

ФОТОХИМИЧЕСКОЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ ДАЛЬНОГО КРАСНОГО СВЕТА В РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРАХ ФОТОСИСТЕМЫ I ИЗ ЦИАНОБАКТЕРИИ *Acaryochloris marina*

© 2024 г. А.А. Петрова*,#, А.Р. Casazza**, S. Santabarbara**, Д.А. Черепанов*,***

*НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/40, Москва, 119992, Россия

**Photosynthesis Research Unit, National Research Council of Italy, Via A. Corti 12, Milano, 20133 Italy

***Федеральный исследовательский центр химической физики имени Н.Н. Семенова РАН,

ул. Косыгина, 4, Москва, 119991, Россия

#E-mail: draparnaldia@gmail.com

Поступила в редакцию 06.02.2024 г.

После доработки 08.04.2024 г.

Принята к публикации 17.04.2024 г.

Преобразование энергии света ближнего инфракрасного спектрального диапазона фотосинтетическими пигмент-белковыми комплексами интенсивно исследуется в последние годы в связи с открытием цианобактерий, в фотосинтетическом аппарате которых присутствуют поглощающие длинноволновый свет хлорофиллы *f* и *d*. Особое место в ряду таких цианобактерий занимает *Acaryochloris marina*. Ее фотосистема I содержит преимущественно хлорофилл *d*, он входит в состав специальной пары P₇₄₀, спектр поглощения которой сдвинут в красную область на 40 нм. Это обуславливает снижение энергии возбужденного состояния P₇₄₀ на ~0.1 эВ по сравнению с содержащей хлорофилл *a* фотосистемой I. Комплексы фотосистемы I из *A. marina* имеют и другие особенности: четыре молекулы хлорофилла *a* реакционного центра заменены на хлорофилл *d*, а третья пара молекул хлорофилла *a*, участвующих в переносе электрона, — на феофитин *a*. Наличие спектрально различающихся кофакторов (хлорофилла *d* и феофитина *a*) позволило надежно установить интермедиаты первичных реакций разделения зарядов в данной фотосистеме I. В настоящем обзоре мы рассмотрим последние результаты изучения фотохимического преобразования энергии в реакционных центрах фотосистемы I из *A. marina* и возможные механизмы компенсации энергетических потерь при использовании для фотосинтеза низкоэнергетического дальнего красного света.

Ключевые слова: фотосинтез, дальний красный свет, хлорофилл *d*, фотосистема I, разделение зарядов, кинетическое моделирование.

DOI: 10.31857/S0006302924030084, EDN: OFLWPP

Ключевым компонентом фотохимического преобразования энергии солнечного света при окислительном фотосинтезе являются молекулы хлорофилла. Хлорофилл ответственен за поглощение основной части энергии, а также участвует в первичных реакциях разделения зарядов и переноса электрона. До недавнего времени считалось, что только комплексы хлорофилла *a* (Хл *a*) могут непосредственно осуществлять фотохимическое разделение зарядов в реакционном центре. Другие хлорофиллы — *b*, *c*, *d* и *f* — рассматривались

как антенные пигменты, расширяющие спектр действия фотосинтеза [1, 2]. Однако открытие цианобактерии *Acaryochloris marina*, в которой хлорофилл *d* (Хл *d*) составляет 90–99% от всего содержания хлорофиллов, поколебало это утверждение [3]. Хл *d*, как и Хл *a*, является хлорином. Заместители этих двух хлорофиллов отличаются только в С-3 положении кольца А, где винильная группа Хл *a* заменена на более полярную формильную группу в Хл *d* (рис. 1). Наличие кетонного атома кислорода в системе сопряженных π-связей приводит к смещению электронной плотности хлоринового кольца, поэтому полоса Q_Y в случае Хл *d* сдвинута в красную область до 697 нм по сравнению с 665 нм Хл *a* (рис. 1) [5].

Сокращения: Хл *a* — хлорофилл *a*; Хл *d* — хлорофилл *d*; ФС I — фотосистема I; ФС II — фотосистема II; ФС I-Хл *a* — фотосистема I, содержащая хлорофилл *a*; ФС I-Хл *d* — фотосистема I, содержащая хлорофилл *d*; реакционный центр — РЦ; Фео *a* — феофитин *a*.

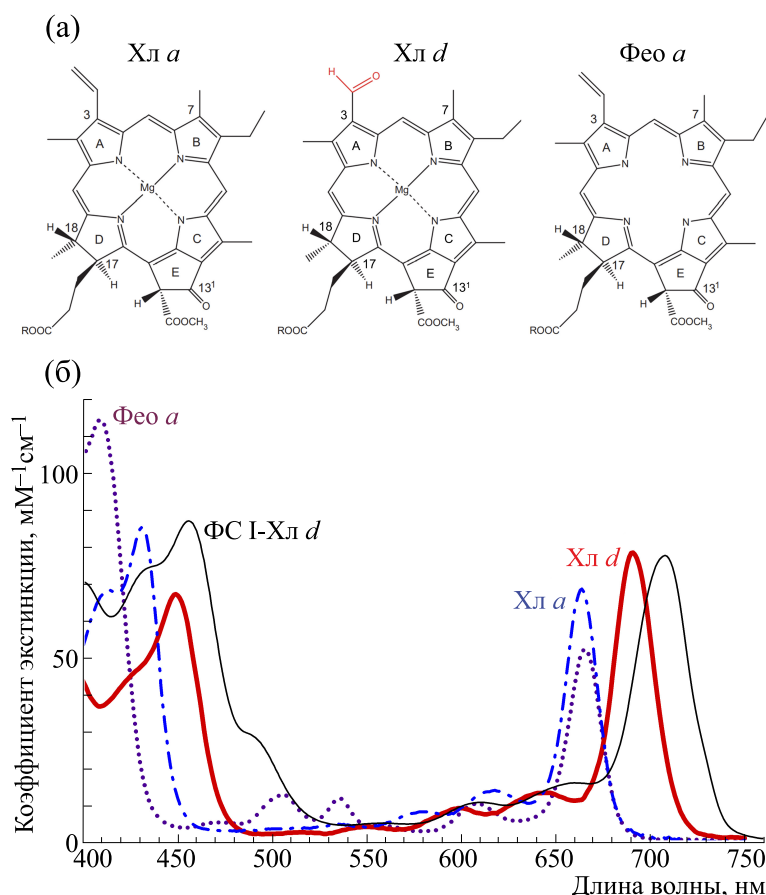


Рис. 1. Химические структуры хлорофилов (а) и их спектры поглощения в диэтиловом эфире (б). Положение полосы Q_y , соответствующей переходу $S_0 \rightarrow S_1$, практически идентично в молекулах хлорофилла *a* и феофитина *a*. Появление электроотрицательной формильной группы в кольце А молекулы хлорофилла *d* приводит к сдвигу всего спектра поглощения в красную область. Взаимодействие Хл *d* с белковым окружением фотосистемы I усиливает красный сдвиг спектра поглощения Хл *d*. Спектр Хл *d* приводится по работе [4].

В электрон-транспортной цепи *A. marina* обе фотосистемы, фотосистема 1 (ФС I) и фотосистема 2 (ФС II) содержат преимущественно Хл *d*. Функции фотосистем в этой необычной цианобактерии, в основном, такие же, как и в содержащих Хл *a* кислород-выделяющих организмах. Благодаря совместной работе ФС II и ФС I энергия солнечного света используется для осуществления окислительно-восстановительных реакций и установления протонного градиента на тилакоидной мембране. Итогом последовательности светозависимых реакций является окисление воды на донорном конце цепи и восстановление низкопотенциального акцептора электрона (ферредоксина) на акцепторном конце. На донорной стороне ФС II создает высокий окислительный потенциал (> 1 В против нормального водородного электрода), в то время как на акцепторной стороне в ФС I образуется сильный восстановитель с потенциалом ниже -1 В (рис. 2а) [6–8]. Таким образом, разность потенциалов на концах электрон-транспортной цепи превышает 2 В.

Светозависимое разделение зарядов в димере хлорофилла $[Хл-Хл]^* \rightarrow [Хл^+Хл^-]$ позволяет создавать разность потенциалов не более 1.7 В, поэтому в ФС I и ФС II осуществляется противоположная по знаку адаптация редокс-свойств молекул хлорофилла за счет их взаимодействия с белковым окружением.

В ФС I, содержащей Хл *a* (ФС I-Хл *a*), в процессе превращения энергии из световой формы в химическую можно выделить следующие этапы: 1) поглощение света и перенос энергии возбуждения на реакционный центр (РЦ), 2) первичное разделение и стабилизация зарядов в РЦ, 3) перенос электрона и восстановление внешнего акцептора, 4) восстановление фотоокисленного донора электронов. Каждый этап осуществляет особый набор кофакторов (рис. 2б).

За поглощение и перенос энергии в реакционный центр в ФС I растений, водорослей и большинства цианобактерий отвечает внутренняя антенна из 90 молекул Хл *a* и 22 молекул β -кароти-

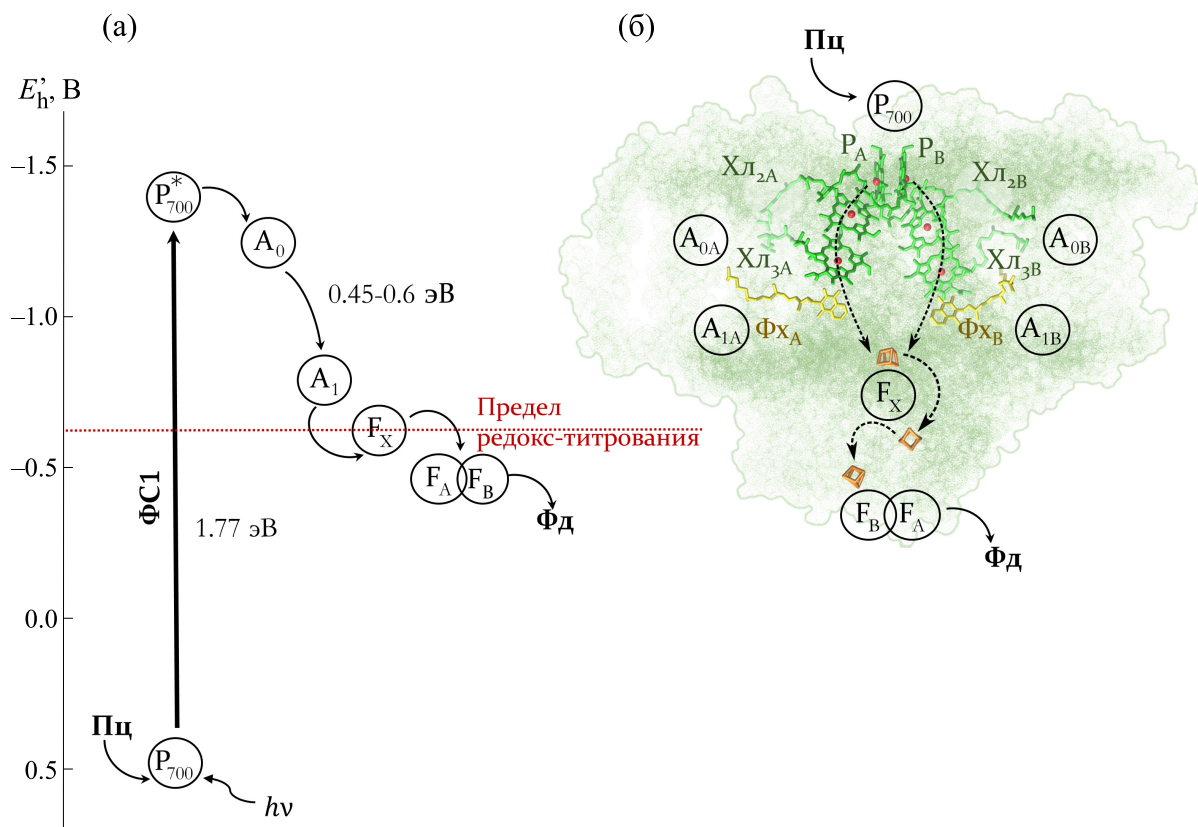


Рис. 2. Механизм фотосинтетического преобразования энергии (а) и молекулярная организация кофакторов реакционного центра и электрон-транспортной цепи (б) в содержащей хлорофилл *a* фотосистеме I. Перенос электрона по цепи кофакторов в ФС I-Хл *a* происходит по градиенту окислительно-восстановительного потенциала (E'_h). Около половины энергии кванта, поглощенного реакционным центром, расходуется на стабилизацию образовавшихся ион-радикальных пар. Значения E'_h для кофакторов A_0 и A_1 приведены условно, так как они лежат ниже предела окислительно-восстановительного титрования. В качестве экзогенного растворимого акцептора электрона на рисунке приведен ферредоксин (ФД), в качестве внешнего донора — пластоцианин (Пц), как универсальные акцептор и донор для цианобактерий, водорослей и высших растений. В качестве примера строения ФС I-Хл *a* использована структура ФС I цианобактерии *Thermosynechococcus elongatus* [9].

