



XXI Пущинские чтения по фотосинтезу
и Всероссийская конференция
«Фотосинтез и фотобиотехнология.
Фундаментальные и прикладные аспекты»

1 – 6 июня 2015
г. Пущино

Программа конференции
Тезисы докладов

Пущино – 2015

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ БИОЛОГИИ РАН
(ИФПБ РАН)
РОССИЙСКОЕ ФОТОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО
НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ
И ФОТОСИНТЕЗУ РАН

XXI Пущинские чтения по фотосинтезу
и Всероссийская конференция
«Фотосинтез и фотобиотехнология.
Фундаментальные и прикладные аспекты»

1 – 6 июня 2015
г. Пущино

Программа конференции
Тезисы докладов

Пущино 2015

«Фотосинтез и фотобиотехнология. Фундаментальные и прикладные аспекты». Сборник тезисов.

– Пущино, 2015. – 112 с.
ISBN 978-5-9905822-1-7

В настоящем сборнике представлены материалы XXI Пущинских чтений по фотосинтезу и Всероссийской конференции «Фотосинтез и фотобиотехнология. Фундаментальные и прикладные аспекты», а также проведенного в рамках конференции семинара «Первичное преобразование энергии света при фотосинтезе и фотосинтетическое окисление воды», посвящённого 70-летию В. В. Климова.

Сборник предназначен для широкого круга биологов, химиков и физиков, интересующихся проблемами фотосинтеза и фотобиотехнологии.

Мероприятие проведено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Проект № 15-04-20318 Г.

ОРГКОМИТЕТ

Председатель: Шувалов В. А.
Со-председатель: Цыганков А. А.
Координатор: Аллахвердиев С. И.
Секретарь: Леонова М. М.

Члены оргкомитета:

Воробьёва Т. И.
Ельцова З. А.
Козлов И. В.
Козлов В. А.
Козулева М. А.
Найдов И. А.
Стерелюхина И. Г.
Терентьев В. В.
Федорчук Т. П.
Шастик Е. С.
Шитов А. В.
Шубин Л. М.

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Шувалов В. А., акад. – Председатель
Цыганков А. А., д.б.н. – Со-председатель
Аллахвердиев С. И., д.б.н. – Координатор

Члены комитета:

В. В. Зинченко, проф., д.б.н.
Б. Н. Иванов, проф., д.б.н.

Н. В. Карапетян, проф., д.б.н.

В. В. Климов, проф., д.б.н.
А. А. Красновский проф., д.б.н.
В. В. Кузнецов, чл-корр. РАН
Д. А. Лось, проф., д.б.н.
А. Ф. Миронов, проф., д.б.н.
В. А. Надточенко проф., д.х.н.
А. М. Носов, проф., д.б.н.
В. З. Пашенко, проф., д.ф.-м.н.
И. И. Проскуряков, д.ф.-м.н.
А. Б. Рубин, чл-корр. РАН
А. Ю. Семенов, проф., д.б.н.
А. Н. Тихонов, проф., д.ф.-м.н.

НАШИ СПОНСОРЫ И ПАРТНЁРЫ



Институт фундаментальных проблем биологии РАН



РОССИЙСКИЙ
ФОНД
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

Российский фонд фундаментальных исследований



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

Федеральное агентство научных организаций



Российское фотобиологическое общество

Научный совет по
физиологии растений
и фотосинтезу РАН

Научный совет по физиологии растений и фотосинтезу РАН



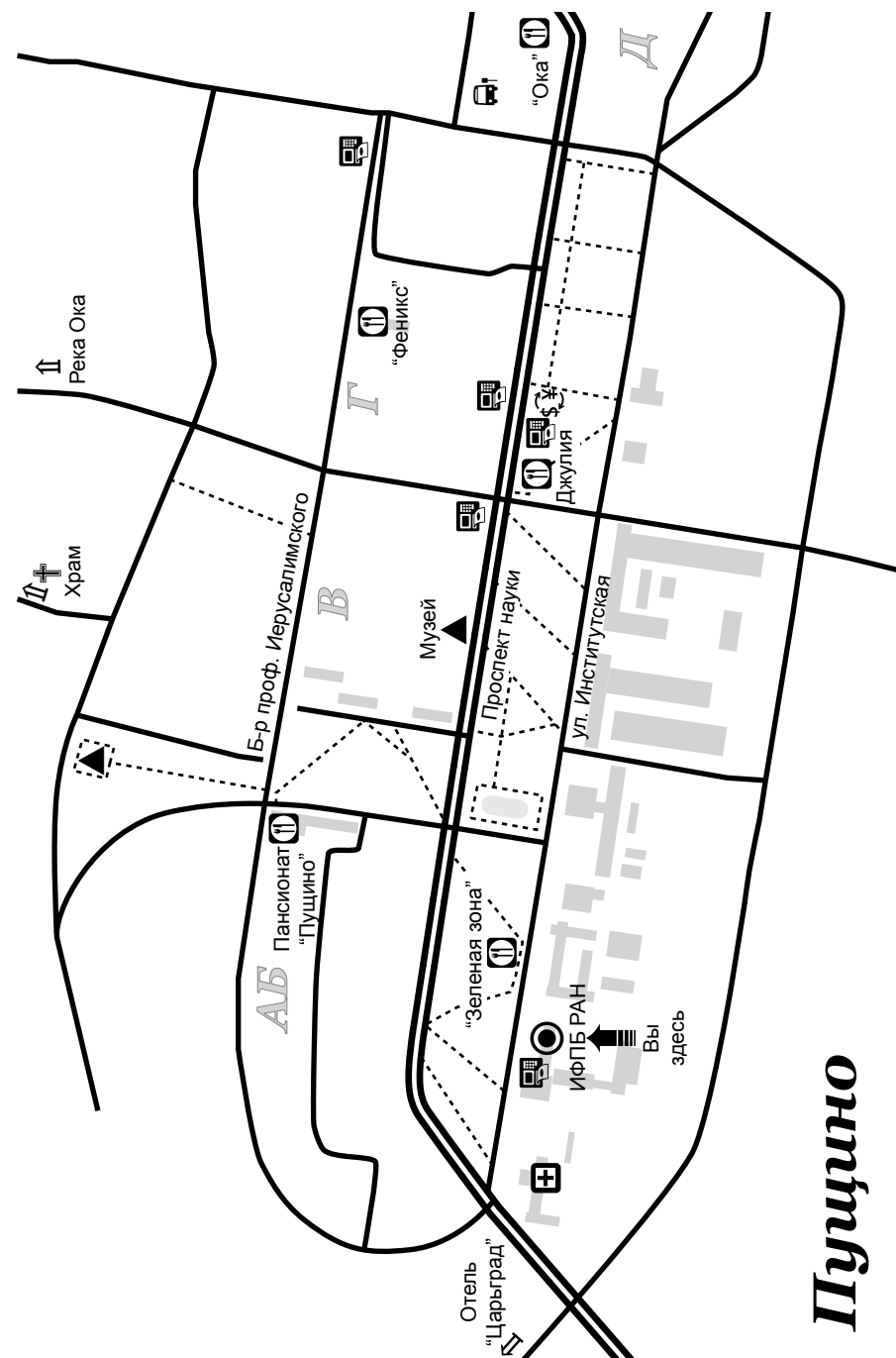
СПЕЦЛАБПРОЕКТ
лабораторное оборудование

ООО «Спецлабпроект»



ПУЩИНСКИЕ
ЛАБОРАТОРИИ

Компания «Пушкинские лаборатории»



ПРОГРАММА

1 июня 2015 (первый день)

9:00 – 10:00 Регистрация участников

10:00 – 10:30 Открытие XXI Пущинских чтений и Всероссийской научной конференции «Фотосинтез и фотобиотехнология. Фундаментальные и прикладные аспекты»

Вступительное слово со-председателя оргкомитета Конференции, президента Российского фотобиологического общества Цыганкова А. А.

XXI Пущинские чтения по фотосинтезу

Председатель заседания: Климов Вячеслав Васильевич

10:30 – 11:30 **Тихонов Александр Николаевич.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)

Перенос электронов и протонов при фотосинтезе

11:30 – 12:30 **Цыганков Анатолий Анатольевич.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Фотобиотехнология и получение альтернативных энергоносителей

12:30 – 14:00 Обед

Всероссийская конференция «Фотосинтез и фотобиотехнология. Фундаментальные и прикладные аспекты»

Секция 1. Первичные процессы фотосинтеза

Председатель заседания: Тихонов Александр Николаевич

14:00 – 14:30 **Кленина Ирина Борисовна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)

Глобальный анализ динамики короткоживущих сигналов ЭПР фотосинтетических пигментов

14:30 – 15:00 **Стадничук Игорь Николаевич.** (Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва, Россия)

Теоретические основы механизма нефотохимического тушения фикобилисом в пигментном аппарате цианобактерий

15:00 – 15:30 **Зленко Дмитрий Владимирович.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Молекулярная структура фикобилисом цианобактерий

15:30 – 15:45 Перерыв

Председатель заседания: Проскуряков Иван Игоревич

15:45 – 16:15 **Неверов Константин Викторович.** (Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва, Россия; Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)

Низкотемпературная флуоресценция хлорофилла в изолированных препаратах реакционных центров ФС2

16:15 – 16:45 **Пищальников Роман Юрьевич.** (Институт общей физики им. А. Н. Прохорова, РАН, Москва, Россия)

Особенности экситонных состояний в трубчатых агрегатах хлоросом

16:45 – 17:15 **Тютяев Евгений Владимирович.** (Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия)
Изменение состояния каротиноидов в клетках цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803 при холодном стрессе

17:30 **Вечер приветствия участников**

2 июня 2015 (второй день)

9:00 – 9:30 Регистрация участников

Секция 2. Актуальные проблемы фотосинтетического транспорта электронов, протонов и синтеза АТФ

Председатель заседания: Мальян Александр Нерсесович

9:30 – 10:00 **Борисова Мария Мансуровна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)

Роль реакции Мелера и активных форм кислорода в адаптации растений к повышенной освещенности

10:00 – 10:30 **Руденко Наталья Николаевна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)

Роль тилакоидной α -карбоангидразы 4 в метаболизме *Arabidopsis thaliana*

10:30 – 11:00 **Золотарева Елена Константиновна.** (Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев, Украина)

Состояние электрон-транспортной цепи клеток *Euglena gracilis* при миксотрофном культивировании (ВИДЕО-УЧАСТНИК)

11:00 – 11:15 Перерыв

Председатель заседания: Кособрюхов Анатолий Александрович

11:15 – 11:45 **Мальян Александр Нерсесович.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)

Влияние вязкости среды на синтез АТФ хлоропластами и гидролиз АТФ сопрягающим фактором CF_1

11:45 – 12:15 **Креславский Владимир Данилович.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)

Влияние фитохромной системы на стресс-устойчивость фотосинтетического аппарата высших растений

12:15 – 12:35 **Дымова Ольга Васильевна.** (Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия)

Состояние фотосинтетического аппарата и транспорт электронов в ФС2 зимнезеленых листьев *Ajuga reptans*

12:35 – 14:00 Обед

Председатель заседания: Иванов Борис Николаевич

14:00 – 14:30 **Лысенко Евгений Анатольевич.** (Институт физиологии растений РАН, Москва, Россия)

Кадмий в хлоропластах: Поиск возможных мишеней, количественный подход

14:30 – 15:00 **Шутилова Надежда Ивановна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Кислородвыделяющий комплекс мембран хлоропластов: принципы организации и функционирования – ключ к технологии

15:00 – 15:30 **Кособрюхов Анатолий Александрович.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Фотохимическая активность и темновые процессы фотосинтеза при изменении условий внешней среды.

15:30 – 16:00 **Балахнина Тамара Ивановна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Совместное действие свинца и температуры на развитие окислительного стресса в листьях *Plantago major* L.

