

УДК 577.355.3

# ОКСИГЕННЫЙ ФОТОСИНТЕЗ: ИНДУКЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА *а* И РЕГУЛЯЦИЯ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА В ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАНАХ *in silico*

© 2025 г. А. В. Вершубский<sup>а</sup>, В. И. Приклонский<sup>а</sup>, А. Н. Тихонов<sup>а, \*</sup>

<sup>а</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет,

Москва, 119992 Россия

\*e-mail: an\_tikhonov@mail.ru

Поступила в редакцию 19.09.2024

После доработки 12.10.2024

Принята к печати 17.10.2024

В работе описана расширенная математическая модель регуляции ключевых стадий переноса электронов в фотосинтетической цепи электронного транспорта (ЦЭТ) и сопряженных с ними процессов *транс*-тилакоидного переноса протонов и синтеза АТР в хлоропластах. В эту модель включены первичный пластохинон  $PQ_A$ , связанный с фотосистемой 2 (ФС2), и вторичный пластохинон  $PQ_B$ , обменивающийся с молекулами пластохинона, входящими в пул электронных переносчиков между ФС2 и фотосистемой 1 (ФС1). Модель адекватно описывает многофазные немонотонные кривые индукции флуоресценции хлорофилла и кинетики светоиндуцированных редокс-превращений  $P_{700}$  (фотореакционный центр ФС1), пластохинона, изменений концентрации АТР и рН в люмене ( $pH_{in}$ ) и в строме ( $pH_{out}$ ) в зависимости от условий освещения хлоропластов (варьирование интенсивности и спектрального состава света). Результаты моделирования согласуются с экспериментальными данными по многофазным кинетикам превращений  $P_{700}$  в листьях высших растений и индукции флуоресценции хлорофилла *a*. Полученные данные обсуждаются в контексте «краткосрочных» механизмов рН-зависимой регуляции электронного транспорта в интактных хлоропластах (нефотохимическое тушение возбуждения в ФС2 и активация реакций цикла Кальвина–Бенсона).

**Ключевые слова:** хлороплазты, электронный и протонный транспорт, математическое моделирование.

**DOI:** 10.31857/S0233475525010015, **EDN:** iiuknus

## ВВЕДЕНИЕ

Выяснение механизмов регуляции электронного и протонного транспорта в фотосинтетических организмах оксигенного типа (растения, цианобактерии) – актуальная задача биофизики, биохимии и физиологии фотосинтеза. В фотосинтетических мембранах находятся светособирающие пигмент-белковые комплексы фотосистемы 1 (ФС1) и фотосистемы 2 (ФС2), которые поглощают свет и передают энергию нейтрально-го возбуждения пигментов реакционным центрам ФС1 и ФС2 [1, 2]. Разделение зарядов в фотореакционных центрах инициирует перенос электронов по цепи от молекул воды, разлагаемых в ФС2, к ФС1, в результате чего  $NADP^+$  восстанавливается до НАДФН. Перенос электронов по электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) сопряжен с образованием *транс*-мембранный разности

электрохимических потенциалов ионов водорода ( $\Delta\mu_{H^+}$ ). За счет энергии  $\Delta\mu_{H^+}$  в АТР-синтазном комплексе ( $CF_0$ - $CF_1$ ) из АДР и неорганического фосфата (ортофосфат,  $P_i$ ) образуются молекулы АТР. В строме (пространство между оболочкой хлоропласта и тилакоидами) находятся ферменты цикла Кальвина–Бенсона (ЦКБ), катализирующие восстановление  $CO_2$  за счет энергии образующихся на свету молекул НАДФН и АТР [1–3].

Оптимизация работы фотосинтетического аппарата (ФСА) хлоропластов обеспечивается за счет быстрых (секунды–минуты) и медленных (часы–сутки) механизмов регуляции фотосинтетических процессов [4–6]. Адаптация ФСА к условиям освещения позволяет осуществлять эффективный светосбор при слабой освещенности и защищать ФСА от повреждений при избыточном освещении на сильном свету [7, 8].

*Быстрые механизмы* регуляции связаны с активацией/деактивацией ферментов ЦКБ, перераспределением энергии поглощаемого света между ФС1 и ФС2, влиянием рН стромы ( $pH_{out}$ ) и рН внутритилакоидного пространства (люмен,  $pH_{in}$ ) на процессы электронного переноса (функционирование ФС2, электронный транспорт между ФС2 и ФС1, отток электронов от ФС1 в ЦКБ). Кроме этого, хлоропласты могут изменять свою локализацию в клетках растений, приближаясь к адаксиальной (верхней) поверхности клетки для более эффективного поглощения света или удаляясь в глубину клетки, чтобы избежать фотоповреждений [9]. *Медленные механизмы* регуляции связаны со светоиндуцированными изменениями экспрессии белков ФСА [10, 11].

При флюктуациях внешних условий (свет, температура, условия питания) важную роль в оптимизации ФСА играют процессы переключения потоков электронов по альтернативным путям электронного переноса. *Нециклический электронный транспорт* (НЭТ) – перенос электронов от ФС2 к ФС1 и далее к  $NADP^+$ , регулируется на пластохиноновом участке ЭТЦ [12–17]. Цепь *циклического электронного транспорта* (ЦЭТ) вокруг ФС1 включает ферредоксин-хинон-редуктазу (FQR), через которую восстановленная молекула ферредоксина ( $Fd^-$ ) передает электрон в пластохиноновый пул, от которого электрон попадает к окисленному реакционному центру ФС1 ( $P_{700}^+$ ) [18–22]. При ЦЭТ молекулы  $NADP^+$  не восстанавливаются, но протоны переносятся из стромы в люмен – внутритилакоидное пространство хлоропластов. Считается, что роль FQR играют белки PGR5 и PGRL1, связанные с цитохромным комплексом  $b_6f$ , который катализирует окисление пластохинола ( $PQH_2$ ) и обеспечивает восстановление пластоцианина (Pc) [19].

Цель настоящей работы – анализ индукционных процессов фотосинтеза в рамках расширенной модели световых стадий окисленного фотосинтеза. Математическое моделирование давно применяется для анализа световых стадий фотосинтеза (см. монографии и обзоры [23–26]). Ранее мы разработали модель электронного и протонного транспорта [27–32], описывающую основные закономерности функционирования ЭТЦ окисленных фотосинтетических систем. Расширенная модель, рассмотренная

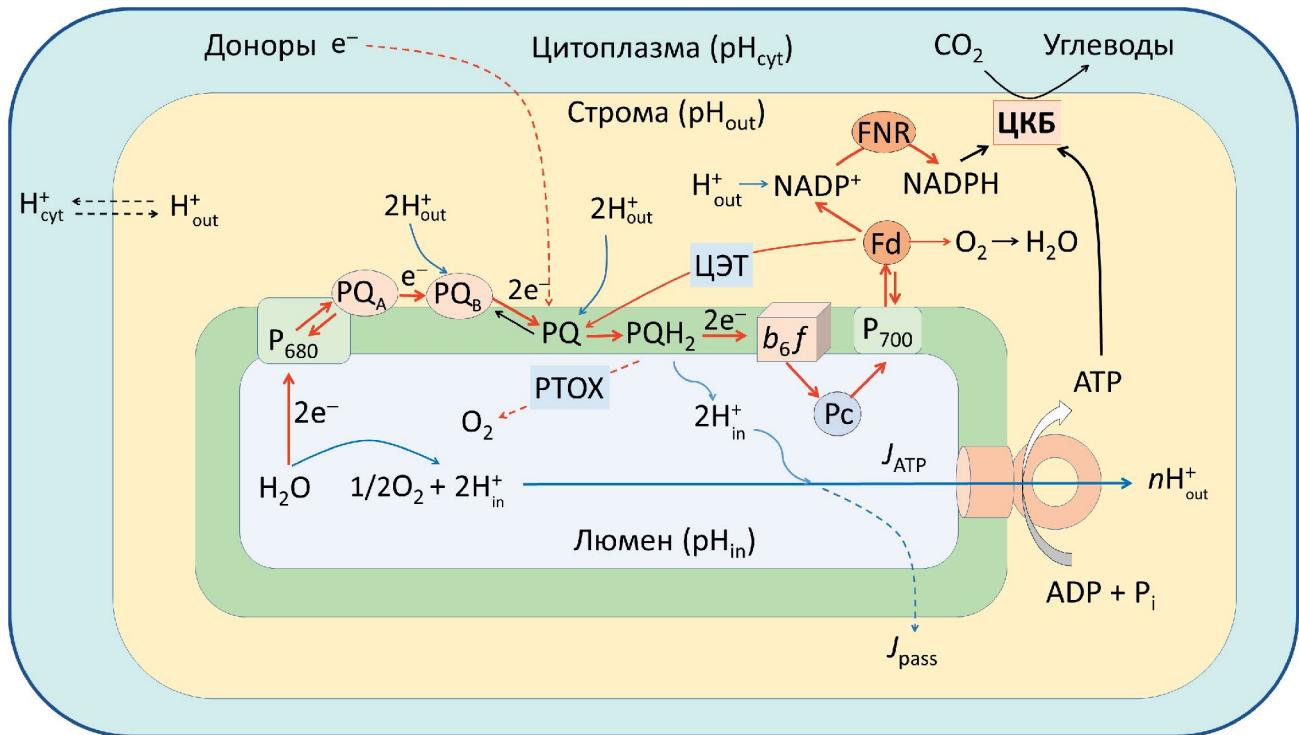
в настоящей работе, дополнительно включает в себя два переносчика электронов на акцепторном участке ФС2 – прочно связанный пластохинон  $PQ_A$  и пластохинон  $PQ_B$ , обменивающийся с молекулами пластохинонового ( $PQ$ ) пула между ФС2 и ФС1. Это позволило адекватно описать кривую индукции флуоресценции хлорофилла ( $Xh$ )<sup>1</sup> (немонотонные изменения выхода флуоресценции хлорофилла – эффект Каутского [33–36]) и многофазную кинетику редокс-превращений  $P_{700}$ ,  $PQ$ , ферредоксина ( $Fd$ ) и пластоцианина ( $Pc$ ). Полученные результаты объясняются в рамках рН-зависимой регуляции электрон-транспортных процессов, связанных с функционированием реакционных центров ФС1 и ФС2, процессами окисления пластохинола и активации ЦКБ.

## ОПИСАНИЕ МОДЕЛИ

На рис. 1 показана схема электрон- и протон-транспортных процессов, моделируемых в настоящей работе: 1) *нециклический* перенос электронов между ФС2 и ФС1 и дальнейший перенос электрона к  $NADP^+$ , 2) *циклический* транспорт электронов по цепи переноса вокруг ФС1, включающей пластохиноновый пул ( $PQ/PQH_2$ ), и 3) *псевдоциклический* транспорт электронов с участием молекулярного кислорода ( $O_2$ ) в качестве акцептора электрона в ФС1. Рассматриваются также процессы *транс*-тилакоидного переноса протонов, сопряженные с работой ЭТЦ, и синтез ATP из ADP и ортофосфата ( $P_i$ ). В основе расширенной модели – разработанная нами ранее кинетическая модель [27–32], дополненная за счет реакций переноса электронов на акцепторной стороне ФС2, происходящих с участием прочно связанной молекулы пластохинола  $PQ_A$  и молекулы пластохинона  $PQ_B$ , обменивающейся с молекулами пластохинонового пула между ФС2 и ФС1.