на. В ряде организмов она включает экситонно-сопряженные димеры и тримеры Хл *a* или молекулы хлорофилла *f*, которые выступают как ловушки в низкоэнергетической (красной) области спектра [10–12]. Значительный размер антенны и присутствие низкоэнергетических ловушек представляют трудности для анализа процессов переноса энергии в ФС I-Хл *a*, в настоящий момент для их описания на основе кристаллографической структуры ФС I-Хл *a* из цианобактерии *Thermosynechococcus elongatus* предложено несколько теоретических моделей [13–16].

В первичном разделении зарядов и последующей стабилизации ион-радикальной пары участвуют 6 молекул Хл *a* реакционного центра, среди которых можно выделить три димера. Специальная пара P_{700} представляет собой практически симметричный димер $P_A P_B$, расположенный на

центральной оси C_2 -симметрии комплекса, два димера, состоящие из молекул Хл₂ и Хл₃ (иначе они обозначаются eC_2 и eC_3), находятся по обе стороны от P_{700} . Димеры Хл_{2A}-Хл_{3A} и Хл_{2B}-Хл_{3B} традиционно обозначают как A_{0A} и A_{0B} . Вместе с молекулами филлохинона A_{1A} и A_{1B} они образуют две симметричные ветви переноса электрона. В отличие от бактериального РЦ и ФС II, обе ветви участвуют в окислительно-восстановительных реакциях.

Молекулярная природа первичных ион-радикальных пар, соответствующие кинетические (константы скорости реакций $k_{\pm 1}$, $k_{\pm 2}$) и термодинамические (изменение свободной энергии реакций ΔG_1 , ΔG_2) параметры электронных переходов между шестью молекулами Хл *a* реакционного центра до сих пор являются предметом

дискуссии. Две различные модели, описывающие разделение и стабилизацию зарядов, показаны на схеме 1 [17] и будут обсуждаться ниже. Следует

считать эту схему упрощенной, поскольку она не учитывает взаимодействие ветвей в процессе переноса электрона [18–21].

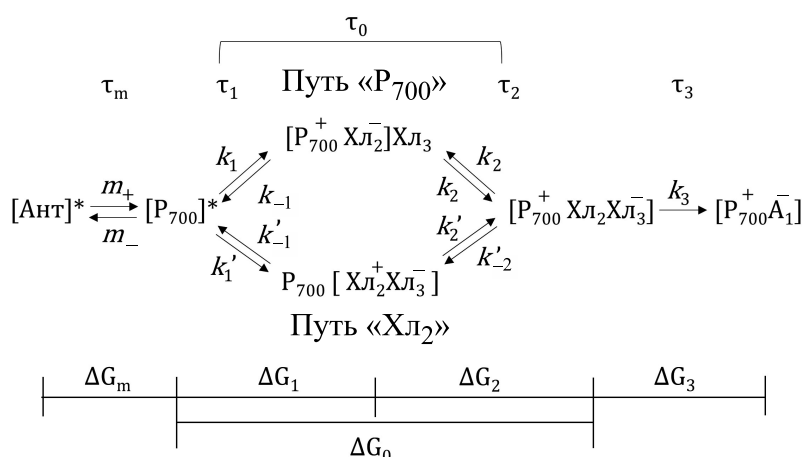


Схема 1. Последовательность фотохимических реакций в комплексах ФС I-Хл *a*. Возбужденные состояния пигментов антенны представлены блоком [Ant]*, возбужденные состояния шести экситонно-сопряженных пигментов реакционного центра – блоком [P700]*, а возможные состояния шести молекул Хл *a* реакционного центра с разделенными зарядами – блоками [P700⁺Хл₂⁻], [Хл₂⁺Хл₃⁻], [P700⁺Хл₃⁻] и [P700⁺А₁⁻].

Достоверно показано, что разделение зарядов приводит к образованию пары P700⁺Хл₃⁻ и к переносу электрона на филлохинон с образованием пары P700⁺А₁⁻. Константа скорости восстановления филлохинона k_3 оценивается в диапазоне 25–40 нс⁻¹ [17, 22–25].

Дальнейшие реакции переноса электрона включают восстановление железо-серного кластера F_X, где сходятся две ветви переноса электрона. Железо-серные кластеры F_A и F_B образуют акцепторную сторону комплекса ФС I-Хл *a*, которая обеспечивает эффективное восстановление экзогенных акцепторов электронов [26, 27], а P700⁺, в свою очередь, восстанавливается от экзогенного донора электронов – пластоцианина либо цитохрома c₆.

Хл *a* долгое время считался неотъемлемым компонентом РЦ выделяющих кислород фотосинтезирующих организмов. Открытие *A. marina* поставило вопрос, возможна ли генерация в фотосинтетической электрон-транспортной цепи с участием Хл *d* необходимого восстановительного потенциала [28].

В данном обзоре мы остановимся на описании молекулярных механизмов реакций разделения и стабилизации зарядов в реакционном центре ФС I из *A. marina* (ФС I-Хл *d*). Мы рассмотрим необычный состав кофакторов ФС I-Хл *d*, сопоставим кинетические и энергетические парамет-

ры первичных фотохимических реакций в комплексах ФС I-Хл *d* и канонической ФС I-Хл *a*.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА КОФАКТОРОВ И КИНЕТИКА ПЕРВИЧНЫХ ФОТОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В РЕАКЦИОННОМ ЦЕНТРЕ ФОТОСИСТЕМЫ I ИЗ *A. marina*

Хроматографический анализ клеток и выделенных комплексов ФС I из *A. marina* показал, что помимо Хл *d* в них присутствуют небольшие количества других пигментов: Хл *a* и феофитина *a* (Фео *a*) [29–31]. По этой причине исследователи не исключали, что Хл *a* и Фео *a* составляют каталитический центр фотохимических реакций в ФС I и ФС II в *A. marina*, в то время как Хл *d* является антенным пигментом [32].

Однако микросекундные дифференциальные спектры в диапазоне 400–850 нм в ответ на возбуждающую лазерную вспышку с длиной волны 532 нм показали две основные полосы выплывания с максимумами 455 и 740 нм, поэтому первичный донор электронов в этой ФС I был назван P740 [29]. Спектр поглощения специальной пары в ФС I-Хл *d* оказался сдвинут на 40 нм в красную сторону относительно P700 в ФС I-Хл *a*. Возник вопрос, чем обусловлен этот сдвиг: молекулярной природой хлорофилла или белковым окружением? P740 мог быть как димером Хл *a*, так и димером Хл *d* [29]. Окончательный выбор в пользу

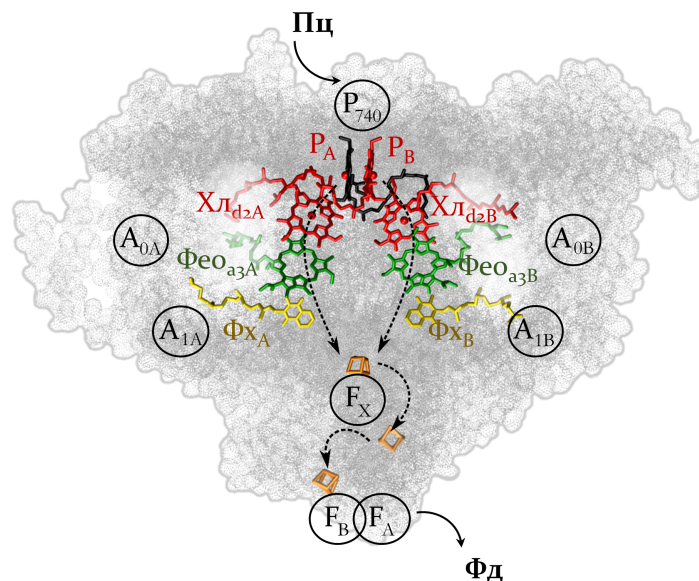


Рис. 3. Молекулярная организация кофакторов реакционного центра и электрон-транспортной цепи в содержащей преимущественно Хл *d* фотосистеме 1 из *A. marina* [35,36].

Хл *d* позволило сделать исследование выделенных комплексов ФС I методами инфракрасной и ЭПР-спектроскопии [33, 34]. Впоследствии было показано, что P_{740} , как и P_{700} , представляет собой гетеродимер Хл *d* и Хл *d'* (рис. 3) [35, 36]. Таким образом, ФС I из *A. marina* стала первой известной ФС I окислительных организмов, в которой первичный донор электронов был представлен не Хл *a*.

Труднее оказалось установить природу кофакторов A_{0A} и A_{0B} в ФС I из *A. marina*. Авторы работы [37] проследили спектральные изменения в полосе Q_Y (660–780 нм) во временном диапазоне 0.6–256 пс в ответ на неизбирательное возбуждение хлорофилла антенны лазерной вспышкой с длиной волны 630 нм. При этом спектральные изменения «закрытых» центров (т.е. комплексов с химически окисленным P_{740}) вычитали из кинетики «открытых» центров (с восстановленным P_{740}). Этот метод использовался в ранних работах с ФС I-Хл *a* для отделения абсорбционных изменений реакционного центра от спектральной динамики хлорофилла антенны [25, 38, 39].

Предполагалось, что разность переходных спектров между P_{740} в восстановленном и предокисленным состояниях будет выявлять спектры кофакторов, непосредственно участвующих в переносе электрона. Однако в случае ФС I-Хл *d* спектры переходных ион-радикальных состояний разрешались плохо (врезка на рис. 4б).

Были разрешены две компоненты с характерными временами 6–7 пс и 40–60 пс. В спектре быстрой компоненты проявилась полоса выцвет-

тания с максимумом на 680 нм. Она исчезала с характерным временем $\tau \approx 50$ пс, поэтому ее отнесли к спектру аниона первичного акцептора электрона A_0 . Сдвинутый в синюю область относительно других хлорофиллов ФС I-Хл *d* спектр поглощения указывал на то, что химически A_0 представляет собой Хл *a*, тем более, что его содержание в препаратах выделенной ФС I составило ~1–2 молекулы на один комплекс [29, 30].

