 4, 7, 10, 31, 37, 38, 40, 46, 47, 48, 51

Косогова Татьяна Михайловна 9, 75

Крапивина Анастасия Алексеевна 11, 76

Кулакова Дарья Игоревна 11, 85

Ловягина Елена Рудольфовна 41

Лысенко Евгений Анатольевич 8, 61

Майорова Екатерина Владимировна 11, 77, 78

Максимов Евгений Георгиевич 5, 28

Мамедов Махир Джафар оглы 4, 6, 10, 17, 39

Маркин Роман Валерьевич 8, 47, 49

Милановский Георгий Евгеньевич 10, 25, 29, 31

Мотылева Светлана Михайловна 8, 62

Надеева Елена Михайловна 7, 46, 48

Надточенко Виктор Андреевич 4, 6, 10, 12, 13, 15, 29

Неверов Константин Викторович 9, 10, 29, 87

Павлова Елена Алексеевна 11, 63

Панкин Павел Сергеевич 9, 88

Пащенко Владимир Захарович 10, 30

Петрова Анастасия Александровна 5, 7, 10, 25, 31

Петушкова Екатерина Павловна 11, 77, 78, 90

Проскуряков Иван Игоревич 5, 9, 10, 26, 27

Птушенко Василий Витальевич 8, 11, 64, 65

Птушенко Оксана Сергеевна 11, 64, 65

Романова Анастасия Игоревна 9, 79

Руденко Наталья Николаевна 4, 7, 8, 46, 48, 49, 53

Савченко Татьяна Викторовна 4, 7, 8, 11, 58, 66, 70

Семенов Алексей Юрьевич 4, 6, 10, 12, 17, 25, 31, 39

Сердюк Ольга Петровна 10, 20, 67

Середин Тимофей Михайлович 9, 80

Слепнёва Валерия Олеговна 10, 68

Стародубов Александр Сергеевич 4, 11, 89, 90

Старыгина Полина Александровна 11, 81, 82

Строкина Валерия Владимировна 8, 69

Тебина Елизавета Михайловна 11, 70

Титова Мария Александровна 32

Тихонов Александр Николаевич 4, 6, 16

Тодоренко Дарья Алексеевна 10, 11, 54, 55, 56, 72

Третчикова Ольга Александровна 10, 33, 34

Тыщенко Анастасия Александровна 11, 71

Федорчук Татьяна Петровна 2, 4, 8, 10, 21, 47, 48, 49

Фуфина Татьяна Юрьевна 10, 27, 33, 34, 35

Хасимов Махмадйосуф Хусейнович 2, 4, 9, 11, 83, 89, 90

Христин Антон Михайлович 10, 34, 35

Христин Михаил Сергеевич 10, 43, 66

Хрущев Сергей Сергеевич 8, 11, 42, 54

Худякова Александра Юрьевна 8, 69, 73

Цыганков Анатолий Анатольевич 4, 5, 7, 11, 45, 78, 79, 81, 82, 89, 90

Черепанов Дмитрий Александрович 6, 10, 13, 15, 29

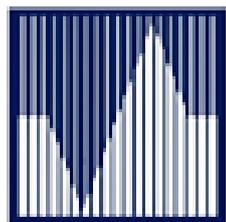
Чернова Надежда Ивановна 9, 91

Чудакова Ольга Олеговна 11, 81, 82

Шитов Александр Васильевич 6, 7, 19, 44

Шукшина Анна Константиновна 7, 50

Хоробрых Андрей Альфредович 6, 11, 18, 58, 66



ЛАБ Инструменты

Тел. +7(499)213-2652

+7(903)762-0296

sa@labinstruments.ru

www.labinstruments.ru

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ специализируется

на оборудовании для изучения растений и среды их обитания, а также для выращивания растений.

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ поставляет оборудование для:

- ботаники и физиологии растений,
- фотосинтеза и респирации,
- теплиц и агротехники,
- селекции и фенотипирования,
- мониторинга параметров окружающей среды (атмосфера / почва / вода / освещенность и др.)
- и многое другое!