16:00 – 18:50 **Кофе. Ознакомление с постерами Секции 1.**

19:00 **Концерт. «Голоса эпох» Исполняют лауреаты международных и всероссийских конкурсов, выпускники Московской государственной консерватории Дарина Аблогина (флейта) и Мария Лесовиченко (фортепиано). В программе: Бах, Дебюсси, Такемитцу.**

3 июня 2015 (ТРЕТИЙ ДЕНЬ)

9:00 – 9:30 Регистрация участников

Секция 3. Генетика фотосинтеза

Председатель заседания: Савченко Татьяна Викторовна

9:30 – 10:00 **Васильева Людмила Григорьевна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Сайт-направленный мутагенез бактериального реакционного центра для исследования пигмент-белковых взаимодействий

10:00 – 10:30 **Игнатова Людмила Казимировна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Влияние нокаута генов At2g28210 и At4g20990, кодирующих карбоангидразы α -2 и α -4, на показатели фотосинтеза растений *Arabidopsis thaliana*

10:30 – 10:45 ПЕРЕРЫВ

Председатель заседания: Васильева Людмила Григорьевна

10:45 – 11:15 **Янюшин Михаил Филиппович.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Сопоставление дендрограмм для компонентов цепей переноса электрона с общей филогенией прокариот как подход к проблеме происхождения и эволюции фотосинтеза и дыхания

11:15 – 12:00 **Ладыгин Владимир Георгиевич.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Роль генов темного (*brc-1* и *lts-3*) и светового (*brs-1* и *chl-1*) биосинтеза хлорофилла на структуру и функцию мембран в клетках мутантов *Chlamydomonas reinhardtii*

12:00 – 14:00 ОБЕД

Секция 4. Энергетика фотосинтеза (биоводород, биодизель, биоэлектричество)

Председатель заседания: Цыганков Анатолий Анатольевич

14:00 – 14:30 **Булаткин Геннадий Александрович.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Сравнение энергетической эффективности технологий возделывания мискантуса китайского в условиях ЦФО Российской Федерации

14:30 – 15:00 **Ельцова Зинаида Александровна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)

Скорости роста родительского штамма пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter sphaeroides* и его мутанта, лишённого периферийной антенны

15:00 – 15:30 **Волгушева Алена Александровна.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)

Особенности фотоиндуцированного образования водорода зеленой микроводорослью *Chlamydomonas reinhardtii* в условиях недостатка магния

15:30 – 15:50 **Степанов Сергей Степанович.** (Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев, Украина)

Стимуляция экзогенным метанолом фотовыделения водорода культурой *Chlamydomonas reinhardtii* (ВИДЕО-УЧАСТНИК)

15:50 – 16:05 ПЕРЕРЫВ

Секция 5. Синтез ценных продуктов фотосинтезирующими клетками, тканями и организмами

Председатель заседания: Креславский Владимир Данилович

16:05 – 16:35 **Савченко Татьяна Викторовна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Биохимическая характеристика IQD1 – кальмодулин-связывающего белка, регулирующего накопление глюкозинолатов в арабидопсисе

16:35 – 16:55 **Иваницких Алина Сергеевна.** (Российский государственный аграрный университет им. К. А. Тимирязева, Москва, Россия)
Регуляция содержания компонентов эфирного масла в растениях базилика в светокультуре на основе светоиспускающих диодов

16:55 – 17:15 **Чеканов Константин Александрович.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Функционирование фотосинтетического аппарата микроводоросли *Haematococcus pluvialis* при переходе в состояние гематоцисты

17:30 – 19:00 **Ознакомление с постерами Секций 2–7**

4 июня 2015 (ЧЕТВЕРТЫЙ ДЕНЬ)

9:30 – 10:00 Регистрация участников

Семинар «Первичное преобразование энергии света при фотосинтезе и фотосинтетическое окисление воды» (посвящённый 70-летию В.В. Климова)

Председатели заседания: Шувалов Владимир Анатольевич, Проскуряков Иван Игоревич

10:00 – 10:40 **Климов Вячеслав Васильевич.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия)
Фотосистема 2 и фотосинтетическое окисление воды

10:40 – 11:20 **Шувалов Владимир Анатольевич.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия)
Первичное разделение зарядов в фотосистеме 2 зеленых растений

11:20 – 11:40 **Рубин Андрей Борисович.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Современные проблемы фотосинтеза

11:40 – 12:10 **Barry D. Bruce.** (Departments of Microbiology & Biochemistry and Cellular and Molecular Biology University of Tennessee at Knoxville)
Origin and evolution of PSI in cyanobacteria and chloroplasts

12:10 – 14:00 ПЕРЕРЫВ НА ОБЕД

Председатель заседания: Рубин Андрей Борисович

14:00 – 14:40 **Семёнов Алексей Юрьевич.** (НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Влияние трегалозной матрицы на кинетику рекомбинации зарядов в фотосистеме 1 при различной степени влажности

14:40 – 15:10 **Anjana Jajoo.** (School of Life Science, Devi Ahilya University, Indore, India)
Low pH induced changes in thylakoid membranes

15:10 – 15:40 **Надточенко Виктор Андреевич.** (Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, Москва, Россия; Институт фундаментальных проблем химической физики РАН, г. Черноголовка, Россия)
Фемтосекундная динамика первичных процессов разделения зарядов в фотосистеме 1

15:40 – 16:10 **Красновский Александр Александрович.** (Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва, Россия; Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Триплетный хлорофилл, синглетный кислород и фотоокислительный стресс в растениях

16:10 – 16:25 ПЕРЕРЫВ

Председатель заседания: Надточенко Виктор Андреевич

16:25 – 16:45 **Пашенко Владимир Захарович.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Сравнительное исследование эффективности фотохимического (P680) и нефотохимического (P680⁺) тушения флуоресценции в ФСII

16:45 – 17:15 **Проскуряков Иван Игоревич.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия)
Перенос энергии возбуждения и деструктивные процессы в периферийных светособирающих комплексах пурпурных бактерий

17:15 – 17:45 **Мамедов Маир Джафарович.** (НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Влияние дисахарида трегалозы на реакции переноса электрона и протона в комплексах фотосистемы 2

17:45 – 18:25 **Кочубей Светлана Михайловна.** (Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев, Украина)
Вариабельность конфигураций комплекса Фотосистемы II в мембранах тилакоидов гран (ВИДЕО-УЧАСТНИК)

18:40 ТРАДИЦИОННЫЙ КОСТЕР

5 июня 2015 (пятый день)

9:30 – 10:00 Регистрация участников

Продолжение всероссийской конференции «Фотосинтез и фотобиотехнология. Фундаментальные и прикладные аспекты»

Секция 6. Фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии и диагностики

Председатель заседания: Красновский Александр Александрович

10:00 – 10:30 **Грин Михаил Александрович.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)
Производные природного бактериохлорофилла *a*. Ретроспектива исследований последних 15 лет

10:30 – 11:00 **Соколова Ирина Владимировна.** (Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия)
Свойства триплетных состояний синтетических и природных сенсибилизаторов

11:00 – 11:30 **Козлов Антон Сергеевич.** (Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва, Россия)

Беспигментное возбуждение кислородных молекул ИК лазерным излучением в органических и водных средах

11:30 – 11:45 ПЕРЕРЫВ

Секция 7. Флуоресцентные белки

Председатель заседания: Семенов Алексей Юрьевич

11:45 – 12:15 **Карпулевич Анастасия Андреевна.** (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия)

Гибридные структуры из квантовых точек и аллофикоцианина

12:15 – 12:45 **Сердюк Ольга Петровна.** (Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия)

Бактериофитохром-подобный комплекс фототрофной пурпурной бактерии *Rhodospseudomonas palustris*

12:45 – 14:00 **Подведение конкурса лучших работ молодых ученых. Выступления победителей конкурса (5 мин каждому докладчику), награждение победителей.**

14:00 **Завершение работы конференции. Совместное фотографирование**

Свободное время

6 июня 2015 (шестой день)

Экскурсии по выбору (Талез, Мелихово, Поленово).

Отъезд участников

СТЕНДОВАЯ СЕССИЯ

2 июня, вторник, секция 1

Механизмы подавления триплетного состояния первичного донора фотосинтетических реакционных центров

Алисова И. В., Проскуряков И. И.

Свойства антенных комплексов пурпурных серных фотосинтезирующих бактерий со встроенным сфероиденом

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

Влияние интенсивности освещения и ингибирования биосинтеза каротиноидов на сборку разных типов периферийного комплекса LH2 пурпурной серной бактерии *Allochrochromatium vinosum*

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

Действие гуминовых веществ и наночастиц серебра и золота на флуоресценцию культуры микроводоросли *Scenedesmus quadricauda*

Габбасова Д. Т., Протопопов Ф. Ф., Заядан Б. К.

Влияние условий космического полета на фотосинтетический аппарат цианобактерий

Клементьев К. Е., Максимов Е. Г., Цораев Г. В., Еланская И. В., Спасский А. В., Пащенко В. З.

Фотоиндуцированные абсорбционные изменения каротиноидов в светособирающих комплексах LH2 и LH1-RC из *All. minutissimum* и *Ect. haloalkaliphila*

Козловский В. С., Ашихмин А. А., Махнева З. К., Москаленко А. А., Компанец В. О., Чекалин С. В., Лукашев Е. П., Пащенко В. З., Разживин А. П.

Эффект кислорода на триплетное состояние P_{700} в Фотосистеме I

Козулева М. А., Флорес М., Реддинг К.

Особенности низкотемпературных спектров флуоресценции листьев ячменя, выращенного при освещении узкополосным красным и синим светом

Кочетова Г. В., Беляева О. Б., Жигалова Т. В., Бассарская Е. М., Аверчева О. В.

Исследование разделения зарядов в РЦ *Rba. sphaeroides* с повышенным потенциалом первичного донора электрона при комнатной температуре

Леонова М. М., Христина А. М., Шувалов В. А., Хмельницкий А. Ю.

Моделирование первичных процессов фотосинтеза методом Монте-Карло

Маслаков А., Антал Т. К., Ризниченко Г. Ю.

Температурная зависимость времени жизни флуоресценции триптофанилов в РЦ *Rb. sphaeroides* замороженных до 80К в темноте или на активирующем свете

Нокс П. П., Корватовский Б. Н., Гришанова Н. П., Сейфуллина Н. Х., Пащенко В. З., Рубин А. Б.

Роль филлохинона в процессах переноса электрона в фотосистеме I

Петрова А. А., Босхомджиева Б. К., Трубицин Б. В., Тихонов А. Н., Мамедов М. Д., Семенов А. Ю.

Регуляция активности фотосистемы 2 мутантов *Synechocystis* PCC 6803 с различным редокс состоянием пластохинонового пула

Проскурина О. В., Болычевцева Ю. В., Кузьминов Ф. И., Еланская И. В., Фадеев В. В.

О переносе энергии возбуждения от полосы Core бактериохлорофилла к каротиноидам

Разживин А. П., Козловский В. С., Ашихмин А. А., Махнева З. К., Москаленко А. А., Компанец В. О., Чекалин С. В., Лукашев Е. П., Пащенко В. З.

Образование структурной субъединицы B820 при диссоциации ансамблей RC-LH1 из пурпурной бактерии *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* с различным составом каротиноидов

Соловьев А. А., Ашихмин А. А., Москаленко А. А.

Структура и свойства реакционного центра *Rhodobacter sphaeroides* с аминокислотным замещением L(M196)H.

Фуфина Т. Ю., Васильева Л. Г., Габдулхаков А. Г., Шувалов В. А.

Участие молекулярного кислорода в фотоинактивации донорной стороны фотосистемы 2, лишённой марганца

Хоробрых А. А., Климов В. В.

Образование и экстракция прочно связанного хлорофилла в препаратах хлорофилл-белковых комплексов

Христина М. С.

Взаимодействие молекулярного кислорода с компонентами донорной стороны фотосистемы 2 с повреждённым водоокисляющим комплексом

Яныкин Д. В., Хоробрых А. А., Хоробрых С. А., Климов В. В.