**Реакции электронного переноса.** С помощью системы обыкновенных дифференциальных уравнений (см. Приложение) описывается поведение следующих переменных модели:  $[P_{700}^+]$  и  $[P_{680}^+]$  – концентрации окисленных центров  $P_{700}$  (первичный донор электронов в ФС1) и  $P_{680}$  (первичный донор электронов в ФС2),  $[PQ_A]$  – концентрация окисленного пластохинона, прочно связанного с ФС2,  $[PQ_B]$  – концентрация окисленного пластохинона в ФС2, взаимодействующего с  $PQ_A$

<sup>1</sup> Общепринятым термином «индукционные явления» называют фотосинтетические процессы (например, немонотонный выход флуоресценции хлорофилла или многофазная кинетика электронного транспорта), которые наблюдаются у интактных растений, адаптированных к определенным условиям непосредственно перед началом измерений. Для моделирования индукционных явлений, связанных с адаптацией растений к свету или к темноте, мы варьировали начальные состояния электронных переносчиков и рН (см. описание методики расчетов и подписи к рисункам).



**Рис. 1.** Процессы электронного и протонного транспорта, рассматриваемые в модели, и схема компартментализации ионов водорода и трансмембранных потоков протонов, описываемых в модели. Обозначения: ЦКБ – цикл Кальвина–Бенсона; Fd – ферредоксин; FNR – ферредоксин–NADP–редуктаза; ЦЭТ – циклический электронный транспорт;  $P_{700}$  и  $P_{680}$  – первичные доноры электрона фотосистемы 1 (ФС1) и фотосистемы 2 (ФС2) соответственно;  $PQ_A$  – первичный пластохинон, связанный с фотосистемой 2 (ФС2),  $PQ_B$  – вторичный пластохинон, обменивающийся с молекулами пластохинона, входящими в путь электронных переносчиков между ФС2 и фотосистемой 1 (ФС1);  $Pc$  – пластоцианин;  $PQ$  – пластохинон (окисленная форма);  $PQH_2$  – пластохинол (восстановленная форма);  $b_6f$  – цитохромный комплекс  $b_6f$ ; РТОХ – терминальные оксидазы.

и  $PQ$ ,  $[PQ]$  – концентрация окисленных молекул пластилохинона, включенных в цепь переноса электронов от ФС2 к цитохромному комплексу  $b_6f$ ,  $[Pc]$  – концентрация окисленных переносчиков, являющихся непосредственными донорами электронов для окисленных центров  $P_{700}^+$  (пластоцианин в хлоропластах и/или цитохром  $c_6$  у цианобактерий),  $[Fd]$  – концентрация окисленного ферредоксина,  $[N^+]$  и  $[NH]$  – концентрации терминального акцептора ФС1 в окисленной и восстановленной формах, соответствующие  $NADP^+$  и  $NADPH$ . Переменная  $[ATP]$  соответствует концентрации АТР. Переменные  $[H^+_{i}]$  и  $[H^+_{o}]$  – суть концентрации ионов водорода в люмене (внутритилакоидное пространство) и в строме соответственно. Считается, в первом приближении, что все переносчики электронов равномерно распределены в тилакоидной мембране, а скорость переноса электронов между ФС2 и ФС1 не ограничивается диффузией мобильных переносчиков

электрона (см. обоснование в [15–17])<sup>2</sup>. Система кинетических уравнений и основные параметры модели приведены в Приложении. В настоящей работе концентрация молекулярного кислорода  $[O_2]$  полагается постоянной, что соответствует хорошо аэрируемой системе.

**Нециклический электронный транспорт (НЭТ)** связан с восстановлением  $NADP^+$  за счет электронов, поступающих в ЭТЦ от ФС2 ( $H_2O \rightarrow$  ФС2  $\rightarrow PQ \rightarrow b_6f \rightarrow$  ФС1  $\rightarrow Fd \rightarrow NADP^+$ ). Акцептором электрона в ФС1 является ферредоксин ( $Fd$ ). Два электрона от двух восстановленных молекул ферредоксина ( $Fd^-$ ) переносятся на  $NADP^+$  через ферредоксин–NADP–редуктазу (FNR). Восстановленная молекула  $NADP^-$  протонируется за счет ионов водорода, поступающих из стромы ( $NADP^- + H^+ \rightarrow NADPH$ ). Потребление  $NADPH$  и АТР описывается феноменологически с помощью функции  $k_{CVC}([NADPH], [ATP], pH_{out})$ , зависящей от концентраций  $[NADPH]$ ,  $[ATP]$  и  $pH$

<sup>2</sup> Диффузионно-контролируемые процессы электронного и протонного транспорта в хлоропластах описаны в рамках модели, учитывающей латеральную гетерогенность тилакоидных мембран [30].

стромы ( $\text{pH}_{\text{out}}$ ), предложенной ранее в работах [27–32]. В модели предусмотрено, что защелачивание стромы (увеличение  $\text{pH}_{\text{out}}$ ) ускоряет потребление NADPH и ATP в ЦКБ (сигмоидная зависимость эффективной константы  $k_{\text{CSC}}$ , зависящей от  $\text{pH}_{\text{out}}$  параметрически, см. Приложение).

При циклическом электронном транспорте (ЦЭТ) вокруг ФС1 электроны возвращаются от ферредоксина (Fd) в цепь между ФС2 и ФС1 (на уровне пластохинона) через FQR [21]. Возможен другой путь ЦЭТ, когда электроны от Fd возвращаются на пластохиноновый участок ЭТЦ через Fd-NADH-оксидоредуктазу типа 1 [18–22]. Однако эффективность работы такого пути ЦЭТ незначительна [22], и поэтому в данной работе этот цикл не рассматривался.

Учитываются также другие каналы переноса электронов: *а*) приток электронов в ЭТЦ за счет внешних источников, *б*) отток электронов от ФС1 – перенос электрона от ФС1 на молекулу  $\text{O}_2$  (реакция Мелера [37, 38]). В результате реакции Мелера образуются супероксидные радикалы  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , которые дисмутируют с образованием пероксида водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) и молекулярного кислорода ( $2\text{O}_2^{\bullet-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ ); молекулы  $\text{H}_2\text{O}_2$  разлагаются до  $\text{O}_2$  и воды. В итоге, от молекулы воды, разлагаемой в ФС2, электроны переносятся к молекулярному кислороду ( $\text{O}_2$ ); конечным продуктом этого цикла оказывается молекула воды. Это *псевдоциклический* путь переноса электронов (цикл «вода–вода»,  $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ФС2} \rightarrow \text{ФС1} \rightarrow \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$  [12, 13]). Цикл «вода–вода» обеспечивает перенос протонов в люмен, поддерживая тем самым синтез ATP. По разным источникам относительный вклад этого цикла может составлять от 10 до 60% от общего потока электронов [37, 38].

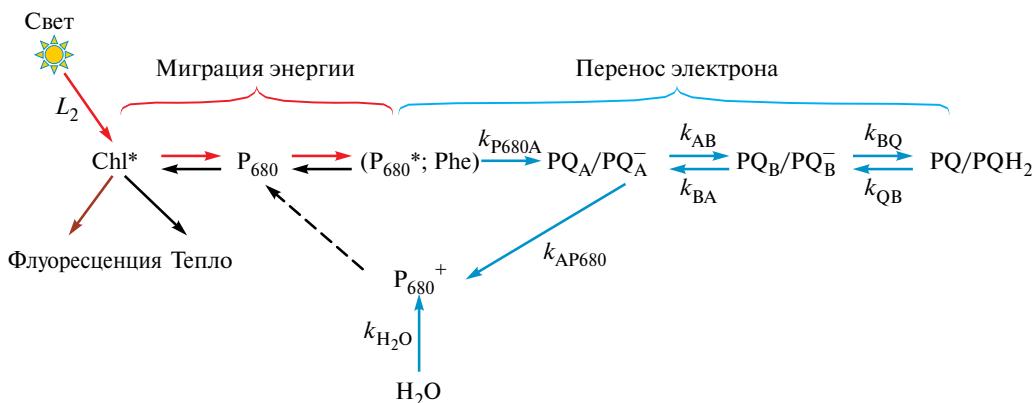
**Трансмембранный перенос протонов.** В модели рассматривается накопление протонов внутри тилакоидов в результате разложения воды в ФС2 и окисления  $\text{PQH}_2$  цитохромным комплексом  $b_{6f}$ . Учитывается, что в люмене и снаружи тилакоидов (в строме) ионы водорода могут связываться с протон-акцепторными (буферными) группами (Buf), число которых значительно превышает число электронных переносчиков ( $[\text{Buf}]/[\text{P}_{700}]_0 \sim 100$ , см. подробнее [27–32]). Выход протонов из люмена в строму может происходить двумя путями: через ATP-синтазу (*сопряженный* с синтезом ATP поток протонов  $J_{\text{ATP}}$ ) и путем утечки протонов в обход ATP-синтазы (*пассивный* транс-тилакоидный поток протонов  $J_{\text{pass}}$ ). Мы полагаем, в первом приближении, что концентрации ионов водорода в строме и в люмене не зависят от пространственных координат, что эквивалентно

условию «быстрого перемешивания». В модели учитывается обмен протонами между стромой и цитозолем (поток протонов  $J_{\text{cell}}$ ). Значение  $\text{pH}$  в цитозоле (пространство между оболочкой хлоропласта и клеточной мембраной) считается постоянным за счет высокой буферной емкости цитоплазмы ( $\text{pH}_{\text{cyt}} = 8$ ).

В настоящей работе мы исходим из того, что в хлоропластах высших растений основной вклад в процессы синтеза ATP и энергозависимую регуляцию электронного транспорта и процессы синтеза ATP вносит *транс*-тилакоидная разность  $\text{pH}$  ( $\Delta\text{pH}$ ), в то время как относительный вклад *транс*-тилакоидной разности электрических потенциалов ( $\Delta\phi$ ) в эти процессы не велик (по крайней мере в квазистационарных состояниях; см. обсуждение этого вопроса в работах [39–41]). По этой причине мы не рассматриваем, в первом приближении, генерацию  $\Delta\phi$  в качестве фактора, определяющего динамику сравнительно медленных индукционных процессов в хлоропластах.

Для моделирования процессов электронного и протонного транспорта в условиях синтеза ATP (избыток субстратов фосфорилирования ADP и ортофосфата, метаболическое состояние 3) или в состоянии фотосинтетического контроля (недостаток субстратов фосфорилирования, избыток ATP, состояние 4) мы варьировали параметр модели  $k_{\text{ATP}}$ , определяющий поток протонов  $J_{\text{ATP}}$  через ATP-синтазу. В метаболическом состоянии 4 суммарная скорость образования ATP равна нулю (скорости процессов синтеза и гидролиза ATP, катализируемых ATP-синтазой, равны друг другу); в этом случае мы принимаем, что  $k_{\text{ATP}} = 0$ . В состоянии 3, когда синтез ATP превалирует над гидролизом ATP, справедливо условие  $k_{\text{ATP}} > 0$ .

