

ТЕМНОВАЯ АДАПТАЦИЯ И КОНФОРМАЦИЯ КАРОТИНОИДОВ В КЛЕТКАХ ВОДОРΟΣЛИ *Cladophora aegagropila* (L.) Rabenh.

© 2017 г. В.В. Шутова, Е.В. Тютяев, Т.В. Веселова*, В.В. Чуб*, Г.В. Максимов*

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва,
430005, Республика Мордовия, Саранск, ул. Большевикская, 68

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские Горы, 1

E-mail: vshutova@yandex.ru, gmaksimov@mail.ru

Поступила в редакцию 09.03.17 г.

Интakтные культивируемые клетки пресноводной водоросли *Cladophora aegagropila* (L.) Rabenh. (синоним *Aegagropila linnaei* Kutz.) исследовали с помощью спектроскопии резонансного комбинационного рассеяния. Показано, что при инкубации в темноте (до 24 ч) в спектре комбинационного рассеяния каротиноидов водоросли происходят изменения соотношения амплитуд полос I_{1523}/I_{1155} и I_{960}/I_{1004} , а также полуширины полосы в области 1523 см^{-1} . Выдвинуто предположение, что при адаптации водоросли к темноте меняется конформация молекулы каротиноида за счет делокализации π -электронов в полиеновой цепочке молекулы и изменения плоскостной ориентации кольца. Кроме того, может измениться состав каротиноидов, их локализация в клетке и микроокружение в пигмент-белковых комплексах: в отсутствие освещения в клетке водоросли обнаружено более равномерное распределение каротиноидов. Вероятно, обнаруженные изменения обусловлены либо изменениями локализации клеточных органелл, либо перераспределением каротиноидов между фотосинтетическими мембранами, пластоглобулами и липофильными образованиями в цитоплазме.

Ключевые слова: *Cladophora aegagropila* (*Aegagropila linnaei*), каротиноид, конформация, РКР-спектроскопия.

Исследование содержания и конформации пигментов водоросли *Cladophora aegagropila* (L.) Rabenh. (синоним *Aegagropila linnaei* Kutz.) важно для развития современной биотехнологии, разрабатывающей методологию производства целлюлозы, каротиноидов и других биологически активных веществ [1,2]. В клетках зеленых водорослей каротиноиды локализованы преимущественно в пигмент-белковых комплексах, в свободной липидной фракции фотосинтетических мембран, а также в пластоглобулах, как в неэтерифицированной форме, так и в форме эфиров жирных кислот [3,4]. Очевидно, что в зависимости от локализации каротиноидов в клетке меняются и выполняемые ими функции.

С одной стороны, каротиноиды принимают участие как в поглощении, так и диссипации энергии света (светособирающий комплекс в тилакоидных мембранах хлоропластов), регулируя поступление энергии, необходимой для фотохимических процессов [5]. В данном случае заметная роль принадлежит ксантофиллам, которые у зеленых растений представлены преимущественно лютеином, неоксантином, виолаксантином и зеаксантином. Каротиноиды, ас-

социированные с белками (в первую очередь – β -каротин), являются тушителями триплетных состояний хлорофилла и синглетного кислорода, защищая белки, липиды и другие молекулы от окисления в ходе свободнорадикальных процессов [6]. Каротиноиды могут служить антиоксидантами в липофильных структурах клетки (мембраны тилакоидов, пластоглобулы и др.). Также в составе субъединиц белков фотосистем каротиноиды выполняют роль своеобразного молекулярного каркаса, необходимого для фолдинга и последующей сборки надмолекулярных комплексов (в том числе олигомеризации белков светособирающего комплекса в ди- и тримерные комплексы) [7]. С другой стороны, наличие «свободных» каротиноидов меняет вязкость мембран (в том числе и фотосинтетических) [8]. Известны каротиноиды, которые способствуют либо снижению (β -каротин), либо увеличению (зеаксантин, миксоксантофилл и др.), либо не меняют упорядоченность (эхиненон) жирнокислотных «хвостов» липидов мембраны [7]. И наконец, каротиноиды могут накапливаться и в виде эфиров жирных кислот либо в пластоглобулах (внутри жировой капли) стромы хлоропласта и цитоплазме клетки, препятствуя поступлению энергии к фотосинте-

Сокращение: РКР – резонансное комбинационное рассеяние.

ческому аппарату путем оптического экранирования [9].