3 июня, среда, секции 2 – 7

Manganese Oxides and Gold Nanoparticles toward Water Oxidation

Mohammad Mahdi Najafpour, Seyedeh Maedeh Hosseini, Małgorzata Hołyńska, Tatsuya Tomo, Suleyman I. Allakhverdiev

Nanostructured Manganese Oxide on Carbon

Mohammad Mahdi Najafpour, Saeideh Salimi, Małgorzata Hołyńska, Tatsuya Tomo, Suleyman I. Allakhverdiev

Energy Transfer in *Halomicronema hongdechloris* – Cyanobacterium Containing Chlorophyll *f*

Seiji Akimoto, Toshiyuki Shinoda, Min Chen, Tatsuya Tomo and Suleyman I. Allakhverdiev

Энергетическая эффективность производства биомассы мискантуса китайского на серых лесных почвах южного Подмосковья

Булаткин Г. А., Гурьев И. Д.

Обзор последних достижений в области искусственного фотосинтеза

Волошин Р. А., Жармухамедов С. К., Креславский В. Д., Бедбенов В. С., Аллахвердиев С. И.

Запасание энергии в биомассе микроводорослей *Chlamydomonas reinhardtii* и ее вовлечение в интегрированную систему получения водорода и других возможных компонентов

Гавришева А. И., Семина В. И., Цыганков А. А.

Гибридные структуры из поликатионных фталоцианинов алюминия и квантовых точек
Гвоздев Д. А., Максимов Е. Г., Страховская М. Г., Пашенко В. З.

Диффузионно-контролируемый режим функционирования процесса
 фотофосфорилирования в условиях *in vitro*
Карташов И. М., Опанасенко В. К., Мальян А. Н.

Академик Елена Николаевна Кондратьева: к 90-летию со дня рождения
 Колотилова Н. Н.

Участие фотоиндукционных процессов в дистанционных взаимодействиях хлоропластов
 в клетках харовой водоросли
Комарова А. В., Булычев А. А.

Мутанты *Chlamydomonas reinhardtii* как суперпродуценты биологически ценных
 продуктов для фотобиотехнологии
 Ладыгин В. Г.

Получение стабильной бинарной культуры *Rhodobacter sphaeroides*
 и *Clostridium butyricum*, разлагающей полисахариды на свету
Лауринавичене Т., Шастик Е.

Эффективность фотосинтетического превращения энергии зелёными водорослями
Chlorella vulgaris в присутствии наноакваелатов селена
Михайленко Н. Ф., Шевченко Ю. В., Золотарёва Е. К.

Накопление токоферолов в клетках *Euglena gracilis* при миксотрофном культивировании
Мокросноп В. М., Золотарева Е. К.

Влияние кислотных дождей на ультраструктуру и функциональные характеристики
 фотосинтетического аппарата листьев гороха
Полищук А. В., Водка М. В., Бежавская Н. А., Хомочкин А. П., Золотарева Е. К.

Ближне-инфракрасный однодоменный флуоресцентный белок на основе бактериального
 фитохрома
Румянцев К. А., Щербакова Д. М., Захарова Н. И., Верхуша В. В., Туроверов К. К.

Фотосинтезирующие бактерии – продуценты антагонистов эндотоксинов
Серов Д. А., Радзюкевич Я. В., Прохоренко И. Р.

Структурные и функциональные особенности фотосинтетического аппарата
 хлорофиллосодержащих тканей виноградной лозы
Тихонов К. Г., Христин М. С., Сундырева М. А., Креславский В. Д., Савченко Т. В.

Выращивание микроводорослей с повышенным содержанием липидов: подходы к оценке
 энергоэффективности
Чернова Н. И., Киселева С. В.

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ КОНФЕРЕНЦИИ

Low pH INDUCED CHANGES IN THYLAKOID MEMBRANES

Anjana Jajoo

School of Life Science, Devi Ahilya University, Indore, INDIA

The increase in 77 K fluorescence of PSI and quenching of PSII fluorescence upon exposure of isolated thylakoid to low pH is not caused by state transitions as evident from the observation that similar change was observed also in the *stn7* kinase mutants. On the contrary, the pH induced change in the PSI/PSII ratio was found to be absent in *npq4* mutants, providing evidence that PsbS dependent NPQ is involved in regulating energy distribution between the two photosystems. Zeaxanthin is likely not involved in qE changes induced by pH. No major change by different pH treatments occurred in the thylakoid membrane protein composition of WT or any of the mutants. As to the 77 K fluorescence excitation spectra, the change in pH was shown to cause similar changes in the absorption cross section of both the photosystems. This indicates that pH does not affect the attachment of the LHC system with the photosystems as such, but simply enhances the spillover of energy between the two photosystems. Low pH may lead to isolation of LHCII system from PSII and PSI and concomitantly enhanced direct interaction between PSII and PSI (spillover). An enhanced cyclic electron flow around PS I also supports this contention.

ORIGIN AND EVOLUTION OF PSI IN CYANOBACTERIA AND CHLOROPLASTS

Barry D. Bruce

Departments of Microbiology & Biochemistry and Cellular and Molecular Biology
University of Tennessee at Knoxville

Photosystem I (PSI) is a reaction center associated with oxygenic photosynthesis. Unlike the monomeric reaction centers in green and purple bacteria, PSI forms trimeric complexes in most cyanobacteria. This oligomer has 3-fold rotational symmetry and is stabilized via interactions between adjacent PsaL subunits. However, upon endosymbiosis the organization of PSI in plants/algae became exclusively monomeric. In this study, we discovered a tetrameric form of PSI in the thermophilic cyanobacterium *Chroococcidiopsis* sp TS-821. In TS-821, PSI forms only tetrameric and dimeric species. To investigate why TS-821 forms tetramers instead of trimers, we cloned and analyzed its *psaL* gene. Interestingly, this gene product contains a short insert between the second and third predicted transmembrane helices. Based on both *psaL* and 16S rRNA sequence analysis TS-821 is quite closely related to the heterocyst-forming cyanobacteria. We have now extended this biochemical analysis of the PSI tetramer to ~40 different cyanobacteria. This tetrameric symmetry is quite widespread in heterocyst-forming cyanobacteria. This close relationship is discussed in light of chloroplast evolution, and we propose that PSI evolved stepwise from a trimeric form to tetrameric oligomer en route to becoming monomeric in plants/algae.

MANGANESE OXIDES AND GOLD NANOPARTICLES TOWARD WATER OXIDATION

Mohammad Mahdi Najafpour^{1,2,*}, Seyedeh Maedeh Hosseini¹, Malgorzata Holyńska³,
Tatsuya Tomo⁴, Suleyman I. Allakhverdiev^{5,6,7,*}

1 – Department of Chemistry, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS),
Zanjan, 45137-66731, Iran

2 – Center of Climate Change and Global Warming, Institute for Advanced Studies in
Basic Sciences (IASBS), Zanjan, 45137-66731, Iran

3 – Fachbereich Chemie und Wissenschaftliches Zentrum für Materialwissenschaften
(WZMW), Philipps-Universität Marburg, Hans-Meerwein-Straße, D-35032 Marburg,
Germany

4 – Department of Biology, Faculty of Science, Tokyo University of Science, Kagurazaka 1-3,
Shinjuku-ku, Tokyo 162-8601, Japan

5 – Controlled Photobiosynthesis Laboratory, Institute of Plant Physiology, Russian
Academy of Sciences, Botanicheskaya Street 35, Moscow 127276, Russia

6 – Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences, Pushchino,
Moscow Region 142290, Russia

7 – Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State
University, Leninskie Gory 1-12, Moscow 119991, Russia

*Corresponding Authors: mmnajafpour@iasbs.ac.ir; suleyman.allakhverdiev@gmail.com

Electrocatalytic water splitting into hydrogen and oxygen on an industrial scale is an important key strategy for energy storage [1]. Hydrogen is a very versatile energy carrier that can release energy in a number of different ways such as direct combustion, catalytic combustion, steam production and fuel cell operations. The energy for water splitting can be obtained from wind, solar, or hydro sources. However, water oxidation is a bottleneck for water splitting [2]. Among different compounds [3], Mn oxides are highly attractive as catalysts for water oxidation.

We synthesized manganese oxides supported on gold nanoparticles (diameter <100 nm) by the reaction of KMnO_4 under hydrothermal condition. In this green method, Mn oxide is placed on the gold nanoparticles. The compounds were characterized by scanning electron microscopy, energy dispersive spectrometry, high resolution transmission electron microscopy, X-ray diffraction, UV-Vis spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, and atomic absorption spectroscopy. In the next step, the water-oxidizing activities of these compounds in the presence of cerium (IV) ammonium nitrate as a non-oxo transfer oxidant was studied. The results show that these compounds are good catalysts toward water oxidation. A comparison with other previously reported Mn oxides and important factors influencing the water-oxidizing activities of Mn oxides are also discussed.

MMN is grateful to the Institute for Advanced Studies in Basic Sciences, and the National Elite Foundation for financial support. This work was supported also by grant from Russian Science Foundation (No: 14-14-00039) to SIA.

[1] Bockris JOM (2002) The origin of ideas on a Hydrogen Economy and its solution to the decay of the environment. *Int J Hydrogen Energy* 27:731-740

[2] Nocera DG (2012) The artificial leaf. *Acc Chem Res* 45:767-776

[3] Singh A, Spiccia L (2013) Water oxidation catalysts based on abundant 1st row transition metals. *Coord Chem Rev* 257:2607-2622

NANOSTRUCTURED MANGANESE OXIDE ON CARBON

Mohammad Mahdi Najafpour^{1,2,*}, Saeideh Salimi¹, Malgorzata Holyńska³, Tatsuya Tomo⁴,
Suleyman I. Allakhverdiev^{5,6,7,*}

1 – Department of Chemistry, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanjan, 45137-66731, Iran

2 – Center of Climate Change and Global Warming, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanjan, 45137-66731, Iran

3 – Fachbereich Chemie und Wissenschaftliches Zentrum für Materialwissenschaften (WZMW), Philipps-Universität Marburg, Hans-Meerwein-Straße, D-35032 Marburg, Germany

4 – Department of Biology, Faculty of Science, Tokyo University of Science, Kagurazaka 1-3, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8601, Japan

5 – Controlled Photobiosynthesis Laboratory, Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya Street 35, Moscow 127276, Russia

6 – Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region 142290, Russia

7 – Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1-12, Moscow 119991, Russia

*Corresponding Authors: mmnajafpour@iasbs.ac.ir; suleyman.allakhverdiev@gmail.com

Nature uses sunlight to oxidize water and reduce carbon dioxide. Inspired by Nature, artificial photosynthesis can be designed to capture light, oxidize water, and reduce protons or organic compounds to generate useful chemical fuels [1,2]. Thus, in artificial photosynthetic systems, water oxidation is a key and a bottleneck reaction to generate cheap electrons [1,2]. The finding of an efficient, cheap and thus environmentally friendly water-oxidizing compound is highly desirable [3]. Herein we report that nano-sized Mn oxide/carbon aerogel is a good catalyst toward water oxidation. The composite was synthesized by a simple, low-cost procedure with different ratio of carbon aerogel and Mn oxide, and characterized by different methods. Then, the water-oxidizing activity of this composite was considered in the presence of cerium (IV) ammonium nitrate. The composites with high ratio of Mn oxide to carbon aerogel are good Mn-based catalysts with turnover frequencies of ~0.33 (mmol O₂/mol Mn·s). In addition to the water-oxidizing activities of these composites under different conditions, their self-healing reaction in the presence of cerium (IV) ammonium nitrate was also studied.

MMN is grateful to the Institute for Advanced Studies in Basic Sciences, and the National Elite Foundation for financial support. This work was supported also by grant from Russian Science Foundation (No: 14-14-00039) to SIA.