**Описание индукции флуоресценции хлорофилла *а*.** Квантовый выход флуоресценции хлорофилла (Хл) *а* – показатель состояния ФСА, который широко используется для диагностики функционального состояния хлоропластов [33–36]. Измерения спектров и интенсивности флуоресценции Хл *а* позволяют судить о функционировании ФСА на различных уровнях структурной организации хлоропластов (*in vitro* и *in vivo*). При комнатных температурах основной вклад во флуоресценцию Хл *а* (более 20%) вносят пигменты светособирающей антенны ФС2. Многочисленные литературные данные свидетельствуют, что интенсивность флуоресценции Хл *а* зависит в первую очередь от редокс-состояния электронных переносчиков на акцепторном



**Рис 2.** Схема процессов миграции энергии и электронного переноса на акцепторной стороне ФС2, рассматриваемые в рамках настоящей модели для описания индукции флуоресценции хлорофилла.

участке ФС2 [42]. В качестве переносчика электронов, определяющего уровень флуоресценции, обычно рассматривается молекула первичного пластинона  $PQ_A$ . Окисленный акцептор электрона ( $PQ_A$ ) можно уподобить «фотохимическому тушителю», который контролирует эффективность фотохимической реакции в ФС2 – перенос электрона от возбужденного первичного донора  $P_{680}^*$  к пластиноновому пулу (через феофитин, Phe, молекулы пластинона  $PQ_A$  и  $PQ_B$ ), и тем самым влияет на интенсивность флуоресценции. После восстановления  $PQ_A$  и накопления молекул  $PQH_2$  в ЭТЦ между фотосистемами отток электронов от  $P_{680}$  к  $PQ$  замедляется, в результате уменьшается фотохимическая активность ФС2. При этом эффективность миграции энергии от возбужденных пигментов светособирающей антены к реакционным центрам  $P_{680}$  уменьшается, возрастает диссипация в тепло энергии возбужденных пигментов и увеличивается выход флуоресценции ( $Xl\ a^* \rightarrow Xl\ a + h\nu$ ). Таким образом, накопление избыточного числа восстановленных переносчиков в ЭТЦ, препятствующих реокислению  $PQ_A^-$ , ослабляет «фотохимическое тушение» флуоресценции  $Xl\ a$ , обусловленное срабатыванием центров  $P_{680}$ .

Для моделирования кривой индукции флуоресценции Хл *a* мы используем приближение, опирающееся на общепринятую точку зрения [42], что относительный вклад «фотохимического тушения» флуоресценции уменьшается пропорционально концентрации  $[PQ_A]$ . Такое

приближение оправдывается существованием линейной зависимости между скоростью нециклического электронного переноса в хлоропластах и интенсивностью переменной флуоресценции Хл *a* комплекса ФС2 [42, 43]. «Сигналом», запускающим цепь событий, приводящих к усилению *нефотохимического тушения* (НФТ) флуоресценции, является фотоиндуцированное закисление люмена ( $\text{pH}_{\text{in}} \downarrow$ ) [44]. Индукция НФТ контролируется регуляторным белком PsbS, который протонируется при возрастании концентрации протонов внутри тилакоидов (уменьшение  $\text{pH}_{\text{in}}$ ) [45, 46].

Для описания НФТ мы исходим из феноменологической модели, предложенной нами ранее [27–32]. С формальной математической точки зрения усиление НФТ эквивалентно уменьшению числа активно функционирующих светособирающих комплексов  $\Phi C2$ . В нашей модели это задается уменьшением параметрического коэффициента  $L_2(pH_{in})^* = L_0\alpha(pH_{in})$ . Коэффициент  $\alpha(pH_{in})$  характеризует эффективность работы центров  $\Phi C2$  в зависимости от  $pH_{in}$ . Значение  $L_2(pH_{in})^*$  уменьшается при закислении люмена ( $pH_{in} \downarrow$ ) в соответствии с эмпирической сигмоидальной зависимостью коэффициента  $\alpha(pH_{in})$  от  $pH_{in}$  (см. подробнее [27–32]). Таким образом, вводя параметрическую зависимость интенсивности света  $L_2^*$  от  $pH_{in}$  (см. Приложение), мы моделируем ослабление активности  $\Phi C2$  за счет усиления НФТ при понижении  $pH_{in}$ <sup>3</sup>.

<sup>3</sup> Индукция НФТ на свету и затухание НФТ в темноте – это обратимые процессы (по крайней мере, частично [44–46]). Усиление НФТ при освещении происходит в результате сравнительно быстрого понижения  $pH_{in}$  (десятки секунд), инициирующего каскад событий, вызывающих реорганизацию ФСА и ослабление фотохимической активности ФС2. Характерные времена ослабления НФТ в темноте составляют десятки минут. Поэтому при описании сравнительно быстрых механизмов  $pH$ -зависимой регуляции электронного транспорта мы принимаем, что после светоиндуцированного уменьшения коэффициента  $\alpha(pH_{in})$  до минимального уровня его значение не меняется (по крайней мере, в течение 4 мин).

Учитывая два основных фактора тушения флуоресценции – *фотохимическое и нефотохимическое тушение*, мы принимаем, что выход флуоресценции  $F(t)$  может быть описан полуэмпирическим уравнением:

$$F(t) = F_0 L_2(pH_{in})^* \times (0.2 + 0.8 [PQ_A(t)]). \quad (1)$$

Множитель  $L_2(pH_{in})^* = L_2 \alpha [pH_{in}(t)]$  определяет эффективность срабатывания фотохимических центров ФС2; здесь  $\alpha [pH_{in}(t)]$  – функция, зависящая параметрически от  $pH_{in}(t)$ , которая учитывает вклад НФТ в уменьшение флуоресценции (явный вид этой функции описан в наших работах [27–29]). В правой части уравнения (1), в скобках, стоит сомножитель, относящийся к *фотохимическому тушению* флуоресценции. Выбор коэффициентов 0.2 и 0.8 сделан на основании литературных данных, свидетельствующих, что для открытых реакционных центров ФС2 (у нас это соответствует случаю относительной концентрации  $[PQ_A]/[P_{680}]_0 = 1$ ) выход флуоресценции  $F(t)$  составляет  $\approx 20\%$  от максимального уровня  $F_{max}$ , соответствующего «закрытым» центрам ФС2, не способным передавать электрон акцептору  $PQ_A$  ( $[PQ_A]/[P_{680}]_0 = 0$ ) [42–44]. Постоянная  $F_0$  – нормировочный множитель.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Кинетика индукции флуоресценции хлорофилла.** На рис. 3 показаны кривые индукции флуоресценции Хл, рассчитанные по формуле (1) для трех интенсивностей действующего света, задаваемых параметрами модели  $L_1$  и  $L_2$ . Предполагается, что основной отток электронов от ФС1 связан с переносом электронов в ЦКБ. При этом, однако, мы учитываем возможности альтернативных потоков электронов – ЦЭТ вокруг ФС1 и отток электронов от ФС1 к молекулярному кислороду. Видно, что расчетные кривые верно отражают основные закономерности экспериментально наблюдаемой многофазной кинетики индукции флуоресценции Хл *a* (кинетическая кривая *O-J-I-P-S-T*) в листьях растений [24–26, 33–36]. Сравнительно быстрая начальная стадия (участок *O-J-I-P*) отражает рост флуоресценции, обусловленный восстановлением электронных переносчиков на акцепторном участке ФС2 (рис. 4).

Три фазы кривой «*быстрой индукции*» флуоресценции Хл *a* (*O-J-I-P*) широко используются в качестве показателей, служащих для экспресс-мониторинга состояния ФСА

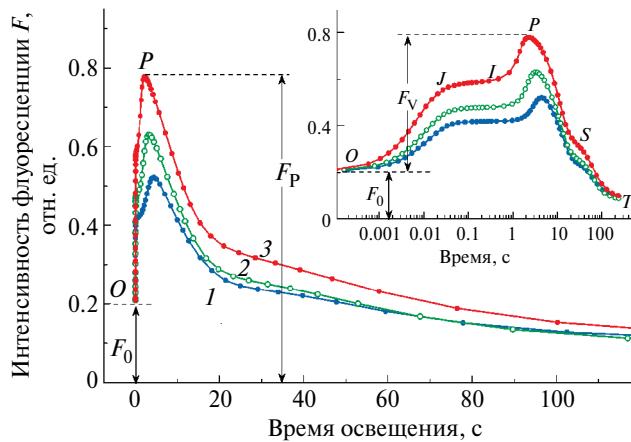
хлоропластов, цианобактерий и одноклеточных водорослей (см. обзоры [23, 24–26, 34, 35, 42]). В качестве флуоресцентного параметра, чувствительного к состоянию ЭТЦ, чаще всего рассматривают отношение переменной флуоресценции  $F_V$  к максимальному уровню  $F_p$  (см. определения этих параметров на рис. 3). Расчеты показывают, что с увеличением интенсивности света скорость роста флуоресценции возрастает и увеличивается максимальный уровень флуоресценции  $P$ . При этом растет отношение  $F_V/F_p$ , что объясняется увеличением потока электронов через ФС2.

После достижения экстремума  $P$  происходит сравнительно медленный спад интенсивности флуоресценции (участок *P-S-T*). Обращает на себя внимание то, что медленная кинетика спада флуоресценции, называемая обычно кривой «*медленной индукции флуоресценции*» (*P-S-T*), во всех случаях имеет четко выраженный двухфазный характер (участки *P-S* и *S-T*), что характерно для листьев высших растений, адаптированных к темноте [33–35]. Двухфазная кинетика спада интенсивности флуоресценции на кривой *P-S-T* отражает события, связанные со светоиндуцированными изменениями редокс-состояния электронных переносчиков на участке цепи между ФС2 и ФС1 и активацией ЦКБ. На начальных стадиях освещения, молекулы  $PQ_A$ ,  $PQ_B$  и  $PQ$  восстанавливаются; затем происходит реокисление  $PQ_A^-$ ,  $PQ_B^-$  и  $PQH_2$  (рис. 4), что обусловлено ускорением оттока электронов из ЭТЦ между фотосистемами к ФС1 за счет активации ЦКБ в результате светоиндуцированного защелачивания стромы,  $pH_{out} \uparrow$  (см. подробнее ниже).

Обратим внимание на то, что по мере освещения хлоропластов интенсивность флуоресценции падает и становится ниже исходного (фонового) уровня  $F_0$ , предшествующего началу освещения. Это согласуется с тем, что в результате светоиндуцированного закисления люмена происходит усиления НФТ, при этом уменьшается число пигментных комплексов, служащих источником свечения.

Колоколообразная зависимость переменной  $[PQH_2]$  от времени освещения хорошо согласуется с экспериментальными данными о динамике заполнения электронами пула переносчиков, расположенных между ФС2 и ФС1, описанными нами в работе [47] для листьев китайской розы (*Hibiscus rosa-sinensis*).