Итак, широкий спектр функций молекул каротиноидов в клетке зависит не только от структуры самих молекул, но и от их окружения, места локализации каротиноидов. В связи с этим информация о конформации каротиноидов имеет важное диагностическое значение для анализа функционального состояния клетки при различных условиях ее культивирования. Известно, что при воздействии света меняется качественный и количественный состав каротиноидов, а также синтезируются их разные формы [10]. В настоящее время подробно изучены физико-химические характеристики каротиноидов в клетках водорослей, неадаптированных длительное время к отсутствию освещения [5], но меньше известно о том, как меняется конформация молекул пигмента (и/или состав каротиноидов) при ее длительной темновой адаптации. Для детального исследования данного вопроса в последнее время для изучения содержания и конформации каротиноидов в функционирующей клетке используется спектроскопия резонансного комбинационного рассеяния (РКР). Так, регистрируя положение и амплитуду полос в спектре РКР каротиноида (в частности, 1523 см^{-1} , 1156 см^{-1}), можно судить о вкладе колебаний двойных и одинарных $\text{C}=\text{C}=\text{C}$ связей в конформацию данной молекулы [11,12].

Целью настоящей работы было изучение изменений в спектре РКР при частотах, соответствующих каротиноидам в интактных клетках водоросли *Cladophora aegagropila* в условиях длительной темновой экспозиции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали пресноводную водоросль *Cladophora aegagropila* (L.) Rabenh. (синоним *Aegagropila linnaei* Kutz.). Талломы водоросли были выращены на среде Чу-10 (состав среды в г/л: $(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - 0,04; \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,025; \text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,01; \text{Na}_2\text{CO}_3 - 0,02; \text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O} - 0,025; \text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} - 0,0008)$ в течение 20 суток при температуре 25°C (плотность светового потока составляла $30\text{ мкЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$). В эксперименте талломы водоросли инкубировали в отсутствие источника света в течение 1, 3, 6 и 24 ч, затем проводили регистрацию спектров РКР.

Регистрация спектров РКР была проведена на базе микроскопа-спектрометра inVia Raman Microscope (Renishaw, Великобритания), который включает микроскоп Leica DM 2500M, оборудованный встроенной видеокамерой и координатным столиком с минимальным шагом движения по осям X и Y – 100 нм ; лазер с

длиной волны возбуждения 532 нм (максимальная мощность 100 мВт); систему регистрации сигнала РКР – CCD-детектор с Пельтье-охлаждением до -70°C ; дифракционную решетку – 1800 штр./мм со спектральной шириной 1780 см^{-1} и разрешающей способностью $1,6\text{--}1,9\text{ см}^{-1}$. Ширина входной щели составляла 65 мкм . Накопление сигнала производилось в течение 10 с при мощности излучения лазера 5 мВт . Получение и обработку спектров РКР производили с помощью программ WIRE 3.3 и Origin 8.1.

Статистическую обработку данных проводили с использованием таблиц Microsoft Excel 2013, Statistica 8 и OriginPro 8.1. В работе представлены средние значения опытов со стандартными ошибками ($n = 10$). Сравнение вариантов опытов проводили при 5% -м уровне значимости по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования в спектрах РКР водоросли были идентифицированы характерные полосы каротиноидов. Так, полоса 1523 см^{-1} спектра обусловлена валентными колебаниями двойных $\text{C}=\text{C}$ -связей молекул каротиноидов [13]. Известно, что смещение данной полосы в область более высоких частот характеризует уменьшение степени делокализации π -электронов в системе конъюгированных двойных связей молекулы [14]. При культивировании клеткой данный факт может быть связан либо со структурой молекул (изменение состава каротиноидов при инкубации клетки в темноте), у которых разное количество двойных (в том числе конъюгированных) связей, либо с изменением конформации тех же молекул каротиноидов. Известно, что предшественник всех каротиноидов – ликопин с одиннадцатью конъюгированными связями – характеризуется полосой РКР-спектра в области 1517 см^{-1} , в то время как у более короткого каротиноида кроцетина (семь конъюгированных связей) эта полоса наблюдается в спектре РКР при 1535 см^{-1} [15].