[1] Bockris JOM (1977) Energy-the solar hydrogen alternative, Wiley & Sons, New York

[2] Kanan MW, D.G. Nocera (2008) Science, 321: 1072

[3] Najafpour MM, Allakhverdiev SI (2012) Int. J. Hydrogen Energy, 37: 8753

ENERGY TRANSFER IN *HALOMICRONEMA HONGDECHLORIS* – CYANOBACTERIUM CONTAINING CHLOROPHYLL *f*

Seiji Akimoto^{1,2}, Toshiyuki Shinoda³, Min Chen⁴, Tatsuya Tomo³
and Suleyman I. Allakhverdiev^{5,6,7,8,*}

1 – Molecular Photoscience Research Center, Kobe University, Kobe 657-8501, Japan;

2 – CREST, Japan Science and Technology Agency (JST), Kobe 657-8501, Japan;

3 – Faculty of Science, Tokyo University of Science, Tokyo 162-8601 Japan;

4 – School of Biological Sciences, The University of Sydney, Sydney, New South Wales 2006, Australia;

5 – Institute of Plant Physiology, RAS, Moscow 127276, Russia;

6 – Institute of Basic Biological Problems, RAS, Pushchino, Moscow Region 142290, Russia;

7 – Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia;

8 – Department of New Biology, Daegu Gyeongbuk Institute of Science & Technology (DGIST), Daegu, Republic of Korea

* Corresponding Author: suleyman.allakhverdiev@gmail.com

Chlorophylls (Chls) are photosynthetic pigments, which function in light-harvesting, energy-transfer, and electron-transfer processes. Recently, Chen et al. found the Chl *f*-containing cyanobacterium *Halomicronema hongdechloris* [1]. Chl *f* has the chemical structure of [2-formyl]-Chl *a*, and its absorption maximum of the Q_y band is red-shifted compared to those of Chl *a* and Chl *d* by ~40 nm and ~10 nm, respectively. The Chl content of *H. hongdechloris* varies with a change in the quality of the cultivation light; the Chl *f* content is negligible when *H. hongdechloris* cells are grown under white light, but comprises 10–12.5% of the total Chl under far-red light (>700 nm) [1]. In the present study, we prepared thylakoid membranes from *H. hongdechloris* cells grown under white fluorescent lamp or far-red light-emitting diodes (740 nm). In order to reveal energy-transfer processes involving Chl *f*, we examined differences in energy transfer in these two kinds of thylakoid membranes, by using steady-state and time-resolved fluorescence spectroscopies.

This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education of Japan (21570038 to T.T., 22370017 to TT and SA, and 23370013 to SA), MC holds an Australian Research Council Future Fellowship, and MC thanks the Australian Research Council for support. SIA was supported by grants from the Russian Science Foundation (No: 14-14-00039).

[1] M. Chen, M. Schliep, R.D. Willows, Z.L. Cai, B.A. Neilan, H. Scheer, Science 329 (2010) 1318.

**МЕХАНИЗМЫ ПОДАВЛЕНИЯ ТРИПЛЕТНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕРВИЧНОГО ДОНОРА
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ**
Suppression mechanisms of the photosynthetic reaction center primary donor triplet state

Алисова И. В., Проскуряков И. И.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
 e-mail: alisovairina86@gmail.com; тел: +7 4967 73-28-80, факс: +7 4967 33-05-32

Возбуждение реакционных центров (РЦ) с ненулевой вероятностью может приводить к заселению триплетного состояния молекулы первичного донора электрона (3P) и последующему образованию синглетного возбужденного состояния кислорода. Для предотвращения такого потенциально деструктивного процесса природа часто применяет каротиноиды, которые быстро тушат 3P , переводя его энергию в тепло. В случае РЦ фотосистемы 2 такой способ не применим, поскольку будет сопровождаться возникновением паразитных каналов переноса электрона. Тем не менее, в РЦ ФС2 функционируют пока неизвестные механизмы эффективного тушения 3P в случае прерывания функционального переноса электрона при однократном восстановлении первичного акцептора Q_A [1]. При двукратном восстановлении первичного акцептора такие механизмы не работают, что приводит к разрушению РЦ.

Детальное изучение указанных механизмов в случае РЦ ФС2 технически затруднительно, поскольку они проявляются при температурах 10–70К и требуют применения дорогостоящего жидкого гелия. Однако качественно близкая зависимость тушения 3P от степени восстановления Q_A наблюдается также и в РЦ пурпурных бактерий, где она проявляется в диапазоне температур жидкого азота. С использованием бактериальных РЦ с однократно восстановленным или удаленным Q_A мы провели изучение температурных зависимостей скорости дезактивации 3P от температуры и влияние на этот параметр магнитного поля диапазона 0–600 Гс. Ранее было показано [2], что в РЦ с удаленным первичным акцептором магнитное поле вызывает замедление дезактивации 3P . Это согласуется с предположением об обратном заселении состояния радикальной пары и ее рекомбинации с возбуждением состояния $^1P^*$. Такой процесс в нулевом поле вызывает ускорение дезактивации 3P в отсутствие молекул-тушителей триплетов. Мы обнаружили, что в РЦ с однократно восстановленным Q_A наложение магнитного поля вызывает противоположный эффект – ускорение дезактивации триплетов Р. Была проверена и опровергнута гипотеза, что данная зависимость связана с образованием, в отличие от случая с удаленным акцептором, трехспинового состояния с участием первичного донора, бактериофеофитина и железо-хинонного комплекса. В докладе обсуждаются другие возможные механизмы ускорения дезактивации 3P в подобных РЦ и в фотосистеме 2.

Авторы выражают благодарность фонду РНФ (грант 14-14-00535) за финансовую поддержку работы.

1. Feikema W.O.; Gast P.; Klenina I.B.; Proskuryakov I.I. // BBA. 2005, v. 1709, 105–112
2. Chidsey C.E.D., Takiff L., Goldstein R.A., Boxer S.G. // PNAS. 1985, v. 82, 6850–6854

**СВОЙСТВА АНТЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ ПУРПУРНЫХ СЕРНЫХ
ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ СО ВСТРОЕННЫМ СФЕРОИДЕНОМ**
**The properties of antenna complexes of the purple sulfur photosynthetic bacteria with
incorporated spheroiden**

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

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
 e-mail: AshikhminAA@gmail.com; тел: +7 4967 73-18-49, факс: +7 4967 33-05-32

В клетках пурпурных серных бактерий *Allochrochromatium (Alc.) minutissimum* и *Ectothiorhodospira (Ect.) haloalkaliphila* ингибировали биосинтез каротиноидов дифениламином (ДФА). ДФА-мембраны из этих клеток были использованы для встраивания общего каротиноидного экстракта с содержанием сфероидена около 90% из пурпурной несерной бактерии *Rhodobacter (Rba.) sphaeroides*.

Из ДФА-мембран после добавления экстракта были выделены модифицированные ДФА-комплексы LH1-RC^{Кар+} и LH2^{Кар+}. По данным ВЭЖХ установлено, что основным каротиноидом в них является сфероиден, и его содержание в разных типах антенных комплексов варьирует от 73 до 90%. Проведено сравнение ряда характеристик (поглощение, КД, флуоресценция, возбуждение флуоресценции, термостабильность) модифицированных и контрольных комплексов. Установлено, что в комплексах со встроенным сфероиденом: (1) восстанавливаются спектры поглощения в каротиноидной области; (2) появляется оптическая активность каротиноидов; (3) восстанавливается перенос энергии от каротиноидов к БХл; (4) повышается термостабильность. В совокупности все это указывает на корректное встраивание каротиноидов в структуру пигмент-белковых комплексов.

Изучен процесс фотоокисления БХл800 и БХл850 в комплексах LH2 со встроенным сфероиденом и контрольных комплексах при их облучении сине-зеленым светом. Показано, что в комплексе LH2^{Кар+} из *Alc. minutissimum* и *Ect. haloalkaliphila* происходит фотоокисление БХл800 и БХл850 на 30–35 и 70–75%, соответственно. В контрольных комплексах LH2 из *Alc. minutissimum* и *Ect. haloalkaliphila* (с полным набором каротиноидов) выцветала только полоса БХл850 на 50–60%. Облучение сине-зеленым светом контрольного комплекса LH2 со сфероиденом из *Rba. sphaeroides* не вызывает изменений в его спектре поглощения в ближней ИК области, что может быть связано с особенностями структуры этого комплекса. Таким образом, установлено, что сфероиден является более активным каротиноидом в процессе фотоокисления БХл850 в комплексах LH2 по сравнению с родопином, ангидрододовибрином и спириллоксантином, которые присутствуют в контрольных комплексах *in vivo*.

Работа поддержана РФФИ (13-04-01184а, 15-04-02660а) и грантом президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ НШ-4771.2014.4.

**СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СВИНЦА И ТЕМПЕРАТУРЫ НА РАЗВИТИЕ
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ЛИСТЯХ *PLANTAGO MAJOR* L.
Combined effects of lead and temperature on the oxidative stress development in
Plantago major L. leaves**

Балахнина Т. И.¹, Фомина И. Р.^{1,2}

1 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Московская
Область, 142290, Россия

2 – Biosphere Systems International Foundation, Tucson, Arizona, USA

e-mail: tbalakhnina@rambler.ru; тел: + 7 4967 73-29-88; факс: + 7 4967 33-05-32

В полевых условиях растения часто подвергаются колебаниям температуры. Допоговые низкие или высокие температуры, как правило, не вызывают необратимые повреждения фотосинтетического аппарата растений, но могут влиять на интенсивность и направленность целого ряда метаболических процессов и на развитие окислительного стресса, в том числе. В неблагоприятных экологических условиях влияние температурного режима может быть особенно выраженным.

Целью данной работы было исследование действия 150, 450 и 900 мкМ Рb в инкубационной среде при 20°C (оптимальная температура для выбранного объекта, подорожник большой *Plantago major* L.) и при 28°C (умеренно-повышенная летняя температура) на накопления свинца и величину устьичного сопротивления (rs) в листьях и на развитие в них окислительного стресса. Интенсивность перекисных процессов оценивали по содержанию тиобарбитуровой кислоты реагирующих продуктов (ТБКРп), а антиоксидантный потенциал по активности ферментов аскорбат-глутатионного цикла – аскорбатпероксидазы (АсП) и глутатионредуктазы (ГР).

В эксперименте использовали растения из естественной среды произрастания с пятью полностью сформированными листьями. Образцы извлекали из почвы и после тщательного отмывания корней от субстрата и корневой слизи адаптировали в 50% Hoagland водном растворе при температуре 20°C, 12-ч фотопериоде и освещенности 950 мкЕ м⁻² с⁻¹ в течение 3 суток. Затем условия культивирования дифференцировали на следующие варианты: (20°C+0 мкМРb), (20°C+150 мкМРb), (20°C+450 мкМРb), (20°C+900 мкМРb), (28°C+0 мкМРb), (28°C+150 мкМРb), (28°C+450 мкМРb), (28°C+900 мкМРb). Реакцию растений оценивали через 2, 24, 48 и 72 ч от начала эксперимента.

Концентрация свинца в листьях растений подорожника возрастала с увеличением содержания Рb в среде и времени инкубации, и была выше при температуре 20°C, чем при 28°C. Накопление свинца в тканях листа сопровождалось увеличением устьичного сопротивления (rs), коррелирующим со снижением скорости фотосинтеза. При всех вариантах обработки растений свинцом значения rs были выше при 28°C, по сравнению с 20°C. Содержание ТБКРп увеличивалось в присутствии свинца в среде инкубации уже через 2 ч эксперимента. Наиболее высокое содержание ТБКРп было в растениях, обработанных 900 мкМ Рb при 28°C. Повышение АсП активности происходило через 24 ч от начала эксперимента, наибольшее (более 50%) – при 28°C; при 20°C увеличение АсП активности в ответ на действие свинца было менее выраженным. Возрастание активности ГР наблюдали на более поздних этапах развития окислительного стресса, а именно через 72 ч инкубации в растворе свинца.

Таким образом, негативные последствия действия свинца на листья подорожника усиливаются в условиях повышенной температуры, особенно на начальных стадиях развития стресса.

**ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ И ИНГИБИРОВАНИЯ БИОСИНТЕЗА
КАРОТИНОИДОВ НА СБОРКУ РАЗНЫХ ТИПОВ ПЕРИФЕРИЙНОГО КОМПЛЕКСА LH2
ПУРПУРНОЙ СЕРНОЙ БАКТЕРИИ *ALLOCHROMATIUM VINOSUM*
Influence of the light intensity and the inhibition of carotenoid biosynthesis on the
assembly of different types of the peripheral LH2 complex of the purple sulfur bacterium
*Allochrochromatium vinosum***

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

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: lfbv22@gmail.com; тел: +7 4967 73-18-49, факс: +7 4967 33-05-32

Клетки пурпурной серной бактерии *Allochrochromatium (Alc.) vinosum* выращивали при освещении 500 и 1200 люкс (контроль и в присутствии ингибитора биосинтеза каротиноидов – дифениламина, ДФА).