Однако значимых изменений в области 740 нм, относящихся к полосе специальной пары P_{740} , в быстрой компоненте не присутствовало (врезка на рис. 4б, тонкая сплошная линия). Значительное выцветание полосы с центром на 730 нм проявлялось лишь в медленной компоненте (врезка на рис. 4б, пунктирная сплошная линия). Таким образом, спектральные полосы P_{740}^+ в кинетике проявлялись позже, чем полосы предполагаемого A_0^- . Помимо полосы выцветания на 680 нм, в дифференциальном спектре быстрой компоненты наблюдалось также выцветание на длине волны 710 нм, а медленная компонента содержала сопоставимое увеличение поглощения Хл *a* в области 680 нм.

Для интерпретации полученных данных авторы работы [37] предположили, что Хл *a* в сайте еС3 является первичным акцептором электрона, а первичным донором является Chl *d* с максимумом поглощения на 710 нм в сайте еС2. Первичная реакция разделения зарядов происходит с характерным временем $\tau_1 = 6$ –7 пс. Последующий перенос электрона на феллохинон A_1 кинетиче-

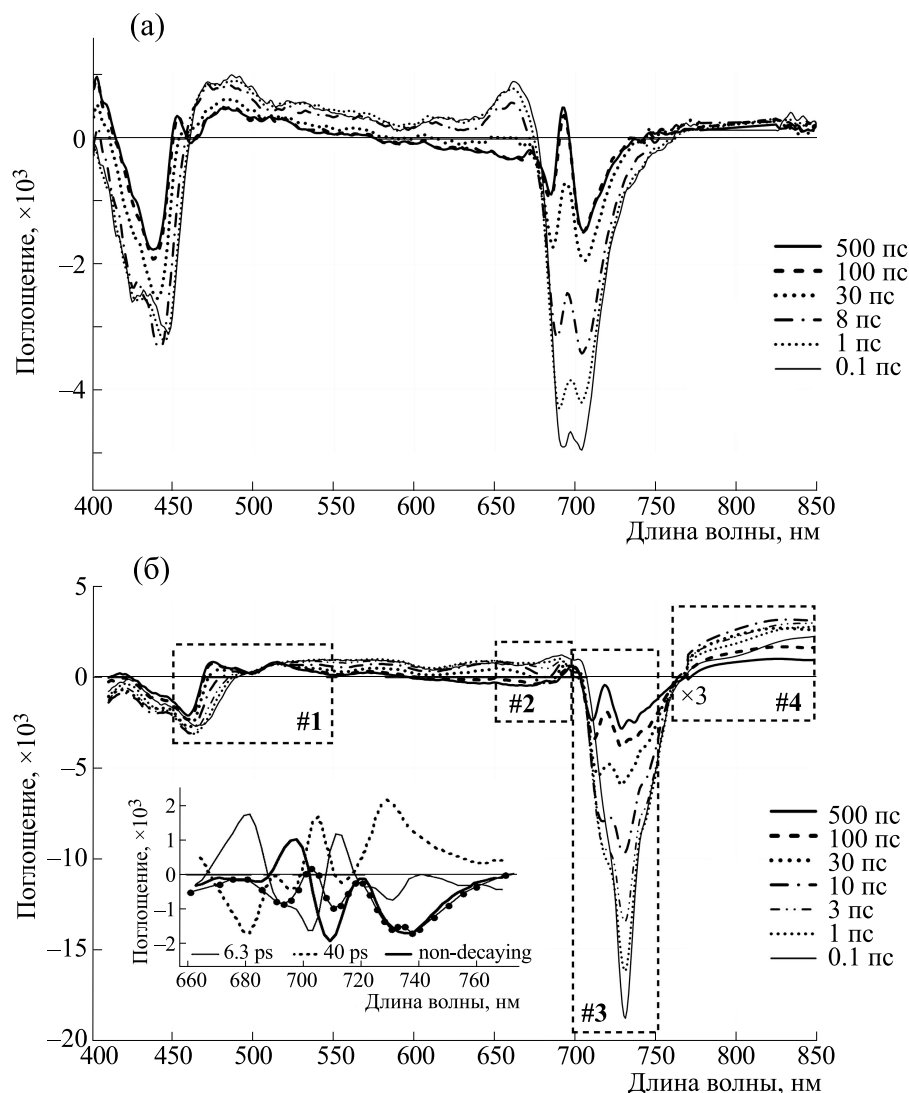


Рис. 4. Переходные спектры ФС I-Xл *a* из *Synechocystis* 6803 (**а**) при возбуждении на длине волны 720 нм и ФС I-Xл *d* из *A. marina* (**б**) при возбуждении на длине волны 740 нм. Временные задержки: 0,1 пс, 1 пс, 3 пс, 8–10 пс, 30 пс, 100 пс и 500 пс. Номерами отмечены спектральные области, специфически характеризующие интермедиаты в ФС I-Xл *d*. Врезка: спектры кинетических экспоненциальных компонент распада (DAS) абсорбционной динамики ФС I-Xл *d* из *A. marina*, полученные путем вычитания спектральных изменений «закрытых» комплексов из изменений «открытых» комплексов по данным работы Кумазаки с соавт. [37].

ски сопряжен с окислением P_{740} и происходит со временем $\tau_2 = 40\text{--}60$ пс. Данный механизм соответствует нижнему пути «Хл₂» на схеме 1. Позднее в работах [17, 22, 40] подобный механизм был предложен для описания фотохимических реакций в ФС I-Xл *a*. Эта модель использовалась в дальнейшем в работах [41–43]. В данном механизме первичное разделение зарядов происходит между Хл₂ и Хл₃ независимо в каждой из двух ветвей А или В, первичной ион-радикальной парой является состояние $[Хл_2^+Хл_3^-]$. Согласно данным работ [17, 22, 40], последующее окисление P_{700} в канонической ФС I происходит со време-

нем 6–8 пс, предшествуя во времени переносу электрона на филлохинон A_1 со временем 25–30 пс [22].

Альтернативный механизм, использующий аналогию с последовательностью реакций разделения зарядов в бактериальном реакционном центре, был предложен в работах [25, 44, 45]. В данном механизме первичным донором электрона является специальная пара P_{700} , а первичным акцептором – вторая молекула хлорофилла в одной из ветвей А или В (верхний путь « P_{700} » на схеме 1). Как и в бактериальном центре, последующий перенос электрона на третий кофактор (в случае бактериального РЦ – бактериофеофитин,

в случае ФС I — молекула Хл₃) происходит быстро, поэтому первым наблюдаемым состоянием с разделенными зарядами является пара $P_{700}^+Xl_3^-$, обычно обозначаемая как $P_{700}^+A_0^-$. Энергетический уровень этого состояния относительно возбужденного хлорофилла антенны в дальнейшем обозначен как $\Delta G_0 = \Delta G_1 + \Delta G_2$. Близость спектральных свойств возможных интермедиатов, возникающих в ходе фотоиндуцированного разделения зарядов в ФС I-Хл *a*, затрудняет их надежное определение.

Несмотря на то, что в ФС I-Хл *d* спектры A_0^- и P_{740}^+ оказались различимы, спектры P_{740}^+ и возбужденных состояний Хл *d* антенны перекрываются. Кроме того, на комплексах ФС I-Хл *a* было показано, что в «закрытых» и «открытых» РЦ тушение флуоресценции Хл *a* антенны происходит с одинаковой скоростью [37, 46, 47]. Столь же быстрое непроизводительное тушение возбужденного состояния наблюдалось в комплексах ФС I-Хл *a*, несущих аминокислотные замены вблизи сайта еС2 [48]. Объяснением может быть ограничение скорости фотохимических реакций кинетикой передачи энергии возбуждения от антенны к РЦ [49, 50]. В этом случае спектральные изменения кофакторов РЦ и антенны могут перекрываться также кинетически. Поэтому метод вычитания спектральных изменений в «закрытых» и «открытых» центрах, использованный в работе [37] для ФС I-Хл *d*, не позволяет выявлять быстрые электронные переходы, и последовательность фотохимических реакций осталась не вполне определенной.

В 2021 г. появилась структура ФС I из *A. marina* (PDB ID: 7COY) [35]. Она подтвердила, что P_{740} является гетеродимером Хл *d* и Хл *d'*, однако сайты связывания еС2 и еС3 в обеих ветвях оказались заняты вовсе не молекулами Хл *a*. В сайтах связывания еС2 были выявлены молекулы Хл *d* (Хл_{d2}), а в сайтах еС3 — молекулы феофитина *a* (Фео_{a3}) (рис. 3). Феофитин — обычный кофактор пигмент-белковых комплексов второго типа, таких как ФС II, однако он никогда ранее не выявлялся в пигмент-белковых комплексах первого типа, в частности в ФС I.

Наличие в ФС I-Хл *d* на ключевой позиции еС3 молекулы Фео *a*, отличающейся от всех остальных пигментов фотосистемы ФС I-Хл *d*, дает уникальную возможность установить, по какому пути — « P_{700} » (который в данном случае более корректно называть « P_{740} ») или «Хл₂» — протекают первичные реакции, а также определить их характерные времена τ_i и изменения свободной энергии ΔG_i .

Для определения интермедиатов первичных фотохимических реакций были проведены измерения абсорбционной динамики ФС I-Хл *d* методом фемтосекундной спектроскопии «возбуждение—зондирование» в широком спектральном окне 400–900 нм [51]. Длительность задержки между возбуждающей и измерительной вспышками возрастала от 0.1 до 500 пс. Неизбирательное возбуждение антенны ФС I-Хл *d* проводили в области 630 нм, избирательное возбуждение реакционного центра — на длине волны 740 нм. Такой экспериментальный подход позволил: 1) зарегистрировать спектральные изменения в полосе Соре и в дальней красной области спектра, где есть спектральные полосы P_{740}^+ , Хл *d'* и Фео *a*[–]; 2) проследить динамику относительных вкладов P_{740}^+ и Фео_{a3}[–] по специфическим спектральным маркерам; 3) определить, ограничивает ли перенос энергии из антенны в РЦ образование ион-радикальной пары $P_{740}^+Фео_{a3}^-$.

Ранее сходный подход применялся для изучения комплексов ФС I-Хл *a* из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 [25, 52]. На рис. 4 сравниваются переходные спектры поглощения ФС I-Хл *a* из цианобактерии *Synechocystis* 6803 при возбуждении на длине волны 720 нм (рис. 4а) и аналогичные спектры ФС I-Хл *d* из *A. marina* при возбуждении на длине волны 740 нм (рис. 4б).

Особенностью абсорбционных изменений ФС I-Хл *a* из *Synechocystis* 6803 является наличие двух полос выплывания 690 и 705 нм, появляющихся уже на самых коротких временных задержках 100 фс [25], что было интерпретировано как свидетельство сверхбыстрого разделения зарядов между P_{700} и A_0 . Позднее сверхбыстрое разделение зарядов было проанализировано в рамках адиабатической модели симметричного тетрамерного эксиплекса Хл_{2A}Р_AР_BХл_{2B}, в котором возбужденное состояние (Хл_{2A}Р_AР_BХл_{2B})^{*} смешано с двумя состояниями с переносом заряда $P_{700}^+Xl_{2A}^-$ и $P_{700}^+Xl_{2B}^-$ [19, 53]. Однако спектральные изменения в области полосы Q_Y, обусловленные выплыванием и стимулированным излучением Хл *a* антенны в начальный момент времени (тонкая сплошная линия на рис. 4а), находятся в той же спектральной области, что и спектр ион-радикальной пары $P_{700}^+A_1^-$ (жирная сплошная линия на рис. 4а), превышая последний в несколько раз по амплитуде, что не дает возможности однозначно интерпретировать наблюдаемую спектральную динамику.