Полоса РКР-спектра 1156 см^{-1} характеризует интенсивность валентных колебаний $\text{C}=\text{C}$ в сочетании с валентными колебаниями $(-\text{C}=\text{C}-)$ связей (рис. 1). Однако в положение данной полосы спектра РКР молекулы каротиноидов помимо конъюгированных двойных связей свой вклад вносят метильные группы [16]. Так, полоса спектра РКР 1004 см^{-1} характеризует интенсивность «плоскостных качаний» боковой метильной группы $\text{C}-\text{CH}_3$ молекул каротиноидов [17]. Отметим, что амплитуда полосы 960 см^{-1} РКР-спектра характеризует интенсивность внеплоскостных колебаний $\text{C}-\text{H}$, локализованных ближе к $(-\text{C}=\text{C}-)$ -связи ($(\text{H})-\text{C}=\text{C}-(\text{H})$),

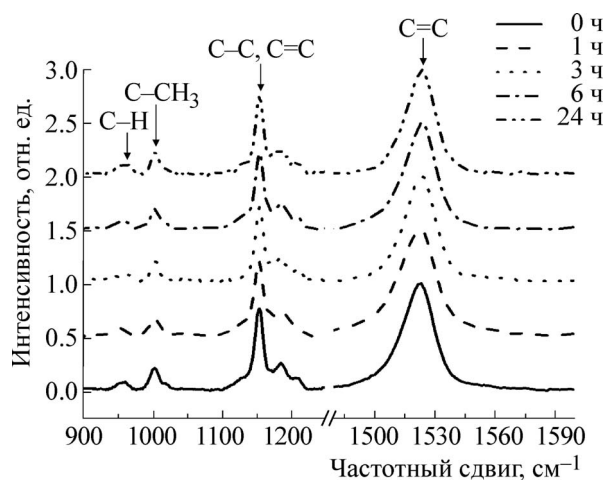


Рис. 1. Спектры РКР клеток водоросли *Cladophora aegagropila* при культивировании в отсутствие освещения (темновая адаптация) в течение 1, 3, 6 и 24 ч. Контролем служили РКР-спектры каротиноидов водоросли культивированной в световых условиях.

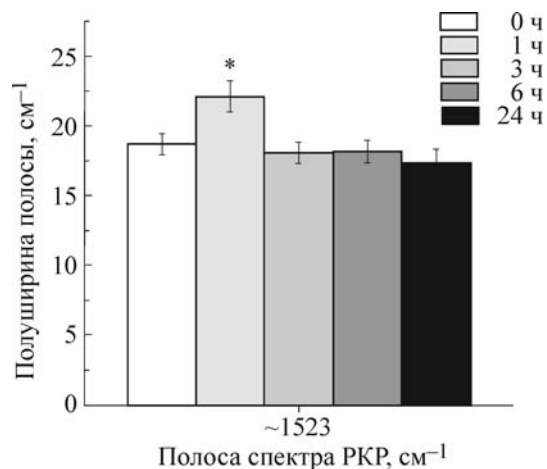


Рис. 2. Полуширина полосы 1523 см⁻¹ РКР-спектра каротиноидов после 1, 3, 6 и 24 ч темновой адаптации водоросли *Cladophora aegagropila*. Контролем служили РКР-спектры каротиноидов водоросли культивированной в световых условиях. * – Достоверное отличие от контроля (0 ч инкубации) при $p < 0,05$.

причем увеличение интенсивности данной полосы наблюдается при изменениях плоской конфигурации молекулы, как правило, около (–C–C–)–связи [16]: при экстрагировании каротиноидов из клеток интенсивность данной полосы РКР-спектра снижается в связи с тем, что в растворе молекулы каротиноидов находятся преимущественно в «плоской» ориентации [11]. В этом случае, вероятно, более выражены внеплоскостные колебания C–H–связи, обычно запрещенные при плоской ориентации молекулы [18]. Отметим, что чем прочнее связь между каротиноидом и белком в светособирающем комплексе, тем интенсивнее амплитуда полосы 960 см⁻¹ [16].