Установлено, что при низкой интенсивности освещения собираются комплексы В800-820 и В800-840, а при высокой – комплекс В800-850. Отмечено, что в первом случае увеличивается синтез периферической светособирающей антенны (комплексов В800-820 и В800-840) и уменьшается синтез комплекса LH1-RC.

В ДФА-комплексе В800-850 удалось снизить содержание каротиноидов до ~23%, а в ДФА-комплексах В800-820 и В800-840 до ~40%. Таким образом, на один комплекс LH2 приходится 2–5 молекул каротиноидов. Методом ВЭЖХ установлено, что в ряду контрольных комплексов В800-820 → В800-840 → В800-850 постепенно увеличивается содержание каротиноидов с большим числом сопряженных двойных связей (СДС): ангидрородовин (12 СДС), дидегидрородопин (12 СДС), спириллоксантин (13 СДС). Содержание каротиноидов с меньшим количеством СДС: родопин (11 СДС) и ликопин (11 СДС) уменьшается. В ДФА-комплексах появились каротиноиды из ранних этапов биосинтеза: ОН-ζ-каротин, ОН-нейроспорин и ζ-каротин, а также некоторые производные сфероидена. Эти каротиноиды не обнаруживаются в контрольных комплексах LH2 и, вероятно, являются побочными продуктами биосинтеза.

Изучен процесс фотоокисления БХл в выделенных комплексах LH2 при освещении сине-зеленым светом. За 30 минут освещения контрольных комплексов В800-850, В800-840 и В800-820 длинноволновая полоса поглощения БХл уменьшилась на 72, 38 и 27%, соответственно. Данный процесс сопровождался образованием окисленного БХл – 3-ацетилхлорофилла. В ДФА-комплексе В800-850 в течение этого же промежутка времени поглощение БХл-850 уменьшилось на 48%, что в 1,5 раза меньше чем в контроле. При этом в ДФА-комплексах В800-820 и В800-840 интенсивность полосы БХл-820 и БХл-840 уменьшалась даже быстрее чем в контрольном комплексе В800-850. Это связано с присутствием в комплексах В800-820 и В800-840 более коротковолновых форм каротиноидов.

Работа поддержана РФФИ (13-04-01184а, 15-04-02660а) и грантом президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ НШ-4771.2014.4.

РОЛЬ РЕАКЦИИ МЕЛЕРА И АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К ПОВЫШЕННОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ
Role of the Mehler reaction and reactive oxygen species in plants adaptation to high light conditions

Борисова-Мубаракшина М. М., Ветошкина Д. В., Любимов В. Ю., Федорчук Т. П., Найдов И. А., Козулева М. А., Руденко Н. Н., Иванов Б. Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН
 e-mail: mubarakshinamm@gmail.com; тел: +7 4967 73-24-48, факс: +7 4967 33-05-32

Одним из важнейших путей электронного транспорта в фотосинтетической электрон-транспортной цепи является перенос электронов на кислород – реакция Мелера. В результате восстановления молекул O_2 образуются активные формы кислорода, такие как супероксидный радикал и пероксид водорода (H_2O_2). В наших работах было показано, что при высокой интенсивности света вклад пула пластохинона в образование H_2O_2 превышает вклад фотосистемы 1. Пластохинон – это липофильный переносчик электронов в электрон-транспортной цепи, и H_2O_2 с участием пула пластохинона образуется в тилакоидной мембране в реакции между молекулами супероксидного радикала и молекулами пластогидроксинона. Пластогидроксинон, таким образом, является частью антиоксидантной системы, защищая тилакоидную мембрану и компоненты электрон-транспортной цепи от повреждающего действия супероксидного радикала. Кроме того, пул пластохинона можно рассматривать в качестве источника H_2O_2 , как сигнальной молекулы.

Установлено, что окислительно-восстановительное состояние пула пластохинона регулирует размер антенного светособирающего комплекса фотосистемы 2 (ССК2). При длительной, более трех дней, повышенной освещенности растений на фоне увеличения уровня восстановления пула пластохинона происходит уменьшение размера ССК2. До сих пор оставалась невыясненной молекулярная природа сигнала, поступающего из пула пластохинона и инициирующего эти адаптационные изменения. Нами было предположено, что сигналом об окислительно-восстановительном состоянии пула пластохинона могут служить молекулы H_2O_2 , образованные с участием компонентов этого пула, как описано выше.

Было проведено исследование взаимосвязи окислительно-восстановительного состояния пула пластохинона, размера ССК2 и количества пероксида водорода в листьях растений ячменя. Было обнаружено, что повышение освещенности растений в условиях понижения уровня H_2O_2 в листьях путем их инкубации в среде в присутствии каталазы, фермента, разлагающего пероксид водорода, не приводило к уменьшению размера ССК2, наблюдаемого в отсутствие каталазы. Напротив, увеличение количества пероксида водорода в листьях приводило к уменьшению размера ССК2 при низкой интенсивности света. Уменьшение размера ССК2 под действием H_2O_2 происходило за счет подавления транскрипционного или пост-транскрипционного этапа биосинтеза периферических белков Lhcb1, Lhcb2, Lhcb3 и Lhcb6. Изменений в биосинтезе других белков ССК2, таких как Lhcb4 и Lhcb5, которые не участвуют в регулировании размера ССК2, при повышении концентрации пероксида водорода в листьях не наблюдалось.

Полученные данные свидетельствуют, что именно молекулы H_2O_2 обеспечивают связь между окислительно-восстановительным состоянием пула пластохинона и размером ССК2 при повышении освещенности растений.

СРАВНЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕХНОЛОГИЙ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ МИСКАНТУСА КИТАЙСКОГО В УСЛОВИЯХ ЦФО РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Булаткин Г. А., Митенко Г. В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, Россия
 e-mail: sadovod@rambler.ru, +7 4967 73-17-83

Использование растительной биомассы и продуктов её переработки в энергетических целях получает всё большее развитие во многих странах. При производстве альтернативного углеводородом топлива (АТ) в первую очередь должна ставиться задача получения дополнительной энергии, то есть сверх затрат технической энергии для производства энергоносителя. Для оценки энергетической эффективности производства АТ используем соотношение энергии, содержащейся в АТ с энергией, затраченной на его получение.

В ИФПБ РАН разработаны и энергетически оценены пять модельных технологий выращивания перспективной энергетической культуры мискантуса китайского (*Miscanthus sinensis* Anders.) или китайского камыша, который на протяжении 15–20 лет может продуцировать на одном месте.

Исследуемые технологии различаются по плотности насаждений, степени механизации, способам борьбы с сорняками, методам полива. Предусмотрено внесение каждые 2 года минеральных удобрений в дозе N90P60K40. Анализ энергетических потоков показал, что на закладку плантации и уход в течение первых двух лет требуются большие энергетические вложения (с учётом содержания энергии в посадочном материале), величина которых различается в 2 раза в зависимости от технологий. Наименьшие затраты (38376 МДж/га) были при механизированной редкой посадке, 3-х кратном поливе ДДА-100М и обработке гербицидами. Ежегодные энергозатраты превышают амортизационные отчисления только в 1,8–2,8 раза. В целом технологии производства мискантуса в ЦФО показывают высокую энергетическую эффективность (отношение полученной энергии в урожае к затратам технической энергии на его выращивание). При урожае 225 ц/га надземной биомассы (90 ц/га сухого вещества) и амортизации энергозатрат на закладку плантации в течение 15 лет энергетическая эффективность выращивания мискантуса находилась в пределах 16,5–19,2.

При анализе потоков энергии в агроэкосистемах необходимо учитывать не только прямые и косвенные затраты энергоресурсов на производство культуры, но затраты на восстановление плодородия почвы, так как возделывание различных культур по-разному влияет на компоненты почвенного плодородия. Наши исследования показали, что энергетическая эффективность выращивания мискантуса в 1,9 раза выше, чем кукурузы на силос при одной и той же продуктивности надземной биомассы. Это связано не только с меньшими вложениями технической энергии на выращивание и уборку мискантуса, но и с большими затратами на восстановление почвенного плодородия после возделывания кукурузы, оказывающее отрицательное влияние на почву, в том числе потери почв с эрозией, вымывание питательных веществ особенно на склонах. Посадки мискантуса уже через 2–3 года после закладки плантации образуют на поверхности почвы сплошной покров из корневищ, что предотвращает всякое перемещение почвенного материала. В связи с этим мискантус может быть экологически и энергетически эффективен при закреплении эродированных почв, а так же пылящих отвалов горнодобывающей промышленности, обогатительных фабрик и т.д. Проведение натурных исследований в конкретных почвенно-климатических условиях даст возможность оценить фактическую эффективность этой культуры и её влияние на компоненты агроэкосистем.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДСТВА БИОМАССЫ МИСКАНТУСА КИТАЙСКОГО НА СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВАХ ЮЖНОГО ПОДМОСКОВЬЯ

Булаткин Г. А., Гурьев И. Д.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, Россия
e-mail: sadovod@rambler.ru, +74967731783

Использование биологической продукции многолетних трав занимает значительное место в современной альтернативной энергетике. Сырьём для этой энергетике служит материал растительного и животного происхождения: стебли и листья растений, древесная стружка, солома и т.д. Изучение преобразования энергии важно для понимания состояния всей биосферы, отдельных её частей и промышленного производства.

Нами на серых лесных почвах южного Подмосквья проведены исследования в многолетнем микрополевым опыте с мискантусом китайским (*Miscanthus sinensis* Anders.) Закладка плантации произведена весной 7 мая 2012 г методом посадок делёных корневищ. Предусмотрены два варианта: 1 – контроль (без удобрений) и 2 – с внесением минеральных удобрений при закладке в дозе $N_{120}P_{100}K_{100}$. Посадка проведена по схеме 20*60 см. Проводился полив плантации по мере необходимости. В течении вегетационных периодов осуществлялся уход за посадками, фенологические и метеорологические наблюдения, изучалась структура урожая. Уборка урожая надземной биомассы проводилась в осенний период, перед наступлением заморозков. Погодные условия существенно различались. В среднем за три года урожай надземной биомассы на варианте без удобрений составил 8,8 т/га сухого вещества, а при внесении удобрений составил – 9,4 т/га. С увеличением возраста плантации доля стеблей в общей надземной биомассе повышалась. Был изучен сравнительный температурный режим почвы под мискантусом и яровой пшеницей. Исследования показали, что резко засушливый период 2014 г. в агроэкосистеме мискантуса существенно снижается температура почвы как на поверхности, так и на глубинах 5 и 20 см. Новые условия возделывания мискантуса китайского на территории серых-лесных почв потребовали оценки биологической продуктивности и разработки предварительной технологии возделывания культуры, которые могут применяться на практике.

Результаты последнего года исследования показали высокую продуктивность мискантуса китайского несмотря на экстремальные погодные условия. В условиях аномально высокой температуры за период вегетации растение благоприятно влияет на температурный режим почвы, снижая перегрев до глубины 40 см, что благоприятно сказывается на почвенной биоте по сравнению с однолетними зерновыми культурами.

САЙТ-НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ БАКТЕРИАЛЬНОГО РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Васильева Л. Г.¹, Фуфина Ф. Ю.¹, Леонова М. М.¹, Габдулхаков А. Г.², Хатыпов Р. А.¹, Шувалов В. А.¹

1 – Институт фундаментальных проблем биологии
2 – Институт белка, г. Пущино, Россия
e-mail: vsyulya@mail.ru, Тел: (4967)73-26-80

Фотосинтетический реакционный центр (РЦ) пурпурных бактерий относится к тому же типу РЦ, что и фотосистема 2 растений. РЦ *Rba. sphaeroides* состоит из трех белковых субъединиц (L, M и H) и десяти кофакторов, образующих две пространственно симметричные ветви (A и B). Первичный донор электронов, димер Р, состоит из двух экситонно-сопряженных молекул бактериохлорофилла (БХл) P_A и P_B и является общим для обеих ветвей. Каждая из ветвей содержит также мономерные БХл (V_A или V_B), бактериофеофитины (БФео) (H_A или H_B) и хиноны (Q_A или Q_B). Квантовый выход первичного процесса разделения зарядов в РЦ близок к единице при всех температурах. Такая высочайшая эффективность фотобиологического процесса достигается путем тонкой регулировки свойств кофакторов через их взаимодействия друг с другом и с окружающим белком. Работа посвящена исследованиям пигмент-белковых взаимодействий в бактериальных РЦ с помощью генетических, биохимических и спектральных методов.