В спектрах ФС I-Хл *d* из *A. marina* изменения поглощения Фео_{a3}[–] (спектральный интервал #2 на рис. 4б) хорошо отделены от изменений Хл *d* антенны (спектральный интервал #3). Кроме то-

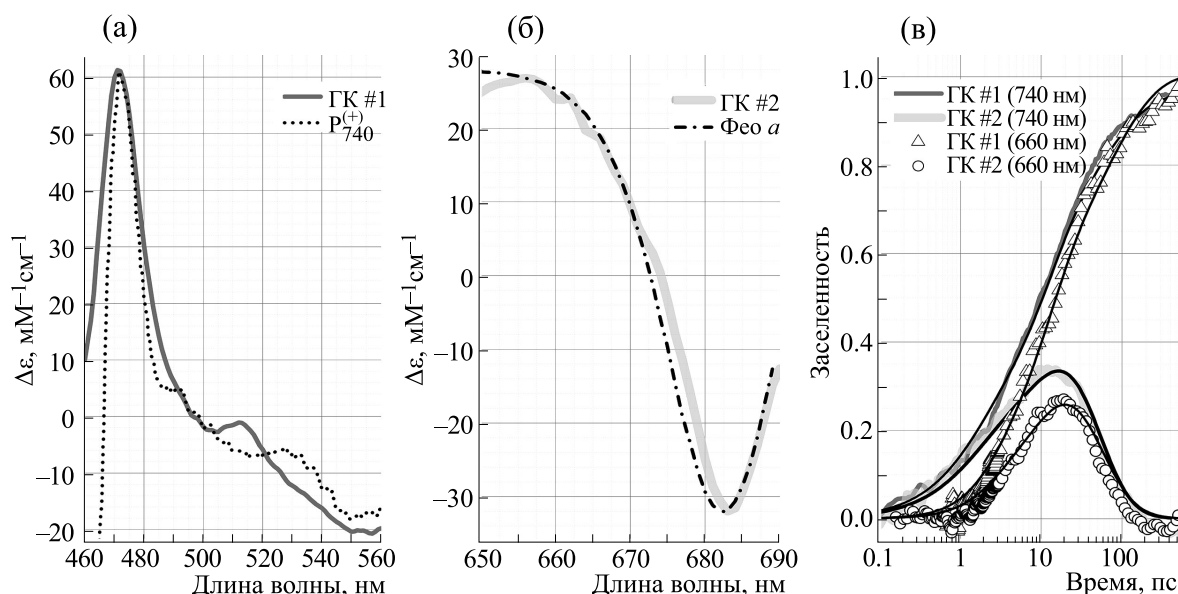


Рис 5. Дифференциальные спектры $\Delta\epsilon(\lambda)$ главных компонент (ГК), характеризующие поглощение катиона P_{740} в спектральной области #1 (а) и аниона Feo_{a3} в спектральной области #2 (б) при возбуждении ФС I-Хл *d* из *A. marina* на длине волны 740 нм. Переходные спектры (сплошные линии) сопоставлены с дифференциальным спектром поглощения $P_{740}^+ - P_{740}$ (точки) из работы [54] и перевернутым спектром поглощения $Feo a$ в ацетоне (штриховые точки) [55]. Изменение относительных вкладов $P_i(t)$ данных компонент (заселенности) во времени (в) отражают кинетику возникновения интермедиатов P_{740}^+ и Feo_{a3}^- при возбуждении ФС I-Хл *d* на 740 нм (сплошные линии) и 660 нм (символы). Тонкие черные линии показывают результаты кинетического моделирования.

го, в спектральной динамике в области 450–500 нм присутствует специфическая полоса катиона специальной пары P_{740} [54] (спектральный интервал #1), а в области 760–850 нм наблюдается поглощение катиона и аниона Хл *d* (спектральный интервал #4).

Численный анализ абсорбционной динамики ФС I-Хл *d* методом главных компонент позволил определить дифференциальные спектры $\epsilon_i(\lambda)$ и динамику относительных вкладов $P_i(t)$ катиона P_{740} и аниона Feo_{a3}^- (рис. 5). Сравнение полосы выцветания Feo_{a3}^- в области 680 нм со спектром поглощения феофитина в растворе позволило определить абсолютное количество восстановленного Feo_{a3} и сравнить его кинетику с кинетикой образования катиона P_{740} . Появление сигнала P_{740}^+ происходило одновременно с выцветанием полосы Feo_{a3}^- при временных задержках ~0.2 пс, однако, абсолютная концентрация Feo_{a3}^- была пропорционально ниже концентрации P_{740}^+ . Это свидетельствует о присутствии промежуточного акцептора электрона, которым, вероятнее всего, является Хл_{d2}, перенос электрона с которого на Feo_{a3} происходит быстрее реакции образования первичной ион-радикальной пары $P_{740}^+Хл_{d2}^-$ ($\tau_2 \ll \tau_1$). Таким образом, было

показано, что в ФС I-Хл *d* из *A. marina* первичным донором электронов является P_{740} , а первичным акцептором — Хл_{d2}, который на временах менее 0.2 пс передает электрон на третий кофактор в цепи Feo_{a3} .

Интересно отметить, в случае неизбирательного возбуждения появление сигналов P_{740}^+ и Feo_{a3}^- происходило позже, на временах ~2 пс, чем при возбуждении на 740 нм (рис. 5в, символы). Это указывает на то, что в случае ФС I-Хл *d* правомерно описание первичных процессов моделью, где скорость разделения зарядов ограничена скоростью переноса энергии возбуждения на реакционный центр (см. выше).

Таким образом, механизм разделения и стабилизации зарядов в ФС I-Хл *d* подобен тому, что был предложен для ФС I-Хл *a* в работах [25, 44, 45] и детализировался в дальнейшем в лабораториях А.Ю. Семенова и В.А. Надточенко. В данном механизме первичным донором электрона является специальная пара P_{700} , а первичным акцептором — вторая молекула хлорофилла в одной из ветвей А или В (верхний путь « P_{700} » на Схеме 1). Как и в бактериальном центре, последующий перенос электрона на третий кофактор (в случае бактериального РЦ — бактериофеофитин, в случае ФС I — молекула Хл₃) происходит быстро, поэтому первым наблюдаемым состоянием с

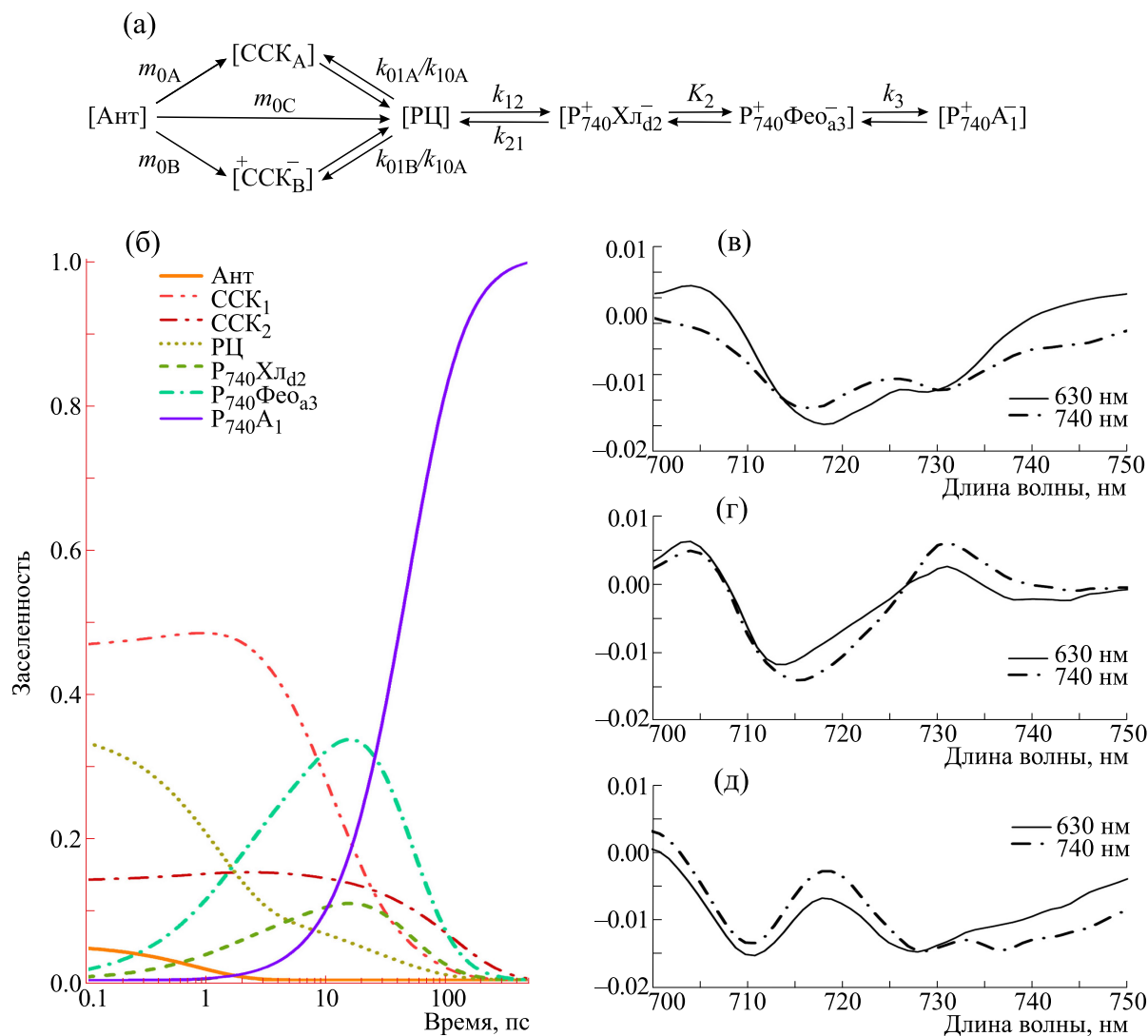


Рис 6. Кинетическое моделирование переноса энергии и электрона в ФС I из *A. marina*. На кинетической схеме (а) квадратными скобками выделены кинетические компартменты. Динамика заселения электронных состояний показана для возбуждения ФС I-Хл *d* дальним красным светом (б). Дифференциальные спектры возбужденного реакционного центра (в), первичной $P_{740}^{+}Xl_{d2}^{-}$ (г) и вторичной $P_{740}^{+}A_1^{-}$ (д) ион-радикальных пар были получены путем разложения абсорбционной динамики ФС I-Хл *d* на главные компоненты при возбуждении на 630 нм (сплошные линии) и 740 нм (пунктирные линии).

разделенными зарядами является пара $P_{700}^{+}Xl_3^{-}$, обычно обозначаемая как $P_{700}^{+}A_0^{-}$.

Результаты разложения абсорбционной динамики ФС I-Хл *d* на главные компоненты были проанализированы с помощью кинетической модели, согласующейся со структурными данными [35, 36] и включающей в минимальном варианте семь электронных состояний и шесть кинетических компартментов (рис. 6). По итогам моделирования были получены значения свободной энергии реакций ΔG_1 , ΔG_2 , ΔG_3 и оценки характерных времен τ_1 , τ_2 и τ_3 образования ион-ради-

кальных состояний $P_{740}^{+}Xl_{d2}^{-}$, $P_{740}^{+}Feo_{a3}^{-}$, и $P_{700}^{+}A_1^{-}$ соответственно.