При анализе РКР-спектров каротиноидов в биологических объектах часто положение полос в спектре не изменяется, а интенсивность РКР зависит от условий эксперимента или объекта (например, несколько различных каротиноидов, каротиноиды в составе пигмент-белковых комплексов, либо колебания (–C=C–)– и (=C–C=)–связей жирных кислот липидов). В связи с этим для нормировки вклада отдельных связей молекулы каротиноида в спектре РКР используют либо величину полуширины характерной полосы, либо соотношения отдельных полос, выбирая, как правило, в качестве «внутримолекулярного маркера» полосу РКР, изменения которой минимальны в условиях конкретного эксперимента [19,20]. В ходе исследования мы не выявили изменения положения полос 1523 и 1156 см⁻¹ в спектрах РКР каротиноидов *Cladophora aegagropila* (рис. 1), но обнаружили изменения полуширины полосы ~1523 см⁻¹ спектра РКР после часа темновой экспозиции

(рис. 2). Этот факт, вероятно, свидетельствует о тенденции к сдвигу данной полосы, обусловленному изменениями степени делокализации π-электронов в системе сопряженных связей молекул каротиноидов. Установлено, что после трех часов темновой экспозиции водоросли наблюдается достоверное снижение соотношения интенсивности полос РКР-спектра I_{1523}/I_{1155} , которое после 24-часовой темновой экспозиции восстанавливается (рис. 3). Эти факты свидетельствуют либо об изменении конформации молекул одного типа каротиноида, либо об изменении в популяции соотношения молекул каротиноидов с различной химической структурой [21].

При анализе изменений отношения интенсивности полосы 960 см⁻¹ спектра РКР каротиноидов к полосе 1004 см⁻¹ установлено, что после часа темновой экспозиции величина соотношения возрастает (на 18% относительно световой адаптации), при культивировании в течение трех часов наблюдается снижение соотношения (на 14%), с последующим увеличением (на 16%) к 24-му часу (рис. 3). Эти результаты свидетельствуют, вероятно, об изменении положения кольца молекулы по отношению к оси полиеновой цепочки и/или об образовании каротиноидов с другой химической структурой.

В следующей серии экспериментов исследовали распределение каротиноидов в клетке водоросли при различных периодах культивирования в отсутствие света (рис. 4). Установлено, что распределение каротиноидов в отдельной клетке водоросли существенно меняется как в

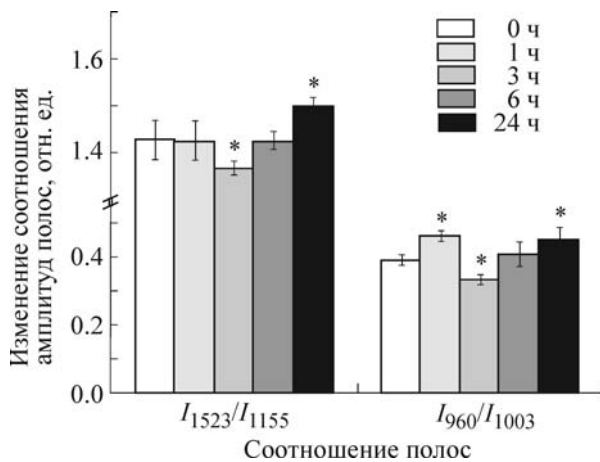


Рис. 3. Изменение соотношения амплитуд полос I_{1523}/I_{1155} и I_{960}/I_{1004} РКР-спектра каротиноидов, зарегистрированные после 1, 3, 6 и 24 ч темновой адаптации водоросли *Cladophora aegagropila*. Контролем служили РКР-спектры каротиноидов водоросли культивируемой в световых условиях. * – Достоверное отличие от контроля $p < 0,05$.

продольном, так и поперечном направлениях: при культивировании водоросли в условиях освещения, распределение каротиноидов в клетке более гетерогенное, чем в клетке, культивируемой в условиях темновой экспозиции (хорошо различимыми становятся области как с минимальной, так и максимальной амплитудой РКР каротиноидов) (рис. 4а). С течением времени темновой экспозиции происходит постепенное перераспределение каротиноидов в клетке: область цитоплазмы, характеризующаяся минимальным сигналом РКР, уменьшается и распределение сигнала РКР от целой клетки становится практически одинаковым, особенно в продольном направлении (рис. 4б–д, профиль 1). Следует отметить, что в ходе культивирования в клетках были выявлены области с максимальным сигналом РКР, который, вероятно, обусловлен либо агрегацией хлоропластов, либо формированием липофильных скоплений каротиноидов в цитоплазме (рис. 4г, д).