Известно, что конкретный вид кривых медленной индукции флуоресценции, наблюдаемых

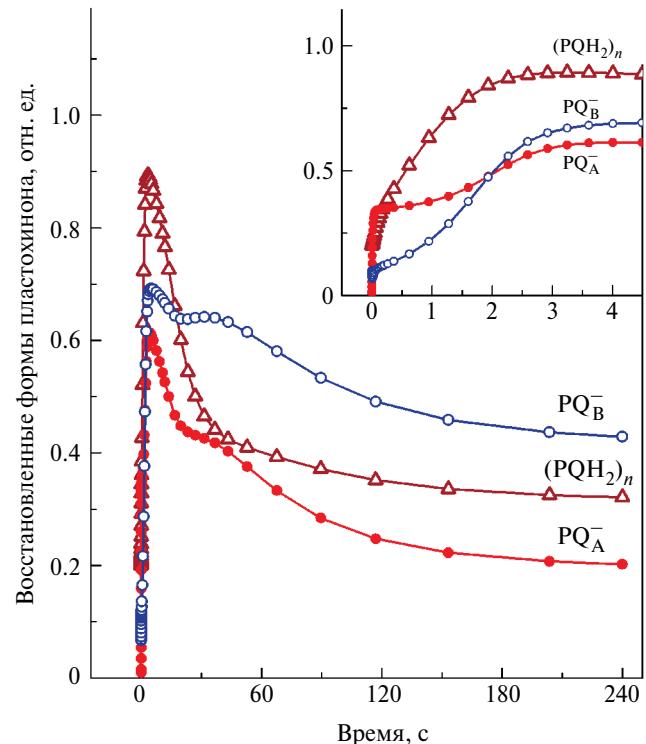


**Рис. 3.** Кинетика индукции флуоресценции хлорофилла, рассчитанная для различных интенсивностей действующего света. Параметры модели  $L_1$  и  $L_2$  (при  $L_2/L_1 = 1.5$ ) соответствуют следующим интенсивностям света: 1 – 100 квантов/с возбуждающих ФС1; 2 – 150 квантов/с; 3 – 300 квантов/с при условии  $L_2/L_1 = 1.5$ . Другие параметры модели:  $L_3/L_1 = 1.5$ ;  $[PQ]_0/[P_{700}]_0 = 20$ . Начальные условия:  $[PQ_A(0)]/[PQ_A]_0 = 0.01$ ;  $[PQ_B(0)]/[PQ_B]_0 = 0.1$ ;  $[PQH_2(0)]/[PQ]_0 = 0.2$ .  $P_{700}$ ,  $[Pc(0)]/[Pc]_0 = 0.005$ ; и  $[Fd(0)]/[Fd]_0 = 0.85$ . Константы обратных реакций  $k_{BQ}$  и  $k_{AP680}$  (см. рис. 2) полагали равными нулю.

в эксперименте, заметно варьирует в зависимости от рода и вида растений, а также от условий акклиматации, влияющих на структурно-функциональные свойства ФСА растений (состав пигмент-белковых комплексов, структурные свойства мембран хлоропластов) [35, 48–52]. Анализ влияния этих факторов на индукционные явления фотосинтеза в рамках нашей модели возможен путем варьирования основных параметров модели и сравнения теоретических индукционных кривых с экспериментальными. Результаты такого анализа в рамках модели, предложенной в настоящей работе, будут подробно описаны в нашей следующей работе.

### Процессы электронного транспорта, связанные с фотосистемой 1

**Кинетика фотоиндуцированных изменений редокс-состояния центров  $P_{700}$ .** На рис. 5 показаны расчетные кривые многофазной кинетики фотоиндуцированного окисления  $P_{700}$  и восстановления  $P_{700}^+$  после выключения света различной интенсивности. Видно, что в ответ на включение света происходит быстрое окисление  $P_{700}$  (фаза  $A_0$ ), которое затем сменяется падением концентрации окисленных центров  $P_{700}^+$  ( $[P_{700}^+]$ ) до промежуточного уровня  $A_1$ , после чего происходит



**Рис. 4.** Кинетические кривые фотоиндуцированного восстановления трех форм пластиохинона,  $PQ_A$ ,  $PQ_B$  и  $n(PQH_2)_n$ , рассчитанные для интенсивности действующего света, соответствующей 150 квантов/с, возбуждающих ФС2. Индекс « $n$ » в обозначении  $(PQH_2)_n$  указывает, что рассматривается  $n$  молекул  $PQH_2$  (относительно ФС2), входящих в пул молекул  $PQ/PQH_2$ , которые не связаны непосредственно с ФС2. В расчетах, результаты которых представлены на данном рисунке, общее число молекул пластиохинонового пула ( $PQ + PQH_2$ ) было равно  $n = 10$ . С учетом того, что молекула  $PQH_2$  – двухэлектронный переносчик, максимально возможная «электронная емкость» пластиохинонового пула равна 20 эквивалентам. Значения остальных параметров модели такие же, как для расчетов, результаты которых представлены на рис. 3.

сравнительно медленное реокисление  $P_{700}$ . Рост концентрации  $[P_{700}^+]$  от уровня  $A_1$  до стационарного уровня  $A_3$  характеризуется двумя фазами: относительно быстрой ( $A_1-A_2$ ) и замедленной ( $A_2-A_3$ ). Стационарный уровень  $P_{700}^+$  (величина  $A_3$ ) возрастает с увеличением интенсивности света. Замедленные стадии реокисления  $P_{700}$  ( $A_1-A_2$  и  $A_2-A_3$ ), как показали наши расчеты (см. ниже), обусловлены ускорением оттока электронов от реакционных центров  $P_{700}$  за счет активации ЦКБ при светоиндуцированном защелачивании стромы [6, 53] и за счет ослабления фотохимической активности ФС2 в результате светоиндуцированного закисления люмена [44–49].

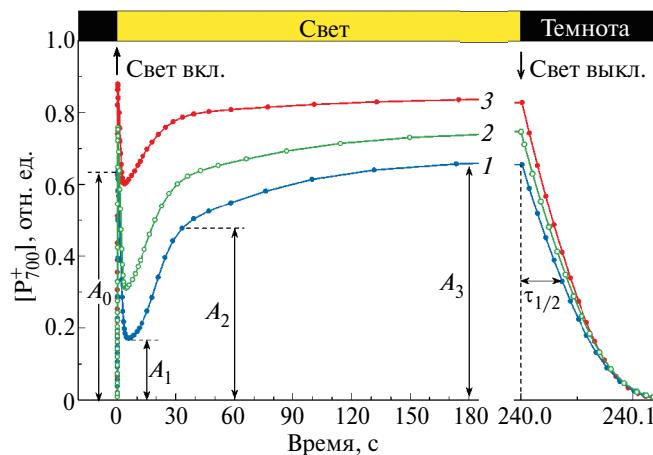


Рис. 5. Кинетика фотоиндуцированных изменений концентраций окисленной формы фотопреконечно-го центра  $P_{700}^+$ , рассчитанная для разных интенсивностей действующего света, указанных в подписи к рис. 3: 1 – 100 квантов/с; 2 – 150 квантов/с; 3 – 300 квантов/с. Вертикальными стрелками показаны моменты включения и выключения света.

После выключения света происходит восстановление  $P_{700}^+$  в результате притока электронов от восстановленных молекул пластохинона  $PQH_2$ . Характерное время восстановления  $P_{700}^+$  в темноте после 4 мин освещения составляет  $\tau_{1/2} = 36$  мс,

что хорошо согласуется с экспериментальными данными [6, 15, 17, 53, 54]. Заметим, что время в 2 раза превышает время полувосстановления  $P_{700}^+$  в хлоропластах ( $\tau_{1/2} \approx 18$  мс), у которых не происходит достаточно сильного закисления люмена. Увеличение  $\tau_{1/2}$  обусловлено замедлением окисления  $PQH_2$  при повышении концентрации (активности) ионов водорода внутри тилакоидов. Депротонирование  $PQH_2$  – обязательное условие для окисления  $PQH_2$  цитохромным комплексом [12–17, 54]. Уменьшение  $pH$  люмена ( $pH_{in} \downarrow$ ) препятствует депротонированию  $PQH_2$ , связанному с выходом протонов в люмен ( $PQH_2 \rightarrow PQ + 2H^+ + 2e^-$ ), что в свою очередь препятствует окислению  $PQH_2$ , замедляя приток электронов от  $PQH_2$  к  $P_{700}^+$ .

**Кинетика редокс-превращений пластоцианина и пластохинона.** Скорость восстановления  $P_{700}^+$  в темноте ( $\tau_{1/2} = 36$  мс) определяется скоростью окисления  $PQH_2$ , которая контролируется величиной  $pH_{in}$ . Перенос электронов через пластоцианин ( $Pc$ ) происходит быстро и не тормозит окисление  $PQH_2$ . На рис. 6а показаны расчетные кинетические кривые редокс-превращений  $Pc$  в ответ на включение света различной интенсивности. Видно, что сразу после включения