Согласно модели, свободная энергия реакции образования первичной ион-радикальной пары $P_{740}^{+}Xl_{d2}^{-}$ из возбужденного состояния реакционного центра составляет $\Delta G_1 = -34$ мэВ, она протекает с характерным временем $\tau_1 = 1.6$ пс. Установление равновесия между Xl_{d2} и Feo_{a3} не удалось разрешить в спектральной динамике, была получена оценка времени $\tau_2 \leq 0.2$ пс и свободной энергии $\Delta G_2 = -29$ мэВ [51]. Образование стабильной ион-радикальной пары $P_{740}^{+}A_1^{-}$ про-

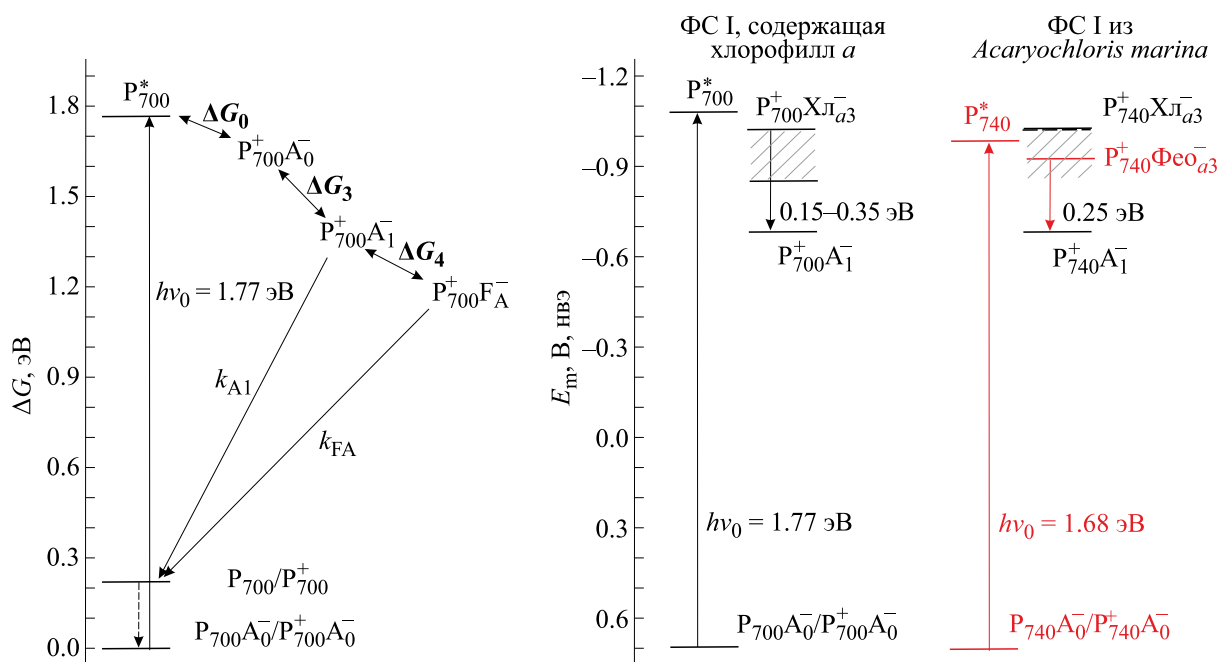


Рис. 7. Уровни свободной энергии различных электронных состояний в ФС I цианобактерий. На диаграмме слева стрелками показаны основные электронные переходы и их энергии относительно основного состояния. На вертикальной оси в центре приведены рабочие окислительно-восстановительные потенциалы кофакторов, участвующих в первичных реакциях разделения зарядов в ФС I-Хл *a* (центр) и ФС I-Хл *d* (справа). Значения энергетических параметров для ФС I-Хл *a* представляют усредненные величины, взятые из литературы. Заштрихованная область показывает разброс имеющихся оценок потенциала A_0 . Соответствующий энергетический уровень для ФС I-Хл *d* получен в результате кинетического моделирования [51].

исходит в ФС I-Хл *d* с характерным временем $\tau_3 \approx 25$ пс.

В рамках рассматриваемой кинетической модели были получены дифференциальные спектры возбужденного состояния реакционного центра (рис. 6в), первичной ион-радикальной пары $P_{740}^+Xl_{d2}^-$ (рис. 6г) и вторичной ион-радикальной пары $P_{740}^+Фео_{a3}^-$ (рис. 6д). В спектре состояния $P_{740}^+Xl_{d2}^-$ на рис. 6д доминирует полоса выцветания 716 нм. Это однозначно указывает на то, что кофактором в положении eC2 является молекула Хл *d*. Форма и спектральное положение этой полосы хорошо соответствуют полосе Хл *d* в области 710 нм, представленной в работе [37] (врезка на рис. 4). В кинетической модели в работе [51] состояние $P_{740}^+Xl_{d2}^-$ появляется со временем 6 пс и исчезает со временем 80 пс, что также соответствует данным работы [37]. Принципиальным отличием от работы [37] является наблюдение синхронного образования катиона P_{740}^+ , аниона $Фео_{a3}^-$ и полосы выцветания Хл *d* в области 716 нм, что соответствует пути « P_{700} » на схеме 1, где P_{740} выступает в качестве первичного донора.

Характерное время образования ион-радикальной пары $P_{740}^+A_1^-$ близко к значениям τ об-

разования пары $P_{700}^+A_1^-$ в ФС I-Хл *a* из различных организмов. Так, для тримеров ФС I из цианобактерии *Synechocystis* 6803 характерное время составило ~ 25 пс [25, 56, 57], для комплексов ФС I из зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* — ~ 30 пс [22].

Интересно, что акцепторная часть кофакторов в комплексах ФС I-Хл *d* и ФС I-Хл *a* не различается: это молекулы филлохинона в сайтах связывания A_1 и три железо-серных кластера F_X , F_A и F_B [29, 35, 36, 54]. В качестве растворимого акцептора электрона в клетках *A. marina*, как и во всех других кислород-выделяющих организмах, присутствует ферредоксин (рис. 3). Таким образом, в комплексах ФС I-Хл *d* пигментный состав значительно отличается на тех участках, которые отвечают за поглощение световой энергии (внутренняя антенна ФС I-Хл *d* содержит вместо хлорофилла *a* и β -каротина хлорофилл *d* и α -каротин) и за первичные фотохимические реакции (димер Хл *d* в качестве специальной пары, Хл *d* и Фео *a* в сайтах связывания eC2 и eC3).

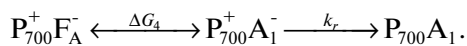
Минимальная энергия кванта света, необходимая для разделения зарядов в ФС I-Хл *d*, составляет 1.68 эВ — на ~ 90 мэВ меньше, чем в ФС I-Хл *a* (рис. 7). Следует однако отметить, что освещение ФС I-Хл *a* некоторых видов цианобактерий и водорослей в дальней красной об-

ласти спектра 760–800 нм ведет к разделению зарядов даже при криогенных температурах [58, 59]. При этом редокс-потенциал пары P_{740}/P_{740}^{+} близок к потенциалу P_{700}/P_{700}^{+} , он лежит в диапазоне 425–450 мВ [30, 54, 60]. Значит, энергия возбужденного состояния P_{740} должна быть ниже энергии P_{700}^{*} . Однако снижение энергии P_{740}^{*} по сравнению с P_{700}^{*} на 100 мэВ существенно не сказывается на кинетике стабилизации зарядов в ФС I-Хл *d*. Можно предполагать, что наблюдаемые изменения в составе кофакторов на донорном участке ФС I-Хл *d* обусловлены необходимостью поддержания отрицательных значений ΔG реакций разделения и стабилизации зарядов.

ЭНЕРГЕТИКА РЕАКЦИЙ РАЗДЕЛЕНИЯ И СТАБИЛИЗАЦИИ ЗАРЯДОВ В КОМПЛЕКСАХ ФС I-Хл *d* И ФС I-Хл *a*

Средноточечные потенциалы (E_m) восстановления железо-серных кластеров, выступающих в ФС I-Хл *a* в качестве терминальных акцепторов, были напрямую определены титрованием: $E_m(F_{A/B}) = -0.50$ В [61] и $E_m(F_X) = -0.61$ В [62]. Аналогичных данных для ФС I-Хл *d* не получено; по всей видимости, они близки к потенциалам ФС I-Хл *a* [29, 54]. Средноточечные потенциалы восстановления филлохинона A_1 и Хл *a* в сайтах A_0 лежат ниже предела окислительно-восстановительного титрования (рис. 2а). Их оценку можно проводить, исходя из доступных кинетических параметров прямых и обратных реакций переноса электрона в акцепторной части ФС I [20, 63–67], а также электростатических расчетов, использующих данные потенциометрического титрования и квантово-химического моделирования [68–71]. Для оценки энергетических уровней первичных и вторичных ион-радикальных пар по кинетическим данным были использованы два альтернативных подхода.

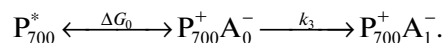
В первом подходе энергия образования ион-радикальной пары $P_{700}^{+}A_1^{-}$ оценивается по скорости термоактивируемой рекомбинации зарядов конечного состояния $P_{700}^{+}F_{A/B}^{-}$ [63, 72]



Рекомбинация зарядов в интактных комплексах ФС I-Хл *a* при комнатной температуре происходит с константой скорости $k_{FA} = 8$ с⁻¹, известна также скорость прямой рекомбинации зарядов $P_{700}^{+}A_1^{-} \rightarrow P_{700}A_1$ в химически модифицированных комплексах $k_{A1} = 9 \cdot 10^3$ с⁻¹, на основе этих данных была получена оценка свободной энергии $\Delta G_4 = 0.15–0.19$ эВ и потенциала восстановления

A_1 в диапазоне $-0,68$ В (рис. 7, диаграмма слева) [27, 50].

Во втором подходе энергию первичной ион-радикальной пары $P_{700}^{+}A_0^{-}$ относительно возбужденного состояния ФС I-Хл *a* оценивали на основании экспериментов по установлению равновесия первичных реакций переноса энергии и разделения зарядов, а также скорости замедленной флуоресценции образующихся ион-радикальных пар:



Оценки соответствующей разницы свободной энергии ΔG_0 варьировали от 0.25 эВ [21, 22, 73, 74] до значительно меньших значений (10–40 мэВ) [75–77]. Суммарная энергия образования первичной ион-радикальной пары $P_{700}^{+}A_0^{-}$ из невозбужденного состояния $P_{700}A_0$ связана с энергией кванта $h\nu_0$, движущей силой первичной реакции разделения зарядов ΔG_0 и равновесными средноточечными потенциалами P_{700}^{+} и A_0^{-} следующим соотношением:

$$q_e \left[E_m(P_{700}^{+} / P_{700}) - E_m(A_0 / A_0^{-}) - \Delta\Phi_0 \right] = h\nu_0 - \Delta G_0,$$

где q_e – элементарный заряд, $\Delta\Phi_0$ – электростатическое взаимодействие катиона P_{700}^{+} и аниона A_0^{-} . Расчет электростатического взаимодействия P_{700}^{+} и A_0^{-} дает оценку $\Delta\Phi_0$ около -0.24 В, на эту величину потенциал образуемой ион-радикальной пары $P_{700}^{+}A_0^{-}$ (операционный потенциал) отличается от значения средноточечного потенциала A_0 в условиях равновесного титрования [50, 68]. Понижение энергии пары $P_{700}^{+}A_0^{-}$ за счет электростатического взаимодействия отмечено вертикальной пунктирной стрелкой на рис. 7, где в левой части представлены энергетические уровни электронных состояний ФС I-Хл *a*. С учетом сделанных выше оценок операционный потенциал ион-радикальной пары $P_{700}^{+}A_0^{-}$ в канонической ФС I-Хл *a* составляет $-(0.84–1.08)$ В. На рис. 7 в центре показаны операционные потенциалы электронных состояний относительно нормального водородного электрода. Принимая потенциал пары $P_{740}^{+}A_1^{-}$ равным -0.68 В, изменение свободной энергии ΔG_3 для реакции переноса электрона $A_0 \rightarrow A_1$ составляет $0.16–0.40$ эВ [78].