Фотофизические и окислительно-восстановительные свойства бактериохлорофиллов РЦ в значительной степени определяются их белковым окружением за счет образования нековалентных связей: координационных, водородных, электростатических и более слабых взаимодействий. Во всех известных бактериальных РЦ центральный атом магния всех четырех бактериохлорофиллов 5-координирован, лигандами со стороны белка выступают гистидины, расположенные с α -стороны БХл перпендикулярно плоскости макроцикла. С помощью сайт-направленного мутагенеза нами получены РЦ, в которых мономерный БХл V_B становится 6-координирован или его лиганд переносится с α -стороны на β -сторону макроцикла. Показано также, что гистидиновые лиганды бактериохлорофиллов специальной пары могут быть перемещены на один виток белковой спирали и располагаться под острым углом к макроциклу. Такое перемещение приводит к значительному коротковолновому сдвигу полосы поглощения Q_y Р, свидетельствующему об изменении экситонных взаимодействий внутри димера БХл. В РЦ I(L177)H в результате одиночной мутации происходит ковалентное связывание БХл P_A с белком. На основе структуры этого РЦ, полученной с разрешением 2.5 Å, построены модели изменения пигмент-белковых взаимодействий. Сделано предположение о природе ковалентной связи «БХл-белок».

Работа поддержана Программой МКБ, грантами РФФИ (13-04-01148а, 12-04-00332, 13-04-40297-Н) и ИШ-4771.2014.4.

ОСОБЕННОСТИ ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ОБРАЗОВАНИЯ ВОДОРОДА ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛЮ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТКА МАГНИЯ

Волгушева А. А., Антал Т. К., Кукарских Г. П., Лаврухина О. Г., Кренделева Т. Е.

Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: volgusheva@biophys.msu.ru; тел.: +7 495 939-19-63

Недостаток в среде таких макроэлементов как сера, азот, и фосфор индуцирует ряд специфических изменений метаболизма в зеленых микроводорослях, способствуя установлению анаэробных условий в биореакторе, индукции гидрогеназы и длительному выделению водорода на свету [1, 2]. Основными механизмами, обуславливающими фотообразование H_2 , являются снижение содержания и активности ФС2, деградация Рубиско и других ферментов цикла Кальвина, а также накопление значительных запасов крахмала и переход ФА в состоянии 2. Несмотря на низкую активность ФС2 в анаэробной фазе голодания, ФС2 является основным донором электронов для гидрогеназы и выделение H_2 является результатом биофотоллиза воды. Разработанный нами метод индукции магниевого (Mg) голодания позволил значительно оптимизировать процесс фотообразования водорода в основном за счет увеличения продолжительности периода выделения H_2 (до 250 ч) по сравнению с другими типами голодания. Существенным отличием Mg голодания является сохранение высокой активности ФС2 (~60% от контрольного уровня) в течение анаэробной фазы голодания. Высокая устойчивость к фотодеструкции обусловлена, по-видимому, значительным уменьшением антенны ФС2 (отношение хлорофилла *a/b* увеличивалось на 40%) и высокой скоростью дыхания (выше вдвое). При Mg голодании наблюдали значительно более быстрое расхождение крахмала по сравнению с голоданием по сере. Отсутствие Mg значительно изменяет структуру фотосинтетического аппарата и первичные процессы фотосинтеза. У голодающих по Mg клеток *C. reinhardtii* происходят существенные изменения в перераспределении потоков энергии и активация альтернативных электрон-транспортных путей. Увеличение выхода флуоресценции (Ft, Fm и Fm') указывает на нарушение путей диссипации поглощенной энергии в РЦ ФС2. В голодающих клетках снижается количество активных РЦ, о чем свидетельствует уменьшение параметра F_v/F_m . Происходит также уменьшение скорости электронного транспорта (ETR) и фотохимического тушения флуоресценции (qP) рассчитанных из световых кривых. Анализ светоиндуцированных изменений редокс состояний P_{700} показал, что в голодающих клетках ФС1 находится в более восстановленном состоянии по сравнению с контролем, что указывает на увеличение восстановленности акцепторной стороны ФС1. Полученные данные свидетельствуют об увеличении вклада циклического транспорта электронов вокруг ФС1. Растет также скорость хлородыхания, которое является безопасным способом утилизации избытка восстановителя в хлоропласте. Переход ФСА в состояние 2, способствует снижению скорости фотоингибирования. Данные изменения выполняют фотозащитную функцию, направленную на повышение жизнеспособности клетки в условиях переизбытка восстановительных эквивалентов в ЭТЦ при голодании.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 14-04-00302 и РФФИ 15-54-78014

1. Philipps G., Happe T., Hemschemeier A. // *Planta*. 2011, V.4, 729–745
2. Batyrova K. A., Tsygankov A. A., Kosourov S. N. // *International Journal of Hydrogen Energy*. 2012, V. 37, 8834–8839

ОБЗОР ПОСЛЕДНИХ ДОСТИЖЕНИЙ В ОБЛАСТИ ИСКУССТВЕННОГО ФОТОСИНТЕЗА A review of recent advances in artificial photosynthesis

Волошин Р. А.¹, Жармухамедов С. К.², Креславский В. Д.^{1,2}, Бедбенев В. С.¹, Аллаhverдиев С. И.^{1,2}

1 – Институт физиологии растений РАН, ул. Ботаническая, 35, г. Москва, 127276, Россия.
2 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: voloshinra@gmail.com; Тел.: 7 (499) 977-93-72

Возрастающий дефицит источников ископаемого топлива и загрязнение окружающей среды побуждает современное общество к использованию возобновляемых источников энергии. Наиболее доступным источником энергии на поверхности земли является солнечный свет и вода. Энергии солнечного света, достигающего земли, достаточно, чтобы покрывать энергетические потребности экономики. Использование фотоэлементов на основе полупроводников не способно обеспечить экономику дешевой и экологически безопасной энергией. Необходима разработка новых фотопреобразователей.

КПД преобразования энергии в первичных процессах фотосинтеза близок к 100%. В случае окислительного фотосинтеза донором электронов и протонов служит вода, а неиссякаемым источником энергии – солнечное излучение. Поэтому фотосинтез как эффективный и экологический способ преобразования энергии привлекает исследователей и конструкторов альтернативных энергетических установок. В данной работе рассматриваются разные типы солнечных ячеек, на основе компонентов фотосинтетического аппарата. Солнечные ячейки используются для преобразования энергии солнечного излучения в электричество или топливо. В настоящее время существует множество разных видов фотопреобразователей.

Фотоэлементы на основе конечного продукта преобразования можно разделить на два типа – регенеративные и фотосинтетические.

Регенеративные ячейки генерируют на свету электрический ток. К последним достижениям в конструировании регенеративных солнечных ячеек относится создание преобразователей на основе препаратов тилакоидных мембран, фотосистем 1 и 2 (ФС-1 и ФС-2), целых клеток цианобактерий, осажженных на наноструктурированном электроде (золотые наночастицы, углеродные нанотрубки, наночастицы ZnO и TiO₂). На сегодняшний день, в этой области наилучшими считаются следующие показатели: плотность тока 362 мкА/см² и плотность потока энергии 81 мВт/см² при использовании ФС-1.

Фотосинтетические ячейки – это биотехнические устройства, которые преобразуют энергию солнечного излучения в определенный вид топлива (например, молекулярный водород). К последним достижениям в этой области относят топливные ячейки на основе комплексов фотосистемы I сопряженных с гидрогеназами.

Использование хлорофиллов Chl *d* и Chl *f*, поглощающих в дальней красной и ближней инфракрасной области спектра (в области 700–750 нм), в отличие от более распространенных Chl *a* и Chl *b*, также позволит увеличить эффективность таких систем.

Исследования в области искусственного фотосинтеза направлены на разработку экологически безопасных, высокоэффективных, нанобиомолекулярных устройств, моделирующих фотосинтез, которые могли бы запастись солнечную энергию в той форме, которая удобна экономике (например, производить водород) исключительно за счет солнечного излучения. Использование систем, имитирующих работу фотосинтетического аппарата и элементов фотосинтезирующих систем в генераторах тока и топливных элементах, является чрезвычайно перспективным и нуждается в интенсивном развитии.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант 14-14-00039).

ДЕЙСТВИЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ И НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ЗОЛОТА НА ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛИ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA*

Габбасова Д. Т.¹, Протопопов Ф. Ф.¹, Заядан Б. К.²

1 – Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, ул. Ленинские горы, д. 1, Москва, 119234, Россия
e-mail: dilara.gt@yandex.ru; тел: +7 925 446-14-18

2 – Факультет биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени Аль-Фараби, Казахстан, 50035, Алматы, мик-н 8, кв. 16,
e-mail: zbolatkhan@mail.ru; тел: +7(727)249 62 04

Вопросы потенциальных рисков при развитии нанотехнологий представляется первостепенной задачей. При изготовлении различных товаров, в том числе и медицинских препаратов, все шире используют металлические наночастицы серебра (AgNPs) и наночастицы золота. Целью данной работы явилось отработка методики токсикологического эксперимента с регистрацией основных параметров флуоресценции для систем, содержащих наночастицы серебра и золота и растворенные формы гуминовых веществ из почв, и выявление наиболее информативных показателей оценки состояния клеток при токсическом воздействии наноматериалов. Изучено влияние гуминовых и фульвокислот из чернозема и дерново-подзолистых почв на токсикологический эффект наночастиц серебра.

В качестве материала для исследований выбраны водоросль *Scenedesmus quadricauda*, выращенные на среде Успенского. Измерения флуоресцентных показателей водорослей проводили на приборе Aqua-Pen (Photon Systems Instruments, Czech Republic [1,2]. В опытах использовали препарат наночастиц серебра 15 нм (Sigma-Aldrich) и наночастицы золота (10 нм), синтезированные в МГУ по методу Туркевича. Из чернозема в Курской области выделены препараты гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК).

Виден токсический эффект наночастиц серебра и защитное действие гуминовых веществ. Обнаружено, что в концентрации 50 мг/л гуминовые кислоты из обеих исследованных почв проявляли защитный эффект. Однако препарат ФК из черноземных почв (SFA-CtK04) в этих же концентрациях оказывал меньшее защитное действие. Проанализировано влияние наночастиц серебра и золота на кинетику индукции флуоресценции, т.е. O-J-I-P переходы [1,3]. На индукционных кривых флуоресценции микроводорослей отмечено защитное действие некоторых гуминовых кислот к действию наночастиц золота.

Предлагается использовать параметры индукционных кривых быстрой флуоресценции для раннего обнаружения в среде наночастиц серебра и золота и в присутствии гуминовых кислот и фульвокислот. Впервые показано защитное действие гуминовых веществ в отношении токсического эффекта наночастиц серебра и золота на микроводоросли.

1. Маторин Д.Н., Рубин А.Б. Флуоресценция хлорофилла высушенных растений и водорослей. – М. –Ижевск: ИКИ-РХД, 2012. – 256 с.

2. Matorin D.N., Osipov V.A., Seifullina N.Kh., Zayadan B.K., Rubin A.B. // Chlorophyll fluorescence changes as an indicator of nanomaterials toxic effects on natural phytoplankton. Water: chemistry, ecology. 2012, V. 1, 74 –78.

3. Matorin D. N., Todorenko D.A., Seifullina N. Kh., Zayadan B.K., Rubin A. B. // Effect of silver nanoparticles on the parameters of chlorophyll fluorescence and P700 reaction in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Microbiology. 2013, V. 82(6). 862-867.