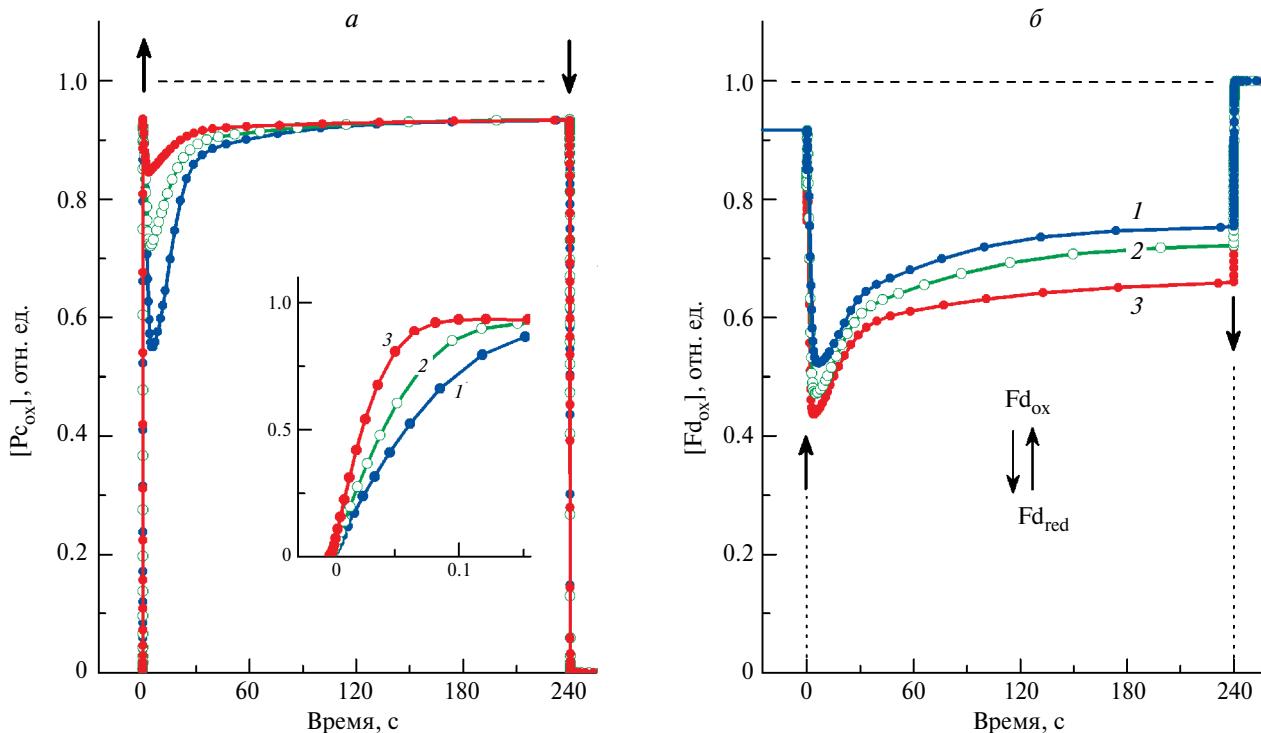


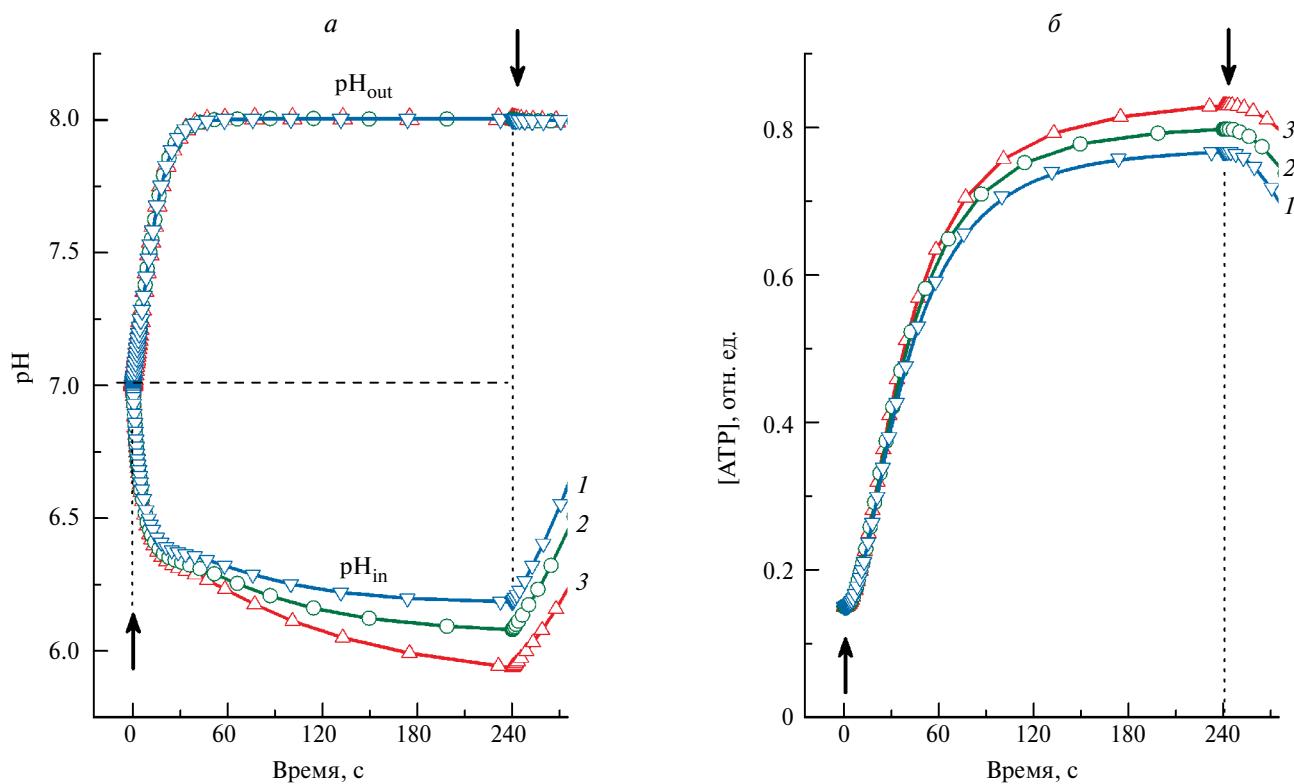
Рис. 6. Кинетика фотоиндуцированных изменений концентраций окисленных форм пластоцианина (а) и ферредоксина (б) в зависимости от интенсивности действующего света: 1 – 100 квантов/с; 2 – 150 квантов/с; 3 – 300 квантов/с. Вертикальными стрелками показаны моменты включения и выключения света. Относительная концентрация  $Fd$  равна  $[Fd]_0/[P_{700}]_0 = 8$ .

света практически все молекулы Рс окисляются, скорость этого процесса увеличивается с ростом интенсивности света. Затем часть молекул Рс быстро восстанавливается за счет притока электронов от  $\text{PQH}_2$ . Однако в дальнейшем почти все молекулы Рс реокисляются, поскольку приток электронов от  $\text{PQH}_2$  происходит медленнее, чем их окисление, за счет работы  $\Phi\text{C}1$ . После выключения света все молекулы Рс восстанавливаются в результате притока электронов от  $\text{PQH}_2$ .

На рис. 6б показаны кривые светоиндуцированных редокс-превращений ферредоксина (Fd). Сразу после включения света около 50% молекул Fd быстро восстанавливаются, затем часть восстановленных молекул  $\text{Fd}^-$  реокисляется за счет оттока электронов в ЦКБ, ЦЭТ вокруг  $\Phi\text{C}1$  и переноса электронов на  $\text{O}_2$  (см. схему на рис. 1). После выключения света, когда прекращается приток электронов к Fd от  $\Phi\text{C}1$ , практически все молекулы ферредоксина оказываются окисленными: в темноте молекулы  $\text{Fd}^-$  окисляются за счет взаимодействия с PQ и другими метаболитами (функционирование ЦКБ, реакция Мелера и ЦЭТ).

**Синтез АТР, сопряженный с генерацией транстилакоидной разности  $\text{pH}_{\text{out}}$ .** Выше мы обсудили два фактора pH-зависимой регуляции электронного транспорта, которые приводят к немонотонным изменениям концентраций  $\text{P}_700^+$ , пластоцианина и ферредоксина: 1) ускорение оттока электронов от  $\Phi\text{C}1$  в ЦКБ за счет защелачивания стромы и 2) торможение окисления  $\text{PQH}_2$  при закислении люмена. Эти причины, наряду с явлением НФТ, обуславливают многофазные изменения выхода флуоресценции (рис. 3). Другой фактор pH-зависимой регуляции фотосинтетических процессов, о котором пойдет речь ниже, – это влияние процессов синтеза АТР на трансмембранный разность pH – так называемые эффекты «фотосинтетического контроля» [6, 12, 54].

На рис. 7а показаны кинетические кривые светоиндуцированного закисления люмена и защелачивания стромы, которые показывают, что в стационарном состоянии возникает транстилакоидная разность pH ( $\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{out}} - \text{pH}_{\text{in}}$ ), служащая источником энергии для работы АТР-синтазы (моделирование функционирования АТР-синтазы было подробно описано нами



**Рис. 7.** Кинетика фотоиндуцированных изменений pH внутри тилакоидов ( $\text{pH}_{\text{in}}$ ) и в строме ( $\text{pH}_{\text{out}}$ ) (панель а) и концентрации АТР (панель б), рассчитанные для разных интенсивностей действующего света, указанных в подписи к рис. 3: 1 – 100 квантов/с; 2 – 150 квантов/с; 3 – 300 квантов/с. Вертикальными стрелками показаны моменты включения и выключения света.

ранее в работах [55, 56]). Видно, что в стационарном состоянии устанавливается значение  $\Delta pH \approx 1.5-2.0$  (в зависимости от интенсивности света). Это обеспечивает синтез АТР (рис. 7б). Квазистационарная концентрация АТР, определяемая балансом процессов синтеза и гидролиза АТР, увеличивается с интенсивностью света.

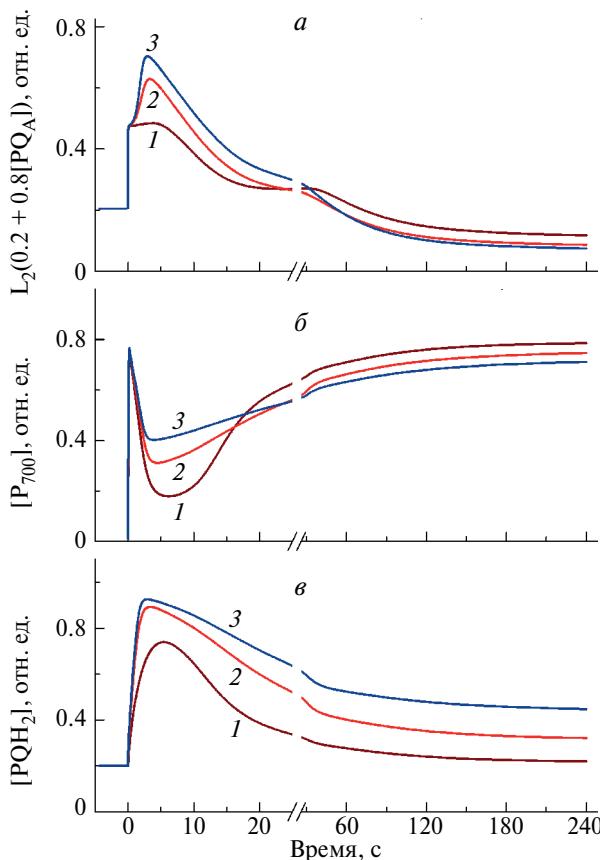
**Циклический транспорт электронов вокруг ФС1.** На рис. 8 приведены результаты расчетов, показывающие, как циклический перенос электронов вокруг ФС1 проявляется в кинетике индукционных процессов, оцениваемых по интенсивности флуоресценции Хл *a* (панель *a*), фотоокислению центров  $P_{700}$  (панель *б*) и фотоиндуцированным изменениям концентрации восстановленных молекул PQ пластохинонового пулла PQ/PQH<sub>2</sub> (панель *в*). Увеличение относительного вклада циклического пути переноса

электронов вокруг ФС1 заметно сказывается на всех этих показателях фотосинтетической активности хлоропластов: *а*) увеличивается амплитуда быстрой фазы кривой индукции флуоресценции, *б*) уменьшается «провал» немонотонной кривой фотоокисления  $P_{700}$ , и *в*) в течение индукционного периода происходят колоколообразные изменения переменной [PQH<sub>2</sub>], при этом переменная [PQH<sub>2</sub>] возрастает, что обусловлено более интенсивным возвратом электронов от Fd<sup>-</sup> в пластохиноновый пул PQ/PQH<sub>2</sub>.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе описаны результаты математического моделирования процессов электронного и протонного транспорта в тилакоидных мембранах хлоропластов, сопряженных с синтезом АТР. В основу этого исследования легла наша ранняя кинетическая модель [27–32], расширенная за счет включения в нее двух электронных переносчиков на акцепторном участке ФС2 (PQ<sub>A</sub> и PQ<sub>B</sub>). Благодаря этому мы смогли смоделировать многофазную немонотонную кинетику индукции флуоресценции Хл *a* (кривая O-J-I-P-S-T), согласующуюся с известными экспериментальными данными, а также описать редокс-превращения фотоприводного центра  $P_{700}$ , пластохинона, пластоцианина и ферредоксина. Полученные результаты объясняются в рамках pH-зависимой регуляции электрон-транспортных процессов, связанных с функционированием реакционных центров ФС1 и ФС2, процессами окисления пластохинона и активации ЦКБ (цикл Кальвина–Бенсона).

Отметим, что конкретный вид экспериментальных кривых быстрой и медленной индукции флуоресценции и фотоиндуцированных редокс-превращений  $P_{700}$  может зависеть от рода и вида растений, а также от условий их акклиматации, влияющих на структурно-функциональные свойства ФСА (состав пигмент-белковых комплексов, морфология листьев) [51, 52, 57, 58]. Наша модель позволяет анализировать влияние структурно-функциональных свойств ФСА на индукционные процессы световых стадий фотосинтеза путем варьирования параметров модели (относительные концентрации электронных переносчиков и варьирование констант скоростей исследуемых процессов). Показано, в частности, что увеличение относительно вклада ЦЭТ заметно проявляется в кинетике индукции флуоресценции Хл *a* и в кинетике светоиндуцированных редокс-превращений  $P_{700}$  (рис. 8). Теоретическому анализу влияния других факторов



**Рис. 8.** Кинетика индукции флуоресценции хлорофилла (*а*), фотоиндуцированных изменений концентраций окисленной формы фотоприводного центра  $P_{700}^+$  (*б*), пластохинона  $PQH_2$  (*в*), рассчитанная при интенсивности действующего света 150 квантов/с (при  $L_2/L_1 = 1.5$ ) и разных потоков циклического электронного транспорта, задаваемых относительным соотношением констант скоростей  $k_{FQ}/k_{FN}$ : *1* –  $k_{FQ}/k_{FN} = 0$ ; *2* –  $k_{FQ}/k_{FN} = 0.15$ ; *3* –  $k_{FQ}/k_{FN} = 0.35$ .

структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата хлоропластов (в частности, вариабельной стехиометрии электрон-транспортных и светособирающих пигментных комплексов) на индукционные явления будут посвящены наши дальнейшие исследования.

В заключение отметим, что использованный в настоящей работе подход для теоретического анализа индукционных процессов фотосинтеза, основанный на описании кинетики ключевых стадий электронного и протонного транспорта, с одной стороны, и использовании простых полуэмпирических методов оценки эффективности многофакторных процессов, какими являются рН-зависимая активация ЦКБ и НФТ, с другой стороны, позволил нам смоделировать динамику сложных индукционных явлений в рамках сравнительно простой математической модели. Полученные результаты хорошо согласуются с экспериментальными данными, что позволяет надеяться на возможную прогностическую значимость модели (например, анализ структурно-функциональных взаимосвязей при оксигенном фотосинтезе). Мы надеемся, что дальнейшее развитие нашей модели (например, учет влияния  $\Delta\phi$  [59] и латеральной гетерогенности тилакоидных мембран [30]) позволит детальнее анализировать динамику сложных многофакторных процессов оксигенного фотосинтеза при выращивании растений в изменяющихся условиях окружающей среды.

**Источники финансирования.** Работа проводилась в рамках темы научно-исследовательских работ физического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова «Физические основы строения, функционирования и регуляции биологических систем» (Госрегистрация № 012004 085 35) и частичной финансовой поддержке фонда «Вольное дело».

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

**Соответствие принципам этики.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Эдвардс Д., Уокер Д. 1986. Фотосинтез  $C_3$ - и  $C_4$  растений: механизмы и регуляция. М.: Мир. 320 с.
2. Blankenship R.E. 2002. *Molecular mechanisms of photosynthesis*. Malden, MA: Blackwell Science Inc.
3. Buckanan B.B. 1980. Role of light in the regulation of chloroplast enzymes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **31**, 341–374.
4. Demmig-Adams B., Cohu C.M., Muller O., Adams W.W. 2012. Modulation of photosynthetic energy conversion efficiency in nature: From seconds to seasons. *Photosynth. Res.* **113**(1–3), 75–88.
5. Kono M., Terashima I. 2014. Long-term and short-term responses of the photosynthetic electron transport to fluctuating light. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. **137**, 89–99.
6. Tikhonov A.N. 2015. Induction events and short-term regulation of electron transport in chloroplasts: An overview, *Photosynth. Res.* **125**, 65–94.
7. Matsubara S., Förster B., Waterman M., Robinson S.A., Pogson B.J., Gunning B., Osmond B. 2012. From ecophysiology to phenomics: Some implications of photoprotection and shade–sun acclimation *in situ* for dynamics of thylakoids *in vitro*. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* **367** (1608), 3503–3514.
8. Li Z., Wakao S., Fischer B.B., Niyogi K.K. Sensing and responding to excess light. *Ann. Rev. Plant Biol.* **60** (1), 239–260.
9. Kasahara M., Kagawa T., Oikawa K., Suetsugu N., Miyao M., Wada M. 2002. Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature*. **420** (6917), 829–832.
10. Kaiser E., Morales A., Harbinson J., Kromdijk J., Heuvelink E., Marcelis L. F. M. 2015. Dynamic photosynthesis in different environmental conditions. *J. Exper. Botany*, **66** (9), 2415–2426.
11. Puthiyaveetil S., Kirchhoff H., Huhner R. 2016. Structural and functional dynamics of the thylakoid membrane system. In *Chloroplasts: Current research and future trends*. Ed., H. Kirchhoff. Norfolk, UK: Caister Academic Press, p. 59–87.
12. Tikhonov A.N. 2018. The cytochrome  $b_6f$  complex: Biophysical aspects of its functioning in chloroplasts. In *Membrane protein complexes: Structure and function, subcellular biochemistry*. Eds. Harris J.R., Boekema E.J. Singapore: Springer, Subcell. Biochem. **87**, p. 287–328. doi: 10.1007/978-981-10-7757-9\_10.
13. Malone L.A., Proctor M.S., Hitchcock A., Hunter C.N., Johnson M.P. 2021. Cytochrome  $b_6f$  – Orchestrator of photosynthetic electron transfer. *Biochim. Biophys. Acta*. **1862** (5), 148380.
14. Sarewicz M., Pintscher S., Pietras R., Borek A., Bujnowicz Ł., Hanke G., Cramer W.A., Finazzi G., Oszyczka A. 2012. Catalytic reactions and energy conservation in the cytochrome  $bc_1$  and  $b_6f$  complexes of energy-transducing membranes. *Chem. Rev.* **121** (4), 2020–2108.
15. Тихонов А.Н. 2023. Электронный транспорт в хлоропластах: регуляция и альтернативные пути переноса электронов. *Биохимия*. **88** (10), 1742–1760.
16. Устынюк Л.Ю., Тихонов А.Н. 2022. Окисление пластохинола – лимитирующая стадия в цепи

- переноса электронов в хлоропластах. *Биохимия*. **87** (10), 1372–1387.
17. Tikhonov A.N. 2024. The cytochrome  $b_6f$  complex: Plastoquinol oxidation and regulation of electron transport in chloroplasts. *Photosynth. Res.* **159**, 203–227.
  18. Munekage Y., Hashimoto M., Miyake C., Tomizawa K., Endo T., Tasaka M., Shikanai T. 2004. Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature*. **429**, 579–582.
  19. DalCorso G., Pesaresi P., Masiero S., Aseeva E., Schünemann D., Finazzi G., Joliot P., Barbato R., Leister D.A. 2008. Complex containing PGRL1 and PGR5 is involved in the switch between linear and cyclic electron flow in *Arabidopsis*. *Cell*. **132** (2), 273–285.
  20. Strand D.D., Fisher N., Kramer D.M. 2016. Distinct energetics and regulatory functions of the two major cyclic electron flow pathways in chloroplasts. In *Chloroplasts: Current research and future trends*. Ed. Kirchhoff H. Norfolk, UK: Caister Acad. Press, p. 89–100.
  21. Shikanai T., Yamamoto H. 2017. Contribution of cyclic and pseudo-cyclic electron transport to the formation of proton motive force in chloroplasts. *Mol Plant*. **10** (1), 20–29.
  22. Kobayashi R., Yamamoto H., Ishibashi K., Shikanai T. 2024. Critical role of cyclic electron transport around photosystem I in the maintenance of photosystem I activity. *Plant J.* **118** (6), 2141–2153.
  23. *Photosynthesis in silico: Understanding complexity from molecules to ecosystems*. 2009. Eds. Laisk A., Nedbal L., Govindjee. Dordrecht: Springer.
  24. Rubin A., Riznichenko G. 2014. *Mathematical Biophysics*. N.Y.: Springer.
  25. Stirbet A., Govindjee, Strasser B., Strasser R.J. 1998. Chlorophyll  $a$  fluorescence induction in higher plants: Modelling and numerical simulation. *J. Theor. Biol.* **193**, 131–151.
  26. Lazár D. 2009. Modelling of light-induced chlorophyll  $a$  fluorescence rise (O–J–I–P transient) and changes in 820 nm-transmittance signal. *Photosynthetica*. **47** (4), 483–498.
  27. Вершубский А.В., Тихонов А.Н. 2013. Электронный транспорт и трансмембранный перенос протонов в фотосинтетических системах оксигенного типа *in silico*. *Биофизика*. **58** (1), 75–89.
  28. Tikhonov A.N., Vershubskii A.V. 2014. Computer modeling of electron and proton transport in chloroplasts. *Biosystems*, **121**, 1–21.
  29. Вершубский А.В., Мишанин В.И., Тихонов А.Н. 2014. Моделирование регуляции фотосинтетического транспорта электронов у цианобактерий. *Биол. Мембрany*. **31** (2), 110–128.
  30. Vershubskii A.V., Trubitsin B.V., Prikłonsky V.I., Tikhonov A.N. 2017. Lateral heterogeneity of the proton potential along the thylakoid membranes of chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **1859**, 388–401.
  31. Вершубский А.В., Тихонов А.Н. 2019. pH-зависимая регуляция электронного и протонного транспорта в хлоропластах *in situ* и *in silico*. *Биол. мембрany*. **36** (4), 242–254.
  32. Tikhonov A.N., Vershubskii A.V. 2020. Temperature-dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts *in vitro* and *in silico*. *Photosynth. Res.* **146**, 299–329.
  33. Karavayev V.A., Kukushkin A.K. 1976. Study of electron chain state in the leaves of higher plants by the fast fluorescence method. *Biophysics*, **21** (5), 862–866.
  34. Lazár D. 1999. Chlorophyll  $a$  fluorescence induction. *Biochim. Biophys. Acta*, **1412** (1), 1–28.
  35. Stirbet A., Govindjee. 2016. The slow phase of chlorophyll  $a$  fluorescence induction *in silico*: Origin of the S–M fluorescence rise. *Photosynth. Res.* **130** (1–3), 193–213.
  36. Schansker G., Tóth S., Holzwart A.R., Garab G. 2014. Chlorophyll  $a$  fluorescence: Beyond the limits of the  $Q_A$  model. *Photosynth. Res.* **128**, 43–58.
  37. Asada K. 1999. The water–water cycle in chloroplasts. Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50** (1), 601–639.
  38. Kuvykin I.V., Vershubskii A.V., Ptushenko V.V., Tikhonov A.N. 2008. Oxygen as an alternative electron acceptor in the photosynthetic chain of electronic transport of  $C_3$  plants. *Biochemistry (Moscow)*. **73**, 1063–1075.
  39. Horton P., Ruban A.V. 1993.  $\Delta pH$ -dependent quenching of the  $F_0$  level of chlorophyll fluorescence in spinach leaves. *Biochim. Biophys. Acta*. **1142**, 203–206.
  40. Wilson S., Ruban A.V. 2020. Rethinking the influence of chloroplast movements on non-photochemical quenching and photoprotection. *Plant Physiol.* **183**, 1213–1223.
  41. Semenov A.Yu., Tikhonov A.N. 2023. Electrometric and electron paramagnetic resonance measurements of a difference in the transmembrane electrochemical potential: Photosynthetic subcellular structures and isolated pigment–protein complexes. *Membranes*. **13**, 1–22.
  42. Kalaji H.M., Schansker G., Bresic M., Bussotti F., Calatayud A., Ferroni L., Goltsev V., Guidi L., Jajoo A., Li P., Losciale P., Mishra V.K., Misra A.N., Nebauer S.G., Pancaldi S., Penella C., Pollastrini M., Suresh K., Tambussi E., Yannicci M., Zivcak M., Cetner M.D., Samborska I.A., Stirbet A., Olsovská K., Kunderliková K., Shelonzeck H., Rusinowski S., Baba W. 2017. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynth. Res.* **132**, 13–66.
  43. Genty B., Briantais J.-M., Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*. **990**, 87–92.