Сходные оценки были получены для энергии образования первичной ион-радикальной пары $P_{740}^{+}A_0^{-}$ в ФС I-Хл *d* из *A. marina* [51]. Однако для данной системы, пользуясь спектральным отли-

чием Хл_{d2} и Фео_{a3} , удалось сделать отдельные оценки свободной энергии образования состояний $\text{P}_{740}^{+}\text{Хл}_{d2}^{-}$ и $\text{P}_{740}^{+}\text{Фео}_{a3}^{-}$ ($\Delta G_1 = -34$ мэВ и $\Delta G_2 = -29$ мэВ соответственно). Суммарная энергия $\Delta G_0 = \Delta G_1 + \Delta G_2$ образования стабильной первичной ион-радикальной пары $\text{P}_{740}^{+}\text{Фео}_{a3}^{-}$ относительно возбужденного состояния P_{740}^{*} составила -60 мэВ. В соответствии с этими оценками, восстановительный потенциал ион-радикальной пары $\text{P}_{740}^{+}\text{А}_0^{-}$ находится в интервале -0.9 ± 0.1 В, а равновесный среднеточечный потенциал $E_m(\text{Фео}_{a3}) \approx -1.17$ В (рис. 7). Исходя из этого, изменение свободной энергии ΔG_3 для реакции переноса электрона $\text{А}_0 \rightarrow \text{А}_1$ составляет 0.25 эВ.

Таким образом, значение среднеточечного потенциала $\text{Фео } a$ в положении еС3 находится в диапазоне -1.15 ± 0.1 В. В органических растворителях потенциал восстановления $\text{Фео } a$ приблизительно на 200 мВ более положителен, чем потенциал $\text{Хл } a$ [79, 80]. Если предположить, что эта разница сохраняется в белковом окружении, то замена $\text{Хл } a$ на $\text{Фео } a$ позволила *A. marina* компенсировать потерю энергии кванта при замене $\text{Хл } a$ на $\text{Хл } d$.

Однако остается открытым вопрос, почему в сайте еС3 присутствует именно $\text{Фео } a$, а не $\text{Хл } d$, потенциал которого в органических растворителях также почти на 200 мВ больше, чем у $\text{Хл } a$. Ответ заключается в структурных особенностях комплекса ФС I- $\text{Хл } d$: кислород карбонильной группы Хл_{d2} , которого нет в Хл_{a3} , обращен в сторону хлоринового кольца Фео_{a3} . Расстояние между карбонильным кислородом Хл_{d2} и плоскостью кольца составляет всего $3.2 \text{ \AA}$, что ведет к деформации макроцикла Фео_{a3} и обуславливает делокализацию электронных орбиталей гетеродимера Хл_{d2} - Фео_{a3} . В канонической в ФС I- $\text{Хл } a$ отрицательный электрический заряд в гетеродимере $[\text{Хл}_{a2}\text{-Хл}_{a3}]^{-}$ делокализован в пропорции 1:3 [81, 82], что в точности соответствует величине $\Delta G_2 = -29$ мэВ, определенной для ФС I- $\text{Хл } d$. Если бы на месте $\text{Фео } a$ в положении еС3 находился $\text{Хл } d$, то атом магния макроцикла дополнительно взаимодействовал бы с карбонильными кислородами, что изменило бы пентагональную координацию магния на гексагональную. Это, несомненно, повлияло бы на энергетическую конфигурацию реакционного центра ФС I- $\text{Хл } d$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кинетические и термодинамические параметры первичных реакций разделения зарядов в ре-

акционном центре канонической ФС I, содержащей $\text{Хл } a$, остаются предметом многолетних дискуссий. Кинетический анализ фемтосекундных фотохимических процессов в ФС I из *A. marina*, в фотосинтетическом аппарате которой присутствует длинноволновый $\text{Хл } d$, позволил однозначно определить последовательность первичных реакций разделения зарядов в реакционном центре, содержащем $\text{Фео } a$ в обеих ветвях переноса электрона. Показано, что первичным донором электронов в этой системе является специальная пара P_{740} , а первичный акцептор представляет собой сопряженный гетеродимер Хл_{d2} и Фео_{a3} . При возбуждении ФС I из *A. marina* в ближнем инфракрасном диапазоне образование первичной ион-радикальной пары происходит с эффективным временем 1.6 пс и сопровождается понижением свободной энергии на 0.06 эВ. Изменение ΔG при последующем переносе электрона на филохинон составляет $0.15\text{--}0.4$ эВ.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторский коллектив благодарит А.Ю. Семёнова за помощь в работе над обзором.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ:

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-74-10085).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания собственных исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Manning W. M. and Strain H. H. Chlorophyll D, a green pigment of red algae. *J. Biol. Chem.*, **151** (1), 1–19 (1943). DOI: 10.1016/s0021-9258(18)72109-1
2. Tomo T. and Allakhverdiev S. I. Chlorophyll species and their functions in the photosynthetic energy conversion. In *Photosynthesis: Molecular approaches to solar energy conversion (Advances in photosynthesis and respiration, vol. 47)*, Ed. by J. Shen, K. Satoh, and S. I. Allakhverdiev (Springer, Cham), pp. 133–161. DOI: 10.1007/978-3-030-67407-6_5
3. Miyashita H., Ikemoto H., Kurano N., Adachi K., Chihara M., and Miyachi S. Chlorophyll d as a major pigment. *Nature*, **383** (6599), 402 (1996). DOI: 10.1038/383402a0

4. Li Y., Scales N., Blankenship R. E., Willows R. D., and Chen M. Extinction coefficient for red-shifted chlorophylls: Chlorophyll d and chlorophyll f. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.*, **1817** (8), 1292–1298 (2012). DOI: 10.1016/j.bbabbio.2012.02.026
5. Hooper J. K., Eggink L. L., and Chen M. Chlorophylls, ligands and assembly of light-harvesting complexes in chloroplasts. *Photosynth. Res.*, **94** (2–3), 387–400 (2007). DOI: 10.1007/s11120-007-9181-1
6. Nugent J. H. A., Purton S., and Evans M. C. W. Oxygenic Photosynthesis in algae and cyanobacteria: electron transfer in photosystems I and II. In *Photosynthesis in Algae (Advances in Photosynthesis and Respiration, vol 14)*, Ed. by Larkum A. W. D., Douglas S. E., and Raven J. A. (Springer, Dordrecht, 2003), pp. 133–156. DOI: 10.1007/978-94-007-1038-2_7
7. Allakhverdiev S. I., Tsuchiya T., Watabe K., Kojima A., Los D. A., Tomo T., Klimov V. V., and Mimuro M. Redox potentials of primary electron acceptor quinone molecule (Q A)- and conserved energetics of photosystem II in cyanobacteria with chlorophyll a and chlorophyll d. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108** (19), 8054–8058 (2011). DOI: 10.1073/pnas.1100173108
8. Razeghifard M. R., Chen M., Hughes J. L., Freeman J., Krausz E., and Wydrzynski T. Spectroscopic studies of photosystem II in chlorophyll d-containing *Acaryochloris marina*. *Biochemistry*, **44** (33), 11178–11187 (2005). DOI: 10.1021/bi048314c
9. Jordan P., Fromme P., Witt H. T., Klukas O., Saenger W., and Krauß N. Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution. *Nature*, **411** (6840), 909–917 (2001). DOI: 10.1038/35082000
10. Gobets B., Van Stokkum I. H. M., Van Mourik F., Dekker J. P., and Van Grondelle R. Excitation wavelength dependence of the fluorescence kinetics in photosystem I particles from *Synechocystis* PCC 6803 and *Synechococcus elongatus*. *Biophys. J.*, **85** (6), 3883–3898 (2003). DOI: 10.1016/S0006-3495(03)74803-6
11. Herascu N., Hunter M. S., Shafiei G., Najafi M., Johnson T. W., Fromme P., and Zazubovich V. Spectral hole burning in cyanobacterial photosystem I with P700 in oxidized and neutral states. *J. Phys. Chem. B*, **120** (40), 10483–10495 (2016). DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b07803
12. Hatazaki S., Sharma D. K., Hirata S., Nose K., Iyoda T., Kölsch A., Lokstein H., and Vacha M. Identification of short- and long-wavelength emitting chlorophylls in cyanobacterial photosystem I by plasmon-enhanced single-particle spectroscopy at room temperature. *J. Phys. Chem. Lett.*, **9** (22), 6669–6675 (2018). DOI: 10.1021/acs.jpcclett.8b03064
13. Byrdin M., Jordan P., Krauss N., Fromme P., Stehlik D., and Schlodder E. Light harvesting in photosystem I: Modeling based on the 2.5-Å structure of photosystem I from *Synechococcus elongatus*. *Biophys. J.*, **83** (1), 433–457 (2002). DOI: 10.1016/S0006-3495(02)75181-3
14. Yang M., Damjanović A., Vaswani H. M., and Fleming G. R. Energy transfer in photosystem I of cyanobacteria *Synechococcus elongatus*: Model study with structure-based semi-empirical Hamiltonian and experimental spectral density. *Biophys. J.*, **85** (1), 140–158 (2003). DOI: 10.1016/S0006-3495(03)74461-0
15. Kramer T., Noack M., Reimers J. R., Reinefeld A., Rodríguez M., and Yin S. Energy flow in the Photosystem I supercomplex: Comparison of approximative theories with DM-HEOM. *Chem. Phys.*, **515** 262–271 (2018). DOI: 10.1016/j.chemphys.2018.05.028
16. Akhtar P., Caspy I., Nowakowski P. J., Malavath T., Nelson N., Tan H. S., and Lambrev P. H. Two-dimensional electronic spectroscopy of a minimal photosystem I complex reveals the rate of primary charge separation. *J. Am. Chem. Soc.*, **143** (36), 14601–14612 (2021). DOI: 10.1021/jacs.1c05010
17. Müller M. G., Niklas J., Lubitz W., and Holzwarth A. R. Ultrafast transient absorption studies on photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas reinhardtii*. 1. A new interpretation of the energy trapping and early electron transfer steps in photosystem I. *Biophys. J.*, **85** (6), 3899–3922 (2003). DOI: 10.1016/S0006-3495(03)74804-8
18. Li Y., Van Der Est A., Lucas M. G., Ramesh V. M., Gu F., Petrenko A., Lin S., Webber A. N., Rappaport F., and Redding K. Directing electron transfer within Photosystem I by breaking H-bonds in the cofactor branches. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103** (7), 2144–2149 (2006). DOI: 10.1073/pnas.0506537103
19. Cherepanov D. A., Shelaev I. V., Gostev F. E., Mamedov M. D., Petrova A. A., Aybush A. V., Shuvalov V. A., Semenov A. Y., and Nadtchenko 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 Q Y band. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.*, **1858** (11), 895–905 (2017). DOI: 10.1016/j.bbabbio.2017.08.008
20. Srinivasan N. and Golbeck J. H. Protein-cofactor interactions in bioenergetic complexes: the role of the A1A and A1B phylloquinones in Photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta*, **1787** (9), 1057–88 (2009). DOI: 10.1016/j.bbabbio.2009.04.010
21. Santabarbara S., Heathcote P., and Evans M. C. W. Modelling of the electron transfer reactions in Photosystem I by electron tunnelling theory: The phylloquinones bound to the PsaA and the PsaB reaction centre subunits of PS I are almost isoenergetic to the iron-sulfur cluster FX. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.*, **1708** (3), 283–310 (2005). DOI: 10.1016/j.bbabbio.2005.05.001
22. Müller M. G., Slavov C., Luthra R., Redding K. E., and Holzwarth A. R. Independent initiation of primary electron transfer in the two branches of the photosystem I reaction center. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107** (9), 4123–4128 (2010). DOI: 10.1073/pnas.0905407107
23. Kaucikas M., Nürnberg D., Dorlhac G., Rutherford A. W., and van Thor J. J. Femtosecond visible transient absorption spectroscopy of chlorophyll f-