ЗАПАСАНИЕ ЭНЕРГИИ В БИОМАССЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* И ЕЕ ВОВЛЕЧЕНИЕ В ИНТЕГРИРОВАННУЮ СИСТЕМУ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДОРОДА И ДРУГИХ ВОЗМОЖНЫХ КОМПОНЕНТОВ

Гавришова А. И.¹, Семина В. И.², Цыганков А. А.¹

1 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: larisa_nastya@mail.ru

2 – ООО «Экопроект», г. Мытищи, 141000, Россия

Сегодня в мире разрабатывается значительное количество различных технологий использования биомассы в качестве энергетических или сырьевых источников [1]. Поиски новых нетрадиционных источников сырья для возобновляемой энергетики выдвигают в разряд перспективных источников биомассу микроводорослей и цианобактерий, которая может быть переработана с получением различных видов биотоплив [2].

Цель работы – воспроизвести интегрированную систему получения водорода, включающую синтез биомассы автотрофных водорослей за счет энергии света, ферментацию биомассы с получением водорода и последующее потребление органических кислот, образовавшихся при ферментации, пурпурной несерной бактерией.

В данной работе на этапе синтеза биомассы автотрофных водорослей показано, что эффективность запасаения энергии в биомассе составляла в оптимальных условиях около 5% как при выращивании *C. reinhardtii*, так и при выращивании хлореллы.

На следующем этапе интегрированной системы нам удалось преобразовать ферментативно биомассу водорослей *C. reinhardtii* в молочную кислоту, ацетат и водород. Для этого потребовалось предварительно обработать биомассу *C. reinhardtii* методом кислотного гидролиза. Темновая ферментация биомассы прошла по пути гетероферментативного молочнокислого брожения, в результате которого произошло образование водорода (0,17 мМ Н₂/г сух. биомассы), лактата (1,1 мМ/г сух. биомассы) и ацетата (0,6 мМ/г сух. биомассы).

На третьем этапе нами была осуществлена фотоферментация продуктов ферментации биомассы *C. reinhardtii*. Полученные результаты показали, что *R. sphaeroides* №7 может расти на ферментационной жидкости (после доведения pH), одновременно потребляя органические компоненты. Нитрогеназная активность (выделение Н₂) была ингибирована высоким содержанием аммония и связанного азота в ферментационной жидкости. Поэтому выделения водорода не наблюдали. Обсуждаются возможные варианты улучшения третьей фазы (фотоферментации) для увеличения выделения водорода и другие стратегии использования данной интегрированной системы для получения ценных продуктов.

1. Варфоломеев С.Д., Ефременко Е.Н., Крылова Л.П. Биотоплива // Успехи химии. 2010. Т. 79, No 6. С. 544–564.

2. Sialve B., Bernet N., Bernard O. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable // Biotechnol. Adv. 2009. Vol. 27, No. 4. P. 409–416.

ГИБРИДНЫЕ СТРУКТУРЫ ИЗ ПОЛИКАТИОННЫХ ФТАЛОЦИАНИНОВ АЛЮМИНИЯ И КВАНТОВЫХ ТОЧЕК

Гвоздев Д. А.¹, Максимов Е. Г.¹, Страховская М. Г.^{1,2}, Пашенко В. З.¹

1 – Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: danil131054@mail.ru; тел: +79853079421

2 – Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Ореховый бульвар, 28, Москва, 115682, Россия

Фталоцианины (ФЦ) являются одними из наиболее распространенных фотосенсибилизаторов, применяемых в настоящее время в фотодинамической терапии рака. Эти соединения имеют большие коэффициенты экстинкции (более $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) в красной области спектра и обладают высокими квантовыми выходами генерации активных форм кислорода (АФК), в первую очередь, синглетного кислорода, что и определяет их фототоксические свойства.

С целью повышения эффективности фотосенсибилизации разрабатываются новые подходы к фотодинамической терапии, начиная от модификации химической структуры ФЦ, его заряда, спектральных характеристик и заканчивая синтезом многомодульных транспортирующих систем для направленной доставки ФС к клеткам-мишеням. Кроме того, усиления фотодеструктивного эффекта фотосенсибилизатора можно добиться, модифицируя не только структурные, но и оптические свойства молекул ФЦ. Например, увеличение эффективного сечения поглощения фталоцианинов может приводить к усилению генерации ими синглетного кислорода. Для решения данной задачи многообещающим направлением может оказаться создание гибридных структур, состоящих из ФЦ и дополнительного светосборщика (антенны). В качестве таких дополнительных антенн могут выступать полупроводниковые нанокристаллы – квантовые точки (КТ), которые характеризуются широким спектром поглощения, а положение максимума флуоресценции зависит от размера ядра, который определяется условиями синтеза наночастиц. Дополнительное покрытие CdSe/ZnS ядра КТ органической полимерной оболочкой обеспечивает водорастворимость, а наличие функциональных групп ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$ и др.) позволяет создавать гибридные мезоскопические структуры.

В данной работе нами продемонстрированы возможности создания гибридных структур из CdSe/ZnS квантовых точек и поликатионных фталоцианинов алюминия в растворах. Показано, что в водных растворах за счет электростатических взаимодействий КТ и ФЦ происходит самосборка гибридных комплексов. Установлено, что в таких структурах происходит высокоэффективный перенос энергии от КТ к фталоцианинам, обеспечивающий увеличение эффективного сечения поглощения ФЦ в ультрафиолетовой и видимой частях спектра. Показано, что использование КТ в качестве дополнительной антенны для ФЦ позволяет значительно, до 500%, увеличить интенсивность флуоресценции ФЦ и до 350% увеличить скорость фотосенсибилизированной генерации синглетного кислорода.

ПРОИЗВОДНЫЕ ПРИРОДНОГО БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА *a*. РЕТРОСПЕКТИВА ИССЛЕДОВАНИЙ ПОСЛЕДНИХ 15 ЛЕТ

Грин М. А., Миронов А. Ф.

Московский государственный университет тонких химических технологий им. М. В. Ломоносова, пр. Вернадского, 86, Москва, 19571, Россия
e-mail: michael_grin@mail.ru; тел. +7 495 936-98-01

Выбор природного бактериохлорофилла *a* (Бхл *a*) в качестве лидерного соединения для создания новых фотосенсибилизаторов (ФС) обусловлен рядом причин, главная из которых – интенсивное поглощение в ближней ИК-области спектра (760–830 нм), открывающее новые возможности для диагностики и лечения глубокозалегающих и пигментированных опухолей.

Целью настоящей работы явилось создание устойчивых производных Бхл *a* с улучшенными спектральными характеристиками, повышенной гидрофильностью и обладающих значительной тропностью к опухолям. Структура Бхл *a* позволяет химически модифицировать молекулу пигмента с целью присоединения к нему борных кластеров, биологически активных молекул, включая липоевую кислоту, цистеамин и цистамин, молекул красителей различной природы, а также для иммобилизации ФС на наночастицы золота.

В рамках данного исследования были получены бактериоаминоамиды, биологические испытания которых показали высокую фотоиндуцированную активность в отношении клеток человека различного эпителиального происхождения (A549 и HEp2) при наномолярных концентрациях и дозозависимую противоопухолевую эффективность на модели опухоли животных S37. Изучение фототоксичности конъюгата, содержащего бактериохлорин, связанный с бис(дикарболлидом) кобальта, показало, что полученный ФС по значениям ИК₅₀ и ИК₉₀ для клеток глиобластомы в 4–6 раз превосходит аналогичный хлоринный конъюгат, исследованный нами ранее. Бактериопурпуринимид с остатком липоевой кислоты, иммобилизованный на наночастицах (ФС-Au), в экспериментах на крысах с саркомой M-1 длительно циркулировал в кровотоке и имел повышенную тропность к опухоли за счет экстравазации наночастиц, нагруженных пигментом, из дефектных сосудов опухоли.

На основе бактериоаминоамида и дикарбоиндоцианинового красителя Су 5.5 впервые получен конъюгат, фотофизические свойства которого делают его потенциально пригодным для использования в ФДТ ИФД опухолей. Изучение биологической эффективности в гомологическом ряду диалкоксибактериопурпуринимидов, обладающих высокой стабильностью и поглощением в области 800 нм, позволило определить наиболее перспективный ФС, представляющий собой метиловый эфир О-пропилоксима N-пропоксибактериопурпуринимида. ФДТ с использованием данного препарата обеспечивает высокую фотоиндуцированную противоопухолевую активность в системе *in vitro* и *in vivo*, 100%-ное торможение роста опухоли (LLC) и 90% излеченность животных за счет селективного накопления в опухоли и быстрого выведения из организма.

**СОСТОЯНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА И ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНОВ
В ФСII ЗИМНЕЗЕЛЕННЫХ ЛИСТЬЕВ *AJUGA REPTANS*
The state of photosynthetic apparatus and electron transport in PSII of wintergreen leaves
of *Ajuga reptans***

Дымова О. В.¹, Христин М. С.², Захожий И. Г.¹, Головко Т. К.¹

¹ – ФГБУН Институт биологии Коми научного центра УрО РАН,
Коммунистическая ул., 28, Сыктывкар, 167982, Россия;
e-mail: dymovao@ib.komisc.ru; тел: +7 8212 24-96-87

² – ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино
Московской области, Россия; e-mail: khristin_@rambler.ru

В сезонном климате фотосинтетический аппарат (ФСА) вечнозеленых растений претерпевает существенные структурные перестройки и функциональные изменения, обусловленные адаптацией к неблагоприятному периоду года. Наиболее полно эти процессы исследованы у хвойных видов [1, 2]. Сведения, касающиеся травянистых растений, зимующих под снежным покровом, практически отсутствуют. Целью работы было изучить состояние пигмент-белковых комплексов (ПБК) фотосистем хлоропластов (ХЛП) и транспорт электронов в ФСII зимнезеленых листьев *Ajuga reptans* L. (живучки ползучей) для оценки физиологического состояния ФСА растений.

Изучены изменения потенциальной фотохимической активности ФСII в зимнезеленых листьях длительновегетирующего вида *A. reptans*. Установлено, что величина максимального квантового выхода ФСII ($F_v/F_m = (F_m - F_o) / F_m$) составляла 0.62 при наступлении отрицательных температур в октябре, и восстанавливалась до 0.77 в ХЛП перезимовавших листьев (май). Выявлены значительные изменения интенсивности реализации энергии светового потока в процессе электронного транспорта. Показано, что скорость транспорта электронов в ЭТЦ ХЛП в октябре не превышала 85 мкмоль/м²с, и достигала 150 мкмоль/м²с в ранневесенний период. Падение величины максимального квантового выхода в предзимний период было обусловлено снижением F_m – максимальной флуоресценции хлорофилла и может свидетельствовать о деструктивных изменениях в реакционных центрах ФСII ХЛП. В осенний период (конец ноября) в ХЛП был отмечен распад мега комплекса FSI+FSII+ССКII на димер ССКII и мономер FSI [3]. С установлением к середине декабря устойчивых отрицательных температур в ХЛП происходили разрушение хлорофиллов (на 25–30%), конверсия виолаксантина в зеаксантин, и последующая диссоциация крупных агрегатов ПБК на мономерные комплексы. Обнаружена полоса, предположительно указывающая на наличие хлорофилл-связывающего белка PsbS (22кДа-белок ФСII), который может участвовать в нефотохимическом тушении. Весной ХЛП перезимовавших листьев, способных к фотосинтезу, содержали сохранившиеся хлорофиллы и каротиноиды, и мономер ССКII ФСII. Показано функционирование зеаксантин-зависимого защитного механизма, что важно для сохранения ФСА в ранневесенний период при сочетании низкой температуры и высокой инсоляции. Весенняя активация первичных процессов фотосинтеза свидетельствует о работе эффективных физиологических механизмов репарации ФСА хлоропластов.

1. Головко ТК, Яцко ЯН, Дымова ОВ. // Хвойные бореальной зоны, 2013, т.31, 73-78.

2. Софронова ВЕ, Чепалов ВА, Дымова ОВ, Головко ТК. // Физиология растений, 2014. т.61, 266-274.

3. Dymova O, Khristin M, Golovko T. // Photosynthetic pigments – chemical structure, biological function and ecology. 2014, Syktvkar: Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 237-251.