44. Zaks J., Amarnath K., Sylak-Glassman E.J., Fleming G.R. 2013. Models and measurements of energy-dependent quenching. *Photosynth. Res.* **116**, 389–409.
45. Li X.-P., Gilmore A. M., Caffarri S., Bassi R., Golan T., Kramer D., Niyogi K.K. 2004. Regulation of photosynthetic light harvesting involves intrathylakoid lumen pH sensing by the PsbS protein. *J. Biol. Chem.* **279** (22), 22866–22874.
46. Järvi S., Gollan P.J., Aro E.-M. 2013. Understanding the roles of the intrathylakoid lumen in photosynthetic regulation. *Front. Plant Sci.* **4**, 434.
47. Suslichenko I.S., Trubitsin B.V., Vershubskii A.V., Tikhonov A.N. 2022. The noninvasive monitoring of the redox status of photosynthetic electron transport in *Hibiscus rosa-sinensis* and *Tradescantia* leaves. *Plant Physiol. Biochem.* **185**, 233–243.
48. Murchie E.H., Ruban A.V. 2020. Dynamic non-photochemical quenching in plants: From molecular mechanism to productivity. *Plant J.* **101**, 885–896.
49. Horton P. 2012. Optimization of light harvesting and photoprotection: molecular mechanisms and physiological consequences. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* **367** (1608), 3455–3465.
50. Беньков М.А., Сусличенко И.С., Трубицин Б.В., Тихонов А.Н. 2023. Влияние акклиматации растений на электронный транспорта в мембранах хлоропластов *Cucumis sativus* и *Cucumis melo*. *Биол. мембрany*. **40** (3), 172–187.
51. Mishanin V.I., Trubitsin B.V., Patsaeva S.V., Ptushenko V.V., Solovchenko A.E., Tikhonov A.N. 2017. Acclimation of shade-tolerant and light-resistant *Tradescantia* species to growth light: Chlorophyll *a* fluorescence, electron transport, and xanthophyll content. *Photosynth. Res.* **133** (1–3), 87–102.
52. Mishanin V.I., Trubitsin B.V., Benkov M.A., Minin A.A., Tikhonov A.N. 2016. Light acclimation of shade-tolerant and light-resistant *Tradescantia* species: Induction of chlorophyll *a* fluorescence and  $P_{700}$  photooxidation, expression of PsbS and LhcB1 proteins. *Photosynth. Res.* **130** (1–3), 275–291.
53. Рыжиков С.Б., Тихонов А.Н. 1988. Регуляция скорости переноса электрона в фотосинтетических мембранах высших растений. *Биофизика*. **33**, 642–646.
54. Tikhonov A.N. 2013. pH-Dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts. *Photosynth. Res.* **116**, 511–534.
55. Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н. 2004. Математическое моделирование электронного и протонного транспорта, сопряженного с синтезом ATP в хлоропластах. *Биофизика*. **49**, 57–71.
56. Vershubskii A.V., Kuvykin I.V., Priklonsky V.I., Tikhonov A.N. 2011. Functional and topological aspects of pH-dependent regulation of electron and proton transport in chloroplasts *in silico*. *Biosystems*. **103**, 164–179.
57. Murchie E.H., Ruban A.V. 2020. Dynamic non-photochemical quenching in plants: From molecular mechanism to productivity. *Plant J.* **101**, 885–896.
58. Ruban A.V. 2018. Adaptive reorganisation of the light harvesting antenna. In *Photosynthesis and Bioenergetics*. Eds. Barber J., Ruban A. London, UK: World Scientific, p. 287–328.
59. Ризниченко Г.Ю., Беляева Н.Е., Коваленко И.Б., Антал Т.К., Горячев С.Н., Маслаков А.С., Плюснина Т.Ю., Федоров В.А., Хрущев С.С., Яковleva О.В., Рубин А.Б. 2022. Математическое моделирование электронного транспорта в первичных процессах фотосинтеза. *Биохимия*. **87** (10), 1350–1371.

## Oxygenic Photosynthesis: Induction of Chlorophyll *a* Fluorescence and Regulation of Electron Transport in Thylakoid Membranes *In Silico*

A. V. Vershubskii<sup>1</sup>, V. I. Priklonskii<sup>1</sup>, A. N. Tikhonov<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*Moscow Lomonosov State University, Faculty of Physics, Moscow, 119991 Russia*

\*e-mail: an\_tikhonov@mail.ru

The paper describes an extended mathematical model for the regulation of the key stages of electron transfer in the photosynthetic chain of electron transport (CET) and the associated processes of trans-thylakoid proton transfer and ATP synthesis in chloroplasts. This model includes primary plastoquinone  $PQ_A$ , associated with photosystem 2 (PS2), and secondary plastoquinone  $PQ_B$ , exchanging with plastoquinone molecules that are part of the pool of electronic carriers between PS2 and photosystem 1 (PS1). The model adequately describes the multiphase non-monotonic curves of chlorophyll fluorescence induction and the kinetics of  $P_{700}$  redox transformations (photoreaction center PS1), plastoquinone, changes in ATP and pH concentrations in lumen ( $pH_{in}$ ) and stroma ( $pH_{out}$ ) depending on the illuminating conditions of chloroplasts (variation in intensity and spectral composition of light). The results of computer simulation are consistent with experimental data on the kinetics of photoinduced  $P_{700}$  transformations in the leaves of higher plants and the induction of chlorophyll *a* fluorescence. The obtained data are discussed in the context of "short-term" mechanisms of pH-dependent regulation of electron transport in intact chloroplasts (non-photochemical quenching of excitation in PS2 and activation of Calvin–Benson cycle reactions).

**Keywords:** chloroplasts, electron and proton transport, mathematical modeling

## ПРИЛОЖЕНИЕ

В основе моделирования электрон- и протон-транспортных процессов в хлоропластах используется система обыкновенных дифференциальных уравнений, предложенная нами ранее

[27–32, 55, 56]. Система уравнений (S1–S10) описывает поведение электронных переносчиков, изменения концентраций протонов внутри тилакоида  $[H_i^+]$  и в строме  $[H_o^+]$ , изменение концентрации ATP, выделение и потребление молекулярного кислорода.

$$\frac{d[ATP]}{dt} = \omega_1 \times ([ADN] - [ATP]) \times J_{ATP}(t) - \omega_2 \times k_{CBC}([NH], [ATP]), \quad (S1)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[NH]}{dt} = & k_{NH} \times [H_o^+] \times ([N_0] - [N^+] - [NH]) - k_{N^-} \times [NH] - \\ & - k_{NQ} \times [H_o^+] \times [PQ] \times [NH] - k_{CBC}([NH], [ATP]), \end{aligned} \quad (S2)$$

$$\frac{d[N^+]}{dt} = k_{CBC}([NH], [ATP]) - [N^+] \times \{0.5k_{FN} \times ([Fd]_0 - [Fd]) + k_{RC}\} + k_{NQ} \times [H_o^+] \times [Q] \times [NH], \quad (S3)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[Fd]}{dt} = & \{k_{FQ} \times [H_o^+] \times [PQ] + k_{FN} \times [N^+] + k_{FO} \times [O_2]\} \times ([Fd]_0 - [Fd]) - \\ & - L_1 \times k_{P700} \times [Fd] \times ([P_{700}]_0 - [P_{700}^+]), \end{aligned} \quad (S4)$$

$$\frac{d[O_2]}{dt} = 0.25 \times k_{H_2O} \times [P_{680}^+] - [O_2] \times \left\{ k_{OX1} \times ([PQ]_0 - [PQ]) + \right. \\ \left. + k_{OX2} \times ([Pc]_0 - [Pc]) + 0.5 \times k_{FO} \times ([Fd]_0 - [Fd]) \right\}, \quad (S5)$$

$$\frac{d[P_{700}^+]}{dt} = L_1 \times k_{P700} \times [Fd] \times ([P_{700}]_0 - [P_{700}^+]) - k_{Pc} \times [P_{700}^+] \times ([Pc]_0 - [Pc]), \quad (S6)$$

$$\frac{d[Pc]}{dt} = k_{OX2} \times ([Pc]_0 - [Pc]) \times [O_2] + k_{Pc} \times [P_{700}^+] \times ([Pc]_0 - [Pc]) - \sigma_{bf} \times k_Q([PQ], [Pc], [H_i^+]), \quad (S7)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[PQ]}{dt} = & 0.5\sigma_{bf}k_Q([PQ], [Pc], [H_i^+]) + 0.5k_{OX1}([PQ]_0 - [PQ])[O_2] + k_{BQ}([PQ]_0 - [PQ])[PQ_B] - \\ & - [PQ][H_o^+] \{k_{NQ}[NH] + 0.5k_{FQ}([Fd]_0 - [Fd]) + k_{QB}([PQ_B]_0 - [PQ_B])\}, \end{aligned} \quad (S8)$$

$$\left[1 + \frac{K_o B_o}{(K_o + [H_o^+])^2}\right] \frac{d[H_o^+]}{dt} = -\frac{2}{I_o} \left\{ \begin{aligned} & [PQ] \times [H_o^+] \times \left\{ k_{NQ} \times [NH] + k_{FQ} \times ([Fd]_0 - [Fd]) + \right. \\ & \left. L_2([H_i^+]) \times k_{P680} \times ([P_{680}]_0 - [P_{680}^+]) \right\} + \\ & + k_{NH} \times [H_o^+] \times ([N_0] - [N^+] - [NH]) - k_{N^-} \times [NH] + \\ & + k_{FO} \times [O_2] \times ([Fd]_0 - [Fd]) + k_{CC}([NH], [ATP]) + \\ & + J_{cell}(t) - J_{pass}(t) - ([ADN] - [ATP]) \times J_{ATP}(t) \end{aligned} \right\}, \quad (S9)$$

$$\left[1 + \frac{K_i B_i}{(K_i + [H_i^+])^2}\right] \frac{d[H_i^+]}{dt} = \frac{2}{I_i} \left\{ \begin{aligned} & k_{H_2O} \times [P_{680}^+] + 2 \times \sigma_{bf} \times k_{PQ}([PQ], [Pc], [H_i^+]) - \\ & - J_{pass}(t) - ([ADN] - [ATP]) \times J_{ATP}(t) \end{aligned} \right\}. \quad (S10)$$

Стехиометрические коэффициенты  $\omega_1 = 14/3$  и  $\omega_2 = 3/2$  характеризуют перенос протонов через ATP-синтазу и расход ATP и NADPH в реакциях цикла Кальвина–Бенсона [3]. Параметр  $L_1$

и функция  $L_2(pH_i)$  описывают количество квантов света, попадающих в единицу времени к реакционным центрам  $P_{700}$  и  $P_{680}$  соответственно. Величины, отмеченные нижним индексом «0»,

суть максимальные концентрации соответствующих переменных.  $[N]$  и  $[ADN]$  – суммарные концентрации всех форм NADP и адениновых нуклеотидов соответственно. Константа  $\sigma_{bf}$  – поверхностная плотность  $b_0/f$ -комплексов в мембране;  $k_{H_2O}$ ,  $k_{P680}$ ,  $k_{PQ}$ ,  $k_{PC}$ ,  $k_{P700}$ ,  $k_{FQ}$ ,  $k_{FO}$ ,  $k_{FN}$ ,  $k_{NH}$ ,  $k_{N^-}$ ,  $k_{CC}$  и  $k_{NQ}$  – эффективные константы скоростей реакций, показанных на рис. 1.