Согласно работе [2] такие каротиноиды, как лютеин и лороксантин, содержат по 10, а β -каротин – 11 сопряженных двойных углеродных связей, а в состав пигмент-белковых комплексов зеленых растений входят прочно связанный неоксантин и слабо связанные виолаксантин и зеаксантин [22]. Вероятно, основной вклад в суммарный сигнал в изучаемой нами области РКР вносят именно эти молекулы каротиноидов. В ходе проведенного исследования нами обнаружено, что в клетках водоросли *Cladophora aegagropila* после одного часа темновой экспозиции отмечается тенденция сдвига полосы РКР-спектра 1523 см^{-1} (рис. 2). Этот факт может быть вызван следующим:

1. Происходит частичная локализация/делокализация π -электронов в сопряженной системе двойных связей молекул каротиноидов. При этом увеличивается амплитуда полосы РКР спектра 960 см^{-1} (рис. 3), что, вероятно, обусловлено изменением плоской ориентации молекулы, а именно изменением диэдрального угла (рис. 5) ($C5-C6-C7-C8$ ($\angle C5'-C6'-C7'-C8'$)) между β -кольцом и осью углеродной цепи каротиноида от 0 до 40° либо от 90 до 130° [14]. Известно, что такие изменения могут происходить за счет делокализации π -электронной системы в полиеновой цепочке молекулы каротиноидов [14]. Вероятно, с этим связаны незначительные изменения полуширины полосы 1523 см^{-1} : частичное изменение диэдрального угла еще не сопровождается изменением амплитуды или сдвигом полосы $\sim 1523 \text{ см}^{-1}$;

2. В течение трех часов темновой экспозиции водоросли в спектре РКР каротиноидов выявлено снижение амплитуд полос 1523 и 960 см^{-1} (рис. 3). Как известно, уменьшение амплитуды полосы валентных колебаний двойных связей (1523 см^{-1}) может быть вызвано уменьшением степени делокализации π -электронов, а уменьшение амплитуды полосы 960 см^{-1} – переходом молекулы в более «плоскую» конформацию. Вероятно, при темновой адаптации в течение трех часов большинство молекул каротиноидов переходит в «плоскую» конформацию, а угол между β -кольцом (диэдральный угол) и основной углеродной цепью меняется в диапазоне $40-90^\circ$ ($130-180^\circ$). По-видимому, при этом в молекуле снижается конъюгация (локализация π -электронов), что делает невозможным вращение периферийных частей молекулы вместе с кольцом, и молекула приобретает плоскую ориентацию [14]. Очевидно, что изменения вклада колебаний отдельных связей молекулы каротиноида, определяющих амплитуду полос 1523 и 960 см^{-1} спектра РКР, могут быть взаимозависимыми: так, при повороте β -кольца с достижением *s-цис*- и *all-транс*-конформаций (рис. 5а и 5б соответственно) увеличивается степень делокализации π -электронов, обусловленная увеличением влияния π -электронов β -кольца на π -электронную систему конъюгированного углеродного остова молекулы и одновременно становится возможным вращение периферийного участка цепи вместе с вращением кольца [14]. Действительно, при более длительной темновой экспозиции клеток водоросли *Cladophora aegagropila* (24 ч) нами наблюдался подобный эффект: увеличивается как амплитуда полосы 1523 см^{-1} , так и амплитуда полосы 960 см^{-1} спектра РКР каротиноида. Как известно, увеличение амплитуды 1523 см^{-1} связано с усилением делокализации π -электронов, а уве-