- containing photosystem I. *Biophys. J.*, **112** (2), 234–249 (2017). DOI: 10.1016/j.bpj.2016.12.022
24. Van Stokkum I. H. M., Desquilbet T. E., Van Der Weijde Wit C. D., Snellenburg J. J., Van Grondelle R., Thomas J. C., Dekker J. P., and Robert B. Energy transfer and trapping in red-chlorophyll-free photosystem I from *Synechococcus* WH 7803. *J. Phys. Chem. B*, **117** (38), 11176–11183 (2013). DOI: 10.1021/jp401364a
25. Shelaev I. V., Gostev F. E., Mamedov M. D., Sarkisov O. M., Nadtochenko V. A., Shuvalov V. A., and Semenov A. Y. Femtosecond primary charge separation in *Synechocystis* sp. PCC 6803 photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, **1797** (8), 1410–1420 (2010). DOI: 10.1016/j.bbabo.2010.02.026
26. Petrova A. A., Boskhomdzhiyeva B. K., Milanovsky G. E., Koksharova O. A., Mamedov M. D., Cherepanov D. A., and Semenov A. Y. Interaction of various types of photosystem I complexes with exogenous electron acceptors. *Photosynth. Res.*, **133** (1–3), 175–184 (2017). DOI: 10.1007/s11120-017-0371-1
27. Milanovsky G. E., Petrova A. A., Cherepanov D. A., and Semenov A. Y. Kinetic modeling of electron transfer reactions in photosystem I complexes of various structures with substituted quinone acceptors. *Photosynth. Res.*, **133** (1–3), 185–199 (2017). DOI: 10.1007/s11120-017-0366-y
28. Björn L. O., Papageorgiou G. C., Blankenship R. E., and Govindjee. A viewpoint: Why chlorophyll a? *Photosynth. Res.*, **99** (2), 85–98 (2009). DOI: 10.1007/s11120-008-9395-x
29. Hu Q., Miyashita H., Iwasaki I., Kurano N., Miyachi S., Iwaki M., and Itoh S. A photosystem I reaction center driven by chlorophyll d in oxygenic photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95** (22), 13319–13323 (1998). DOI: 10.1073/pnas.95.22.13319
30. Tomo T., Kato Y., Suzuki T., Akimoto S., Okubo T., Noguchi T., Hasegawa K., Tsuchiya T., Tanaka K., Fukuya M., Dohmae N., Watanabe T., and Mimuro M. Characterization of highly purified photosystem I complexes from the chlorophyll d-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina* MBIC 11017. *J. Biol. Chem.*, **283** (26), 18198–18209 (2008). DOI: 10.1074/jbc.M801805200
31. Akiyama M., Miyashita H., Kise H., Watanabe T., Miyachi S., and Kobayashi M. Detection of chlorophyll d' and pheophytin a in a chlorophyll d-dominating oxygenic photosynthetic prokaryote *Acaryochloris marina*. *Anal. Sci.*, **17** (1), 205–208 (2001). DOI: 10.2116/analsci.17.205
32. Akiyama M., Miyashita H., Kise H., Watanabe T., Mimuro M., Miyachi S., and Kobayashi M. Quest for minor but key chlorophyll molecules in photosynthetic reaction centers - Unusual pigment composition in the reaction centers of the chlorophyll d-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina*. *Photosynth. Res.*, **74** (2), 97–107 (2002). DOI: 10.1023/A:1020915506409
33. Sivakumar V., Wang R., and Hastings G. Photo-oxidation of P740, the primary electron donor in photosystem I from *Acaryochloris marina*. *Biophys. J.*, **85** (5), 3162–3172 (2003). DOI: 10.1016/S0006-3495(03)74734-1
34. Mino H., Kawamori A., Aoyama D., Tomo T., Iwaki M., and Itoh S. Proton ENDOR study of the primary donor P740+, a special pair of chlorophyll d in photosystem I reaction center of *Acaryochloris marina*. *Chem. Phys. Lett.*, **411** (1–3), 262–266 (2005). DOI: 10.1016/j.cplett.2005.06.033
35. Hamaguchi T., Kawakami K., Shinzawa-Itoh K., Inoue-Kashino N., Itoh S., Ifuku K., Yamashita E., Maeda K., Yonekura K., and Kashino Y. Structure of the far-red light utilizing photosystem I of *Acaryochloris marina*. *Nat. Commun.*, **12** (1), 1–10 (2021). DOI: 10.1038/s41467-021-22502-8
36. Xu C., Zhu Q., Chen J., Shen L., Yi X., Huang Z., Wang W., Chen M., Kuang T., Shen J., Zhang X., and Han G. A unique photosystem I reaction center from a chlorophyll d-containing cyanobacterium *Acaryochloris marina*. *J. Integr. Plant Biol.*, **63** (10), 1740–1752 (2021). DOI: 10.1111/jipb.13113
37. Kumazaki S., Abiko K., Ikegami I., Iwaki M., and Itoh S. Energy equilibration and primary charge separation in chlorophyll d-based photosystem I reaction center isolated from *Acaryochloris marina*. *FEBS Lett.*, **530** (1–3), 153–157 (2002). DOI: 10.1016/S0014-5793(02)03446-4
38. Kumazaki S., Iwaki M., Ikegami I., Kandori H., Yoshihara K., and Itoh S. Rates of primary electron transfer reactions in the photosystem I reaction center reconstituted with different quinones as the secondary acceptor. *J. Phys. Chem.*, **98** (43), 11220–11225 (1994). DOI: 10.1021/j100094a033
39. Savikhin S., Xu W., Martinsson P., Chitnis P. R., and Struve W. S. Kinetics of charge separation and A0- → A1 electron transfer in photosystem I reaction centers. *Biochemistry*, **40** (31), 9282–9290 (2001). DOI: 10.1021/bi0104165
40. Holzwarth A. R., Müller M. G., Niklas J. and Lubitz W. Ultrafast transient absorption studies on Photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas reinhardtii*. 2: Mutations near the P700 reaction center chlorophylls provide new insight into the nature of the primary electron donor. *Biophys. J.*, **90** (2), 552–565 (2006). DOI: 10.1529/biophysj.105.059824
41. Donato M. Di, Stahl A. D., Van Stokkum I. H. M., Grondelle R. Van, and Groot M. L. Cofactors involved in light-driven charge separation in photosystem I identified by subpicosecond infrared spectroscopy. *Biochemistry*, **50** (4), 480–490 (2011). DOI: 10.1021/bi101565w
42. Nürnberg D. J., Morton J., Santabarbara S., Telfer A., Joliot P., Antonaru L. A., Ruban A. V., Cardona T., Krausz E., Boussac A., Fantuzzi A., and Rutherford A. W. Photochemistry beyond the red limit in chlorophyll f-containing photosystems. *Science*, **360** (6394), 1210–1213 (2018). DOI: 10.1126/science.aar8313