Для моделирования процессов нефотохимического тушения константа  $L_2$ , характеризующая число квантов света, попадающих в единицу времени к  $P_{680}$ , была задана в виде функции  $L_2(pH_i)$ , зависящей от величины  $pH_i$ . Таким способом мы учитывали, что при закислении люмена происходит ослабление фотохимической активности ФС2. Функция  $L_2(pH_i)$  имеет следующий вид:

$$L_2(pH_i) = \begin{cases} \left( L_0 / 2 \right) \left[ (1 - L_{min}) [2 - e^{-k[pH_i - pK]}] + 2L_{min} \right] & pH_i > pK \\ \left( L_0 / 2 \right) \left[ (1 - L_{min}) e^{k[pH_i - pK]} + 2L_{min} \right] & pH_i \leq pK \end{cases} \quad (S11)$$

Константы  $k$ ,  $L_0$  и  $L_{min}$  – параметры модели. Зависимость  $L_2(pH_i)$  от  $pH_i$  имеет сигмоидный вид, описывая уменьшение  $L_2$  в интервале от  $pH 8$  (где  $L_2 = L_0$ ) до  $pH 4$  (где  $L_2 = L_0 L_{min}$ ).

Потребление NADP и ATP в цикле Кальви-на-Бенсона описывается в обобщенной форме функцией, предложенной ранее [56].

$$k_{CBC}([NH], [ATP]) = \left( \frac{k_{min}^s - k_{max}^s}{1 + \exp \left\{ \frac{pH_o - X_0}{\Delta X} \right\}} + k_{max}^s \right) \times \left( \frac{[ATP] \times [NH]}{k_2^s + k_3^s [ATP] + k_4^s [NH] + k_5^s [ATP] \times [NH]} \right). \quad (S12)$$

Первый множитель в формуле (S12) является функцией Больцмана, феноменологически описывающей  $pH$ -зависимую активацию ферментов ЦКБ за счет фотоиндуцированного защелачивания стромы. При его выборе мы исходили из литературных данных о влиянии  $pH$  стромы на активность цикла ЦКБ [3].

В качестве функции  $J_{ATP}(t)$  была использована функция, описывающая поток протонов через ATP-сингтазу,

$$J_{ATP}(t) = J_0 \frac{[H_o^+] \left( 10^{\Delta pH} - 1 \right)}{\alpha + [H_o^+] \left( 10^{\Delta pH} + \beta \right)}, \quad (S13)$$

где  $J_0$  – нормировочный коэффициент. Коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  в уравнении (S13) определяются значением  $pK_A$  протонируемой группы и соотношением эффективных констант скоростей  $k_1$  и  $k_{-1}$ :  $\alpha = 10^{-pK_A} (1 + k_2 / k_1)$  и  $\beta = k_2 / k_1$ . Константы  $k_1$  и  $k_2$  характеризуют эффективные скорости переноса ионов водорода к  $A^-$  внутренней и внешней сторон тилакоидной мембранны соответственно. Учитывая, что кислотные группы  $A^-$  ротора ATP-сингтазы могут находиться в разных положениях относительно мембранный субъединицы  $a$ , значения констант  $k_1$  и  $k_2$ , вообще говоря, могут различаться. Отметим, что отношение  $\beta = k_2 / k_1$  является параметром модели, который

определяет характер зависимости потока протонов от трансмембранный разности  $pH$  ( $\Delta pH = pH_{in} - pH_{out}$ ). При определенных значениях параметров  $\alpha$  и  $\beta$  зависимость  $J_{ATP}(t)$  от  $\Delta pH$  имеет вид сигмоиды, что отражает пороговый характер работы ATP-сингтазы. Более подробное обоснование выбора функций, описывающих трансмембранные потоки протонов, приведено в [55].

Значения эффективных констант скоростей, характеризующих различные стадии переноса электрона по ЦЭТ от водорасщепляющего комплекса ФС2 к различным акцепторам ФС1, выбирали на основании литературных данных по кинетике частных реакций электронного транспорта на различных участках ЦЭТ (табл. S1). Соответствующие константы скоростей находятся в диапазонах характерных экспериментальных времен электрон-транспортных процессов. Для уточнения значений эффективных констант, использованных в нашей модели, мы сравнивали результаты расчетов с экспериментальными данными, полученными для различных фотосинтетических систем окисленного типа (хлоропласты высших растений, цианобактерии) (см. подробнее [56]). В качестве критерия адекватного выбора констант скоростей мы использовали согласие теоретических кривых с экспериментальными значениями скорости переноса электронов на участке между ФС2 и ФС1, а также значений

**Таблица S1.** Характерные времена промежуточных окислительно-восстановительных реакций при переносе электрона по фотосинтетической цепи электронного транспорта

Стадия переноса электрона	Эффективная константа скорости	Характерное время, $\tau_{1/2}$ , с	
		модель	эксперимент
$\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{P}_{680}$	$k_{\text{H}_2\text{O}}$	$10^{-4}$	$10^{-6} - 6 \cdot 10^{-4}$
$\text{P}_{680} \rightarrow \text{PQ}_A$	$k_{\text{P}680\text{A}}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-4}$
$\text{PQ}_A \rightarrow \text{PQ}_B$ $\text{Pc} \rightarrow \text{P}_{700}$	$k_{\text{AB}}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$
$\text{P}_{700} \rightarrow \text{Fd}$	$k_{\text{Pc}} k_{\text{P}700}$	$2 \cdot 10^{-4} 10^{-4}$	$10^{-2} - 7 \cdot 10^{-1}$
$\text{Fd} \rightarrow \text{NADP}$	$k_{\text{FN}}, k_{\text{NH}}$	$10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-4} - 10^{-2}$
$\text{Fd} \rightarrow \text{PQ}$	$k_{\text{FQ}}$	$2 \cdot 10^{-1}$	$10^{-2} - 7 \cdot 10^{-1}$
$\text{Fd} \rightarrow \text{O}_2$	$k_{\text{O}_2}$	$9 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2} - 7 \cdot 10^{-1}$
$\text{PQ}_B \rightarrow \text{PQ}$	$k_{\text{BQ}}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-4}$

pH внутритилакоидного пространства ( $\text{pH}_{\text{in}}$ ) и pH стромы ( $\text{pH}_{\text{out}}$ ) в метаболических состояниях 3 (условия интенсивного синтеза ATP) и 4 (состояние фотосинтетического контроля).

Совокупность параметров модели  $K_i$ ,  $K_o$  и  $B_i$ ,  $B_o$  характеризуют буферные свойства системы (см. подробнее работы [27–32, 55, 56]). Здесь  $K_i$ ,  $K_o$  – константы равновесия для реакции связывания протонов буферными группами, находящимися, соответственно, внутри и снаружи тилакоидов мембранны;  $B_i$ ,  $B_o$  – концентрации этих буферных групп. Параметры модели  $l_i$  и  $l_o$  характеризуют толщину люмена и расстояние между тилакоидами граны. В модели принималось соотношение  $l_o/l_i = 0.1$ . Выбор этих констант обоснован в работах [27–32, 55, 56].

В данной работе введены две новые переменные – концентрации окисленных первичных и вторичных хинонов ( $[\text{PQ}_A]$ ,  $[\text{PQ}_B]$ ), последовательно получающие электроны от ФС2 и передающие их молекулам пластиохинонового пула. Для учета этих процессов в ФС2, согласно рис. 2, система дифференциальных уравнений (S1–S10) была расширена за счет добавления уравнений, описывающих поведение переменных

$[\text{PQ}_A]$  и  $[\text{PQ}_B]$ , связанных с уравнением для переменной  $[\text{P}680^+]$  – концентрацией окисленных центров  $\text{P}_{680}$  (первичный донор электронов в ФС2).  $\text{P}_{680}$  отдает электрон молекуле пластиохинона  $\text{PQ}_A$ , связанного с ФС2. Восстановленная молекула  $\text{PQ}_A$  отдает электрон вторичному пластиохинону  $\text{PQ}_B$  ( $\text{PQ}_A^- \text{PQ}_B \rightarrow \text{PQ}_A \text{PQ}_B^-$ ). Пластиосемихинон  $\text{PQ}_B^-$  остается плотно связанным с  $\text{Q}_B$ -сайтом до тех пор, пока второй электрон, поступающий от  $\text{PQ}_A^-$ , не обеспечит образование полностью восстановленного вторичного хинона ( $\text{PQ}_A^- \text{PQ}_B^- \rightarrow \text{PQ}_A^- \text{PQ}_B^-$ ) и не произойдет его протонирование за счет поглощения двух протонов из стромы ( $\text{PQ}_B^- + 2\text{H}_\text{out}^+ \rightarrow \text{PQ}_B \text{H}_2$ ). Скорость переноса электрона от  $\text{PQ}_A^-$  к вторичному хинону  $\text{PQ}_B$  зависит от его окислительно-восстановительного состояния. При pH 6.5 постоянная времени окисления  $\text{PQ}_A^-$  составляла 0.2–0.4 мс со связанным  $\text{PQ}_B$  и 0.6–0.8 мс со связанным  $\text{PQ}_B^-$ . Когда  $\text{PQ}_B$ -сайт свободен, молекула PQ из пула пластиохинона должна сначала связываться, характерное время переноса электрона от  $\text{PQ}_A^-$  к  $\text{PQ}_B$  и образования  $\text{PQ}_B \text{H}_2$  составляет около 2–3 мс. Восстановленная молекула  $\text{PQ}_B \text{H}_2$  диссоциирует от ФС2 в обмен на окисленную молекулу PQ пластиохинонового пула.

$$\frac{d[\text{P}680^+]}{dt} = L_2([\text{H}_i^+]) \times k_{\text{P}680\text{A}} \times [\text{H}_o^+] \times [\text{PQ}_A] \times ([\text{P}_{680}]_0 - [\text{P}680^+]) - k_{\text{H}_2\text{O}} \times [\text{P}680^+], \quad (\text{S13})$$

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{PQ}_A]}{dt} = & k_{\text{AB}} \times ([\text{PQ}_A]_0 - [\text{PQ}_A]) \times [\text{PQ}_B] + k_{\text{AP}680} \times ([\text{PQ}_A]_0 - [\text{PQ}_A]) \times [\text{P}680^+] - \\ & - L_2([\text{H}_i^+]) \times k_{\text{P}680\text{A}} \times ([\text{P}_{680}]_0 - [\text{P}680^+]) \times [\text{PQ}_A], \end{aligned} \quad (\text{S14})$$

$$\frac{d[PQ_B]}{dt} = k_{BQ} \times [H_o^+] \times ([PQ_B]_0 - [PQ_B]) \times [PQ] - 0.5 \times k_{AB} \times ([PQ_A]_0 - [PQ_A]) \times [PQ_B] - k_{QB} \times ([PQ]_0 - [PQ]) \times [PQ_B]. \quad (S15)$$

В уравнениях (S14) и (S15) переменные  $[PQ_A]$  и  $[PQ_B]$  – суть относительные концентрации окисленных хинонов, связанных с ФС2,  $[PQ]$  – относительная концентрация окисленного PQ пула,  $[H_o^+]$  – концентрация протонов в строме. Постоянные величины  $k_{AB}$ ,  $k_{BQ}$  и  $k_{P680A}$

– эффективные константы скоростей соответствующих реакций. Константы  $k_{QB}$  и  $k_{P680A}$  обозначают соответствующие им обратные реакции. Константы, отмеченные нижним индексом «0», суть максимальные концентрации соответствующих переменных.