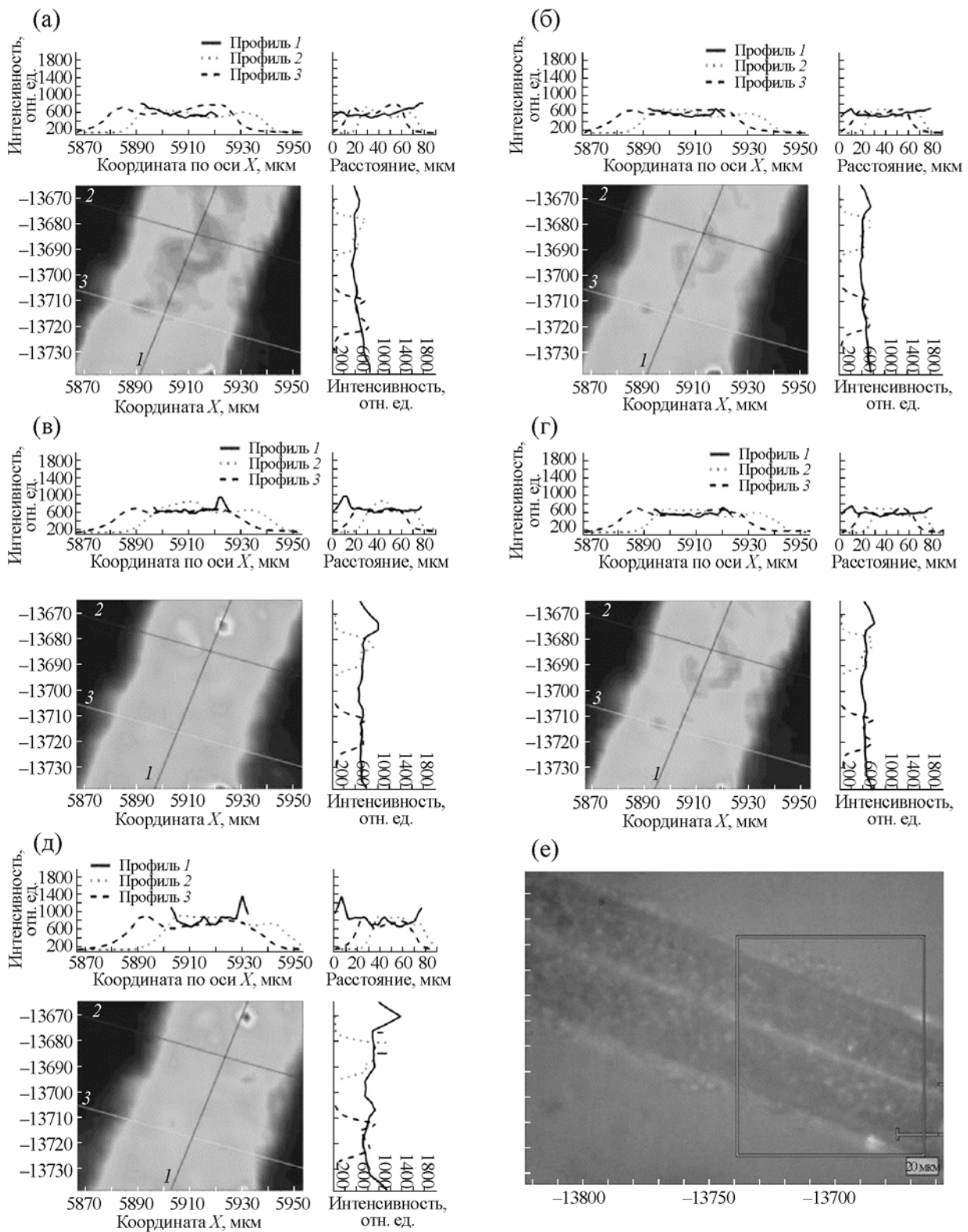


Рис. 4. Распределение сигнала РКР полосы 1523 см^{-1} в клетке водоросли *Cladophora aegagropila* в темноте (темновая адаптация) в течение 1 (б), 3 (в), 6 (г) и 24 (д) часов (отсутствие освещения) (разрешение пиксель на 0,3 мкм.). Контролем служили РКР-спектры каротиноидов водоросли, культивируемой в световых условиях (а). В правом нижнем углу представлена микрофотография картируемой клетки.

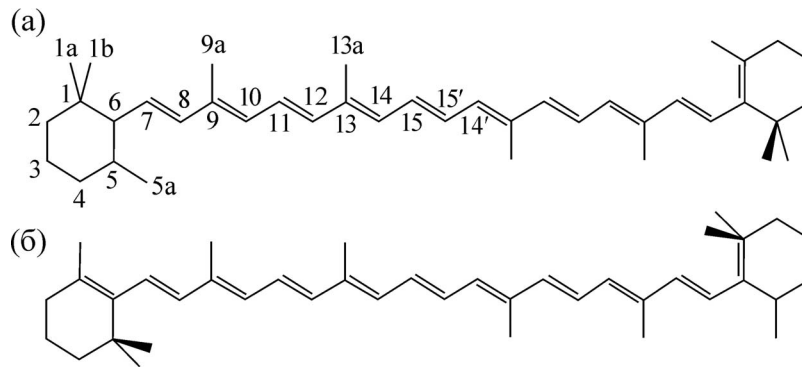


Рис. 5. Структурные формулы *s*-*цис*-каротина (а) и *all-транс*-каротина (б).