43. Zamzam N., Kaucikas M., Nürnberg D. J., Rutherford A. W., and Van Thor J. J. Femtosecond infrared spectroscopy of chlorophyll f-containing photosystem I. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **21** (3), 1224–1234 (2019). DOI: 10.1039/c8cp05627g
44. Melkozernov A. N., Lin S., and Blankenship R. E. Excitation dynamics and heterogeneity of energy equilibration in the core antenna of photosystem I from the *Cyanobacterium Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry*, **39** (6), 1489–1498 (2000). DOI: 10.1021/bi991644q
45. Savikhin S. and Jankowiak R. Mechanism of primary charge separation in photosynthetic reaction centers. In *The Biophysics of Photosynthesis (Biophysics for the Life Sciences, vol 11)* Ed. by J. Golbeck and A. van der Est (Springer, New York, 2014), pp. 193–240. DOI: 10.1007/978-1-4939-1148-6_7
46. Byrdin M., Rimke I., Schlodder E., Stehlik D., and Roelofs T. A. Decay kinetics and quantum yields of fluorescence in photosystem I from *Synechococcus elongatus* with P700 in the reduced and oxidized state: Are the kinetics of excited state decay trap-limited or transfer-limited? *Biophys. J.*, **79** (2), 992–1007 (2000). DOI: 10.1016/S0006-3495(00)76353-3
47. Savikhin S., Xu W., Chitnis P. R. and Struve W. S. Ultrafast primary processes in PS I from *Synechocystis* sp. PCC 6803: Roles of P700 and A0. *Biophys. J.*, **79** (3), 1573–1586 (2000). DOI: 10.1016/S0006-3495(00)76408-3
48. Cherepanov D. A., Shelaev I. V., Gostev F. E., Nadtochenko V. A., Xu W., Golbeck J. H., and Semenov A. Y. Symmetry breaking in photosystem I: ultrafast optical studies of variants near the accessory chlorophylls in the A- and B-branches of electron transfer cofactors. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **20** (9), 1209–1227 (2021). DOI: 10.1007/s43630-021-00094-y
49. Trissl H. W. Determination of the quenching efficiency of the oxidized primary donor of Photosystem I, P700+: Implications for the trapping mechanism. *Photosynth. Res.*, **54** (3), 237–240 (1997). DOI: 10.1023/A:1005981016835
50. Brettel K. Electron transfer and arrangement of the redox cofactors in photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.*, **1318** (3), 322–373 (1997). DOI: 10.1016/S0005-2728(96)00112-0
51. Petrova A. A., Casazza A. P., Shelaev I. V., Gostev F. E., Aybush A. V., Nadtochenko V. A., Semenov A. Y., Santabarbara S., and Cherepanov D. A. Role of pheophytin a in the primary charge separation of photosystem I from *Acaryochloris marina*: Femtosecond optical studies of excitation energy and electron transfer reactions. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.*, **1864** (3), 148984 (2023). DOI: 10.1016/j.bbabi.2023.148984
52. Cherepanov D. A., Shelaev I. V., Gostev F. E., Aybush A. V., Mamedov M. D., Shuvalov V. A., Semenov A. Y., and Nadtochenko V. A. Generation of ion-radical chlorophyll states in the light-harvesting antenna and the reaction center of cyanobacterial photosystem I. *Photosynth. Res.*, **146**, 55–73 (2020). DOI: 10.1007/s11120-020-00731-0
53. Cherepanov D. A., Shelaev I. V., Gostev F. E., Petrova A., Aybush A. V., Nadtochenko V. A., Xu W., Golbeck J. H., and Semenov A. Y. Primary charge separation within the structurally symmetric tetrameric Chl2APAPBChl2B chlorophyll exciplex in photosystem I. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, **217** 112154 (2021). DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2021.112154
54. Schenderlein M., Çetin M., Barber J., Telfer A., and Schlodder E. Spectroscopic studies of the chlorophyll d containing photosystem I from the cyanobacterium, *Acaryochloris marina*. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.*, **1777** (11), 1400–1408 (2008). DOI: 10.1016/j.bbabio.2008.08.008
55. Eijkelhoff C. and Dekker J. P. A routine method to determine the chlorophyll a, pheophytin a and β -carotene contents of isolated Photosystem II reaction center complexes. *Photosynth. Res.*, **52** (1), 69–73 (1997). DOI: 10.1023/A:1005834006985
56. Dashdorj N., Xu W., Martinsson P., Chitnis P. R., and Savikhin S. Electrochromic shift of chlorophyll absorption in photosystem I from *Synechocystis* sp. PCC 6803: a probe of optical and dielectric properties around the secondary electron acceptor. *Biophys. J.*, **86** (5), 3121–3130 (2004). DOI: 10.1016/S0006-3495(04)74360-X
57. Chauvet A., Dashdorj N., Golbeck J. H., Johnson T. W., and Savikhin S. Spectral resolution of the primary electron acceptor A0 in Photosystem I. *J. Phys. Chem. B*, **116** (10), 3380–6 (2012). DOI: 10.1021/jp211246a
58. Mokvist F., Mamedov F. and Styring S. Defining the far-red limit of photosystem I: the primary charge separation is functional to 840 nm. *J. Biol. Chem.*, **289** (35), 24630–9 (2014). DOI: 10.1074/jbc.M114.555649
59. Schlodder E., Lendzian F., Meyer J., Çetin M., Brecht M., Renger T., and Karapetyan N. V. Long-wavelength limit of photochemical energy conversion in Photosystem I. *J. Am. Chem. Soc.*, **136** (10), 3904–3918 (2014). DOI: 10.1021/ja412375j
60. Bailleul B., Johnson X., Finazzi G., Barber J., Rappaport F., and Telfer A. The thermodynamics and kinetics of electron transfer between cytochrome b6f and photosystem I in the chlorophyll d-dominated cyanobacterium, *Acaryochloris marina*. *J. Biol. Chem.*, **283** (37), 25218–25226 (2008). DOI: 10.1074/jbc.M803047200
61. Golbeck J. H., Parrett K. G., and McDermott A. E. Photosystem I charge separation in the absence of center A and B. III. Biochemical characterization of a reaction center particle containing P-700 and FX. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.*, **893** (2), 149–160 (1987). DOI: 10.1016/0005-2728(87)90034-X
62. Parrett K. G., Mehari T., Warren P. G., and Golbeck J. H. Purification and properties of the intact P-700 and Fx-containing Photosystem I core protein. *Biochim. Biophys. Acta*, **973** (2), 324–32 (1989). DOI: 10.1016/S0005-2728(89)80439-6

63. Brettel K. and Leibl W. Electron transfer in photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, **1507** (1–3), 100–114 (2001). DOI: 10.1016/S0005-2728(01)00202-X
64. Vassiliev I. R., Jung Y. S., Mamedov M. D., Semenov A. Yu., and Golbeck J. H. Near-IR absorbance changes and electrogenic reactions in the microsecond-to-second time domain in Photosystem I. *Biophys. J.*, **72** (1), 301–315 (1997). DOI: 10.1016/S0006-3495(97)78669-7
65. Sun J., Hao S., Radle M., Xu W., Shelaev I., Nadtochenko V., Shuvalov V., Semenov A., Gordon H., van der Est A., and Golbeck J. H. Evidence that histidine forms a coordination bond to the A0A and A0B chlorophylls and a second H-bond to the A1A and A1B phylloquinones in M688HPsaA and M688HPsaB variants of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, **1837** (8), 1362–1375 (2014). DOI: 10.1016/j.bbabi.2014.04.004
66. Agalarov R. and Brettel K. Temperature dependence of biphasic forward electron transfer from the phylloquinone(s) A1 in photosystem I: Only the slower phase is activated. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, **1604** (1), 7–12 (2003). DOI: 10.1016/S0005-2728(03)00024-0
67. Jordan R., Nessel U., and Schlodder E. Charge Recombination Between the Reduced Iron-Sulphur Clusters and P700+. In *Photosynthesis: Mechanisms and Effects (Proc. XIth Int. Congr. Photosynth.)*, Ed. by G. Garab (Springer, Dordrecht, 1998), vol. I, pp. 663–666. DOI: 10.1007/978-94-011-3953-3_157
68. Ptushenko V. V., Cherepanov D. A., Krishtalik L. I., and Semenov A. Y. Semi-continuum electrostatic calculations of redox potentials in photosystem I. *Photosynth. Res.*, **97** (1), 55–74 (2008). DOI: 10.1007/s11120-008-9309-y
69. Cherepanov D. A., Milanovsky G. E., Nadtochenko V. A., and Semenov A. Y. Energy barrier of photoinduced charge separation in the reaction centers of photosystems I and II. *Russ. J. Phys. Chem. B*, **17** (3), 594–599 (2023).
70. Ishikita H. and Knapp E.-W. Redox potential of quinones in both electron transfer branches of photosystem I. *J. Biol. Chem.*, **278** (52), 52002–11 (2003). DOI: 10.1074/jbc.M306434200
71. Kawashima K. and Ishikita H. Structural Factors That Alter the Redox Potential of Quinones in Cyanobacterial and Plant Photosystem I. *Biochemistry*, **56** (24), 3019–3028 (2017). DOI: 10.1021/acs.biochem.7b00082
72. Shinkarev V. Functional modeling of electron transfer in photosynthetic reaction centers. In *Photosystem I. The Light-Driven Plastocyanin: Ferredoxin Oxidoreductase (Advances in Photosynthesis and Respiration, vol. 24)*, Ed. by J. H. Golbeck, (Springer, Dordrecht, 2006). DOI: 10.1007/978-1-4020-4256-0_36
73. Kleinherenbrink F. A. M., Hastings G., Blankenship R. E., and Wittmershaus B. P. Delayed fluorescence from Fe-S type photosynthetic reaction centers at low redox potential. *Biochemistry*, **33** (10), 3096–3105 (1994). DOI: 10.1021/bi00176a044
74. Molotokaite E., Remelli W., Casazza A. P., Zucchelli G., Polli D., Cerullo G., and Santabarbara S. Trapping dynamics in photosystem I-light harvesting complex I of higher plants is governed by the competition between excited state diffusion from low energy states and photochemical charge separation. *J. Phys. Chem. B*, **121** (42), 9816–9830 (2017). DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b07064
75. Giera W., Ramesh V. M., Webber A. N., van Stokkum I., van Grondelle R., and Gibasiewicz K. Effect of the P700 pre-oxidation and point mutations near A0 on the reversibility of the primary charge separation in Photosystem I from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, **1797** (1), 106–112 (2010). DOI: 10.1016/j.bbabi.2009.09.006
76. Holzwarth A. R., Müller M. G., Niklas J., and Lubitz W. Charge recombination fluorescence in photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Phys. Chem. B*, **109** (12), 5903–5911 (2005). DOI: 10.1021/jp046299f
77. Cherepanov D. A., Shelaev I. V., Gostev F. E., Aybush A. V., Mamedov M. D., Shen G., Nadtochenko V. A., Bryant D. A., Semenov A. Y., and Golbeck J. H. Evidence that chlorophyll f functions solely as an antenna pigment in far-red-light photosystem I from *Fischerella thermalis* PCC 7521. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, **1861** (5–6), 148184 (2020). DOI: 10.1016/j.bbabi.2020.148184
78. Cherepanov D. A., Semenov A. Y., Mamedov M. D., Aybush A. V., Gostev F. E., Shelaev I. V., Shuvalov V. A., and Nadtochenko V. A. Current state of the primary charge separation mechanism in photosystem I of cyanobacteria. *Biophys. Rev.*, **14** (4), 805–820 (2022). DOI: 10.1007/s12551-022-00983-1
79. Wasielewski M. R., Smith R. L., and Kostka A. G. Electrochemical production of chlorophyll a and pheophytin a excited states. *J. Am. Chem. Soc.*, **102** (23), 358 (1981). DOI: 10.1021/JA00543A004/ASSET/JA00543A004.FP.PNG_V03
80. Kobayashi M., Ohashi S., Iwamoto K., Shiraiwa Y., Kato Y., and Watanabe T. Redox potential of chlorophyll d in vitro. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.*, **1767** (6), 596–602 (2007). DOI: 10.1016/j.bbabi.2007.02.015
81. Gorka M., Charles P., Kalendra V., Baldansuren A., Lakshmi K. V., and Golbeck J. H. A dimeric chlorophyll electron acceptor differentiates type I from type II photosynthetic reaction centers. *iScience*, **24** (7), 102719 (2021). DOI: 10.1016/j.isci.2021.102719
82. Gorka M., Baldansuren A., Malnati A., Gruszecki E., Golbeck J. H., and Lakshmi K. V. Shedding light on primary donors in photosynthetic reaction centers. *Front. Microbiol.*, **12** 2776 (2021). DOI: 10.3389/fmicb.2021.735666

Photochemical Energy Conversion of Far-Red Light in Photosystem I Reaction Centers from *Cyanobacterium Acaryochloris marina*

A.A. Petrova*, A. P. Casazza**, S. Santabarbara**, and D.A. Cherepanov*, ***

*A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1/40, Moscow, 119992 Russia

**Photosynthesis Research Unit, National Research Council of Italy, Via Corti 12, Milano, 20133 Italy

***N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119991 Russia

Conversion of near-infrared light energy by photosynthetic pigment-protein complexes has been the focus of intensive research in recent years because of the discovery of cyanobacteria with photosynthetic apparatus, which contains chlorophyll *f* and *d* that can absorb long-wave light. Among these cyanobacteria, *Acaryochloris marina* occupies a special place. Its photosystem I contains predominantly chlorophyll *d*, it is the component of the special P₇₄₀ pair with the absorption spectrum shifted to the red region by 40 nm. This causes a decrease in the energy of the excited state of the special P₇₄₀ pair by ~0.1 eV as opposed to photosystem I that contains chlorophyll *a* molecules. The complexes of photosystem I from *A. Marina* have some other particularities; they are: four molecules of chlorophyll *a* of the reaction center are replaced by chlorophyll *d* molecules, and the third pair of chlorophyll *a* molecules involved in electron transfer is replaced by pheophytin *a* molecules. The presence of spectrally diverse cofactors (chlorophyll *d* and pheophytin *a* molecules) has made it possible to reliably identify the intermediate compounds of the primary reactions of primary charge separation in photosystem I. This review presents the findings of a research study on photochemical energy conversion in the reaction centers of photosystem I from *A. marina* and potential mechanisms that compensate energy losses during the utilization of low-energy far-red light for photo-synthesis.

Keywords: photosynthesis, far-red light, chlorophyll d, photosystem I, charge separation, kinetic modeling