[LI-250Q](#), LI-COR

В ассортименте компании ЛАБИНСТРУМЕНТЫ:

- ✓ [Системы измерения газообмена](#) растений и почв
- ✓ [Флуориметры](#) для измерения флуоресценции хлорофилла для работы с листьями и суспензиями
- ✓ [Приборы](#) для измерения респирации кислорода
- ✓ [Анализаторы](#) площади листьев и листового индекса
- ✓ [Анализаторы](#) морфологических параметров растений
- ✓ [Анализаторы](#) устьичной проводимости
- ✓ [Анализаторы](#) вегетационных индексов
- ✓ [Анализаторы](#) уровня содержания хлорофилла
- ✓ [Анализаторы](#) водного стресса растений
- ✓ [Анализаторы](#) качества плодов
- ✓ [Оборудование для выращивания](#) и культивирования растений
- ✓ [Станции фенотипирования](#) и сканеры для них
- ✓ [Датчики освещенности](#) и регистраторы сигнала к ним
- ✓ [и многое другое!](#)

Компания ЛАБИНСТРУМЕНТЫ представляет
 в России и странах СНГ ведущих производителей из США и Европы:

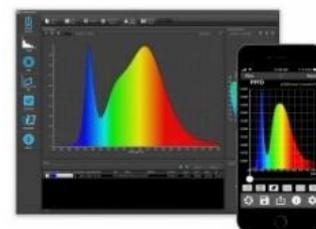
| | |
|-----------------------------------|--|
| LI-COR (США) | www.licor.com |
| WALZ (Германия) | www.walz.com |
| HANSATECH (Великобритания) | www.hansatech-instruments.com |
| CID BIO-SCIENCE (США) | www.cid-inc.com |
| FELIX INSTRUMENTS (США) | www.felixinstruments.com |
| PP SYSTEMS (США) | www.ppsystems.com |
| PHOTON SYSTEMS (Чехия) | www.psi.cz |
| QUBIT SYSTEMS (Канада) | www.qubitsystems.com |
| REGENT INSTR. (Канада) | www.regentinstruments.com |
| PMS INSTRUMENT (США) | www.pmsinstrument.com |
| FT GREEN LLC (США) | www.atleaf.com |
| STEVENS WATER (США) | www.stevenswater.com |



[LI-6800](#), LI-COR



[Oxytherm+](#), Hansatech



[LI-180](#), LI-COR



[LI-870SC](#), LI-COR



[DUAL-PAM-100](#), Walz



[LI-600PF](#), LI-COR

ООО «ЛАБИНСТРУМЕНТЫ»

119571, г. Москва, ул. ак. Анохина, д. 64А

Тел. +7(499)213-2652 (доб. 901), +7(903)762-0296

sa@labinstruments.ru

www.labinstruments.ru



Okabiolab

В С Ё Д Л Я Н А У К И

www.okabiolab.ru

Окабиолаб – надежный поставщик оборудования, мебели, реактивов, расходных материалов для исследовательских и производственных лабораторий. На протяжении 15 лет компания успешно работает на российском рынке, добросовестно выполняет свои обязательства перед клиентами несмотря на любые возникающие кризисы.

Главные принципы работы компании – индивидуальный подход к каждому клиенту, удобство в сотрудничестве, решение любых возникающих задач.

У нас вы можете приобрести отечественную и зарубежную продукцию – от пробирки до точного аналитического оборудования. Мы предложим различные варианты, подберём аналоги в зависимости от Ваших потребностей и предпочтений.

Окабиолаб является социально-ориентированной компанией, направляющей часть прибыли на развитие российского образования, популяризацию науки, поддержку молодёжных проектов. Сотрудничая с нами, Вы вносите свой вклад в решение этих важных задач.

Редакторы: Федорчук Т.П., Хасимов М. Х.

ISBN 978-5-9905822-5-5