личение амплитуды полосы $\sim 960 \text{ см}^{-1}$ связано с увеличением вероятности вращения β -кольца вместе с периферийной частью молекулы;

3. Изменяется состав каротиноидов в клетке за счет синтеза и разрушения молекулы. Так, у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh. относительный уровень каротиноидов за 24 ч пребывания в темноте снижался на 20% [23]. При снижении освещения ксантофилловый цикл быстро модулируется благодаря изменению активности виолаксантиндеэпоксидазы и зеатинэпоксидазы. Измерения на листьях авокадо показывают, что за 20 мин после изменения освещения относительный уровень виолакسانтина может изменяться в два раза, а уровень эпоксидирования в системе зеаксантин/виолаксантин – до 3,5 раз [24]. РКР-спектры этих каротиноидов свидетельствуют о том, что в зависимости от наличия кислорода в составе молекулы положение максимумов может колебаться от 1519 до 1531 см^{-1} , причем эта полоса у лютеина находится между соответствующими полосами зеаксантина и виолаксантина [25]. Итак, в результате работы любых ферментов, изменяющих число эпоксидных групп в кольцах и/или изменяющих длину молекулы каротиноида, суммарный РКР-спектр будет включать максимальный сигнал от виолаксантина при все еще значительном сигнале от зеаксантина. Этим можно объяснить, в частности, изменение полуширины полосы 1523 см^{-1} , наблюдаемое в первый час темновой инкубации. В дальнейшем зеаксантин максимально превращается в виолаксантин, и за счет стабилизации состава каротиноидов РКР-спектр водоросли становится характерным для данного вещества. Действительно, начиная с третьего часа темновой экспозиции полуширина полосы РКР-спектра 1523 см^{-1} возвращается к исходному уровню (рис. 2).

По-видимому, эпоксидирование β -кольца по двойной связи молекулы каротиноида не только меняет длину π -электронной системы, но и подвижность кольца (по крайней мере у эпок-

сидированной доли в популяции молекул каротиноидов), что, в свою очередь, характеризуется изменениями полосы РКР-спектра в области 960 см^{-1} .

Исходя из данных проведенного анализа внутриклеточного распределения интенсивности РКР-сигнала, можно предположить, что гетерогенное распределение каротиноидов на ранних этапах темновой экспозиции обусловлено париетальным (постеночным) расположением хлоропластов, которое характерно для условий хорошего освещения. По мере темновой адаптации хлоропласты распределяются более равномерно по клетке, что и вызывает эффект сужения области с минимальным РКР-сигналом. Возникновение овальной области с максимальным сигналом РКР от полосы $\sim 1523 \text{ см}^{-1}$ объясняется, по-видимому, перемещением с током цитоплазмы либо агрегированных хлоропластов, либо одиночной пластиды с максимальным содержанием каротиноидов (рис. 4г,д). Для верифицирования предложенной гипотезы необходимы дополнительные исследования на световом и электронномикроскопическом уровне.

Итак, в ходе данного исследования была доказана динамика гетерогенности распределения молекул каротиноидов в ходе темновой адаптации клетки. Вероятно, наблюдаемые по мере темновой адаптации изменения РКР-спектра обусловлены, с одной стороны, изменением степени делокализации π -электронов в молекуле каротиноидов, которая, вероятно, зависит от величины диэдрального угла между β -кольцом и основной цепью молекулы, а с другой – изменениями в составе каротиноидов (наиболее вероятно – ксантофиллов). Наряду с этим, выявлена тенденция к более равномерному распределению каротиноидов по всей клетке при темновой экспозиции, что, вероятно, обусловлено изменением внутриклеточной локализации хлоропластов и/или липофильных образований в цитоплазме, перераспределением каротиноидов

дов между цитоплазмой, плазматической мембраной и пигмент-белковыми комплексами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. P. J. O'Dell, A. R. Mudinoor, S. J. Parikh, and T. Jeoh, *Cellulose* **22** (3), 1697 (2015). DOI 10.1007/s10570-015-0618-y.
2. Y. Yoshii, I. Wakana, K. Miyaji, et al., *J. Phycol.* **40**, 1170 (2004).
3. B. R. Green, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **47**, 685 (1996).
4. A. M. Collins, H. D. T. Jones, D. Han, et al., *PLOS One* **6** (9), 123 (2011).
5. P. Jahns, D. Latowski, and K. Strzalka, *Biochim. Biophys. Acta* **1787**, 3 (2009).
6. В. Г. Ладыгин, в сб. *Вопросы современной альгологии* (Пушино, 2014), с. 87.
7. A. Telfer, *Photochem. Photobiol. Sci.* **4**, 950 (2005).
8. I. Domonkos, M. Kis, Z. Gombos, and B. Ughy, *Progr. Lipid Res.* **52**, 539 (2013).
9. K. Kiodawska, M. Przemyslaw, M. Kis, et al., *Acta Biochim. Pol.* **59** (1), 87 (2009).
10. А. Е. Соловченко и М. Н. Мерзляк, *Оптическое экранирование как фотозащитный механизм растений* (А-Литера, М., 2010).
11. S. Steiger, L. Schäfer, and G. J. Sandmann, *Photochem. Photobiol. B: Biology* **52**, 14 (1999).
12. H. A. Frank, A. J. Young, G. Britton, and R. J. Cogdell, *The Photochemistry of Carotenoids* (New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Springer Science & Business Media, 2006), Vol. 8.
13. Г. Н. Смоликова и С. С. Медведев, *Физиология растений* **62** (1), 3 (2015).
14. A. V. Ruban, A. A. Pascali., B. Robert, and P. Horton, *J. Biol. Chem.* **276** (27), 24862 (2001).
15. W. L. Liu, Z. G. Wang, Z. R. Zheng, et al., *J. Phys. Chem. A* **112**, 10580 (2008).
16. R. Withnall, B. Z. Chowdhry, J. Silver, et al., *Spectrochim. Acta. Part A* **59**, 2207 (2003).
17. M. T. A. Alexandre, K. Gundermann, and A. A. Pascal, *Photosynth. Res.* **119**, 273 (2014).
18. J. C. Merlin, *Pure & Application Chem.* **57** (5), 785 (1985).
19. C. Iliaia, M. P. Johnson, and C. D. P. Duffy, *J. Biol. Chem.* **286** (1), 91 (2011).
20. B. Szalontai, Cs. Bagyinka, and L. I. Horvóth, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **76** (3), 619 (1977).
21. Е. В. Тютяев, В. В. Шутова, Г. В. Максимов и Ч. Н. Раденович, *Физиол. растений и генетика* **47** (2), 147 (2015).
22. W. Grudzinski, E. Janik, J. Bednarska, et al., *J. Phys. Chem.* **120** (19), 4373 (2016). DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b01641
23. J. Bou-Torrent, G. Toledo-Ortiz, M. Ortiz-Alcaide, et al., *Plant Physiol.* **169**, 1584 (2015).
24. S. Matsubara, Ch. Yi-Chun, R. Caliandro, et al., *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **104**, 271 (2011).
25. A. V. Ruban, A. A. Pascali, B. Robert, and P. Horton, *J. Biol. Chem.* **276** (27), 24862 (2001).

Dark Adaptation and Conformations of Carotenoids in Algae Cells *Cladophora aegagropila* (L). Rabenh.

V.V. Shutova*, E.V. Tyutyayev*, T.V. Veselova**, V.V. Choob**, and G.V. Maksimov**

*Ogarev Mordovia State University – National Research University,
ul. Bolshevistskaya 68, Saransk, Republic of Mordovia, 430005 Russia

**Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow, 119991 Russia

Intact cells of freshwater algae *Cladophora aegagropila* (L). Rabenh. were investigated by resonance Raman spectroscopy. It is shown that during incubation in the dark (up to 24 hours) in the Raman spectroscopy spectrum of carotenoids from algae changes in the ratio of the amplitudes of the bands I_{1523}/I_{1155} and I_{960}/I_{1004} and also the half-width of the Raman spectroscopy in 1523 cm^{-1} band occur. It is suggested that the adaptation of algae to the dark alters the conformation of the molecule of the carotenoid by delocalization of π -electrons in the polyene chain of the molecule and changes the orientation of a planar ring. Moreover, the composition of carotenoids, their localization in the cell and microenvironment in the pigment-protein complexes may be different: in the absence of illumination found in algae cell more uniform distribution of carotenoids is seen. Probably the observed changes are caused either by changes in localization of cell organelles or carotenoid redistribution between photosynthetic membranes, plastoglobules and lipophilic formations in the cytoplasm.

Keywords: *Cladophora aegagropila* (*Aegagropila linnaei*), carotenoid, conformation, resonance Raman spectroscopy