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МУТАНТОВ *RHODOBACTER SPHAEROIDES*,
НЕ СИНТЕЗИРУЮЩИХ ПЕРИФЕРИЙНОЙ АНТЕННЫ**

Ельцова З. А., Цыганков А. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, ул. Институтская, д. 2, Пушкино, Московской обл., 142290, Россия.
e-mail: z.eltsova@gmail.com, тел. (4967) 732791

Пурпурные несерные бактерии способны расти в самых разных условиях и утилизировать широкий спектр органических субстратов. В анаэробных условиях на свету при недостатке азота эти микроорганизмы способны выделять водород со скоростями, близкими к практически значимым, используя при этом органические кислоты из сточных вод. Существует ряд ограничений, которые не позволяют использовать биоводород для нужд промышленности уже сегодня. Чтобы увеличить скорость выделения водорода бактериями, возможны два подхода: увеличение скорости выделения водорода одной клеткой и увеличение количества клеток в единице объема. Вместе с тем, увеличение количества фотосинтезирующих клеток в единице объема при концентрации выше 2–3 г/л приводит к самозатенению клеток и их переходу из лимитирования азотом к лимитированию светом, что снижает скорость выделения водорода. Использование мутантных штаммов с пониженным содержанием пигментов может позволить увеличить плотность биомассы в фотобиореакторе (ФБР) без эффекта самозатенения клеток.

Целью настоящей работы явилась сравнение особенностей роста родительских штаммов *Rba. sphaeroides* и их мутантов, лишенных периферийной антенны и выделения ими водорода.

Обнаружено, что мутанты обладают меньшей поглощающей способностью при одинаковой концентрации клеток по сравнению с родительскими штаммами. При этом они обладали той же скоростью роста, что и родительские штаммы при выращивании на лактате, сукцинате или смеси лактата и ацетата. Насыщающие интенсивности света для роста у них также совпадали, причем зависели от используемого органического субстрата. Природный штамм изменял содержание бактериохлорофилла а в клетках в зависимости от интенсивности света при выращивании в широких пределах (4,0–16,0 мг БХл а/г СВ). Мутанты также были способны несколько увеличивать содержание бактериохлорофилла при лимитирующих интенсивностях света однако в значительно меньшем диапазоне (1,0–8,0 мг БХл а/г СВ). Это увеличение содержания бактериохлорофилла а в мутантных штаммах происходило, видимо, за счет увеличения количества реакционных центров с коровой антенной.

Как родительские штаммы, так и мутанты, были способны к выделению водорода в анаэробных условиях на свету, причем при низкой концентрации клеток (0.3–0.4 г/л) родительские штаммы выделяли водород с большей объемной скоростью, чем мутанты, а при содержании клеток 1,0 г/л наоборот, мутанты выделяли водород с большей скоростью. При этом насыщающая интенсивность света для выделения водорода родительскими штаммами составляла 10 Вт/м², тогда как насыщающая интенсивность света мутантами не достигалась и при 2000 Вт/м².

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ФИКОБИЛИСОМ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Зленко Д. В.¹, Красильников П. М.¹, Стадничук И. Н.²

¹ – Каф. биофизики биол. ф-та МГУ. Москва. Ленинские горы. 1/24.
e-mail: dvzlenko@gmail.com

² – Институт биохимии РАН. Москва. Ленинский пр-т, 33. e-mail: stadnichuk@mail.ru

Светособирающая часть фотосинтетического аппарата цианобактерий представлена фикобилисомами (ФБС). Это крупные, связанные с мембраной тилакоидов пигмент-белковые комплексы массой ~3–7 МДа [1]. Обычно ФБС состоят из трёхцилиндрового ядра, образованного тримерами аллофиокцианина (АФЦ), и шести боковых цилиндров, образованных фикоцианином и фикоэритрином.

Структура ФБС исследована лишь в общих чертах [1,2] вследствие отсутствия кристаллических структур целых ФБС. Однако сравнительный анализ кристаллов АФЦ позволяет полностью восстановить структуру ядра ФБС. АФЦ образует тримеры α/β -гетеродимеров, они имеют форму вогнуто-выпуклой линзы и образуют прямые и инвертированные гексамеры, контактируя выпуклыми или вогнутыми сторонами, соответственно. Существует 5 кристаллов АФЦ. В структуре 1ALL (*Arthrospira platensis*) содержатся инвертированные гексамеры, упакованные в плоские слои. В кристалле 1KN1 (*Porphyra yezoensis*) прямые гексамеры также располагаются плоскими слоями, но их укладка отличается от таковой в кристалле 1ALL. Кристалл 4FOU (*Synechococcus elongatus*) содержит прямые гексамеры, не собранные в слои, и мало интересен. В структуре 1B33 (*Mastigocladus laminosus*) нет гексамеров, но разрешены концевые линкерные белки ApcC (LC_{7,8}). Кристалл 2V8A (*Thermosynechococcus elongatus*) не содержит гексамеров, а тримеры уложены в плоские слои аналогично кристаллу 1ALL. Учитывая, что с торцами ядерных цилиндров АФЦ связан белок LC_{7,8}, занимающий вогнутую поверхность тримера (1B33), можно заключить, что каждый из трёх цилиндров ядра ФБС содержит в середине прямой гексамер, к выпуклым сторонам которого по бокам примыкают дополнительные тримеры. Иначе говоря, цилиндр можно представить как два прижатых друг к другу инвертированных гексамеров. Взаимное расположение прямых гексамеров, находящихся в середине цилиндров, однозначно задано кристаллом 1KN1, а строение инвертированных гексамеров – кристаллом 1ALL. Комбинируя эти данные, в нашей работе мы восстановили структуру ядра ФБС.

В полученной модели белки не пересекаются, а первый слой тримеров в точности совпадает с третьим (как и второй с четвёртым), несмотря на комбинирование данных из разных кристаллов. Последнее связано с тем, что углы взаимного разворота тримеров в прямых и инвертированных гексамерах совпадают по модулю и имеют различные знаки. Полученная структура обладает выраженной осевой поляризацией, заключающейся в неодинаковой упаковке тримеров в соседних слоях. Как следствие, поляризованным оказывается также и положение РВ доменов белка LCM. При этом закристаллизованные по отдельности REP-домены белка LCM (3ONW и 3OSJ), удерживающие вместе цилиндры ядра ФБС, по форме, размеру и количеству идеально соответствуют полостям на поверхности полученной модели. Это позволило разместить REP-домены в структуре ядра ФБС с учётом длины соединяющих их петель.

Геометрия полученной модели очень хорошо согласуется с данными электронной микроскопии [2] не только с точки зрения взаимного расположения и ориентации цилиндров, но также с точки зрения локализации петель.

1. Watanabe M. and Ikeuchi M. // Photosynth. Res. 116, 2013. 265–276.

2. Arteni A., Ajlani G., and Boekema E. // BBA. 1787, 2009. 272–279.

РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ЭФИРНОГО МАСЛА В РАСТЕНИЯХ БАЗИЛИКА В СВЕТОКУЛЬТУРЕ НА ОСНОВЕ СВЕТОИСПУСКАЮЩИХ ДИОДОВ

Иваницких А. С., Тараканов И. Г.

Факультет агрономии и биотехнологии ФГОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», ул. Тимирязевская, 49, Москва, 127550, Россия
e-mail: alinena@yandex.ru, тел.: +789165062094

Мы изучаем возможность регуляции в растениях базилика эвгенольного *Ocimum basilicum* биосинтеза целевых веществ, включая эфирные масла, в зависимости от светового режима выращивания при варьировании спектрального состава света. Наиболее перспективными облучателями с этой точки зрения являются светоиспускающие диоды (СИД). Растения выращиваются в почвенной культуре в вегетационных сосудах в контролируемых условиях Лаборатории искусственного климата РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева с использованием СИД с излучением в красной и синей области, белых светодиодов и натриевых ламп высокого давления (НЛВД) в качестве стандарта. Световые режимы: красный свет, синий и красный, белый свет; фотопериод 18 ч, плотность потока фотонов 160–170 мкмоль/м²·с. Качественное и количественное определение компонентов эфирного масла проводили методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-селективным детектированием при использовании метода внутреннего стандарта.

При выращивании растений базилика в вариантах освещения под НЛВД и СИД белые наблюдалось накопление наибольшей биомассы растений. Листья растений *Ocimum basilicum* содержат эфирные масла (1%) в состав которых входят линалол, пинен, эвгенол, камфора, цинеол и другие компоненты. Накопление компонентов эфирных масел в онтогенезе за период наблюдений (до 65–70 дней от всходов) зависит не только от спектрального состава света, но и сопряжено с переходом растений базилика к генеративному развитию. На начальных этапах роста и развития растений, в первую половину вегетации, существенных различий в накоплении эфирных масел и их качественном составе не выявлено. Наиболее ранний резкий подъем содержания компонентов эфирных масел в онтогенезе наблюдали у растений базилика, выращиваемых под НЛВД, что, очевидно, связано с быстрым переходом растений к генеративному развитию в этом варианте выращивания; вместе с тем, уже через 4–5 дней наблюдалось увеличение содержания компонентов эфирного масла (более чем на 15% по сравнению с НЛВД) в варианте с белыми СИД, также связанное с переходом растений к бутонизации в данном варианте. У сорта Лимонный аромат (Herb), под лампами НЛВД, СИД белые, СИД красно-синие в период наблюдений в качестве основных компонентов эфирного масла выявляли цитраль и в несколько меньшем количестве карвеол. А в варианте выращивания под СИД красными на всем протяжении наблюдений обнаруживали в количествах, близких по содержанию к цитралю и карвеолу – эстрагол. При выращивании растений краснолистных сортов Ред рубин (Jonsons) и Фиолетовый (Гавриш) максимальное накопление хлорофиллов *a* и *b*, антоцианов, β -каротина, ксантофилов наблюдали в варианте выращивания с СИД с излучением в красной и синей области. Содержание антоцианов во всех вариантах выращивания растений базилика с СИД было значительно выше, чем в варианте выращивания с НЛВД.

Влияние нокаута генов At2g28210 и At4g20990, кодирующих карбоангидразы α -2 и α -4, на показатели фотосинтеза растений *ARABIDOPSIS THALIANA*

Игнатова Л. К., Журикова Е. М., Иванов Б. Н.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: lkign@rambler.ru; тел.: +7 4967 73-24-48

В хлоропласте, кроме известной с 40-х годов прошлого столетия весьма значительной по количеству белка β -карбоангидразы 1 (β -КА1), обнаружены α -КА1 (в строме), β -КА5 и α -КА4 в тилакоидных мембранах (название КА приводится по номенклатуре [1]). С другой стороны, исследовательские группы в разных странах мира обнаруживают присутствие КА в двух местах пигмент-белкового комплекса фотосистемы 2 (ФС2), одной вблизи комплекса фотосистемы 1 и одной в люменальном пространстве тилакоидов. Наличие столь значительного количества фермента в органелле, осуществляющей фотосинтез, свидетельствует об участии КА в этом процессе, однако, механизм этого участия неизвестен.

Местонахождение α -КА2 в растениях неизвестно, однако, экспрессия гена At2g28210 возрастала при выращивании растений при пониженной концентрации CO_2 [1]. Вес растений, мутантных по α -КА2 был на 30% ниже, чем у дикого типа (ДТ), а у растений, мутантных по α -КА4 выше на 20%, чем у ДТ. Особенностью мутантных по α -КА4 растений являлось повышенное в 2–3 раза содержание крахмала, тогда как у мутантов по α -КА2 содержание крахмала ниже, чем у ДТ.

С помощью РАМ флуориметрии на листьях целых растений при разной освещенности (100 и 500 мкмоль квантов/м²с) и разных концентрациях углекислоты (100, 800 и 1500 ppm) были оценены компоненты нефотохимического тушения флуоресценции (НФТ), отражающие величину подкисления люмена на свету (qE), состояние светособирающего комплекса ФС2 (qT) и фотоингибирование (qI). Нокаутные мутанты по α -КА2 имели по сравнению с ДТ более низкий квантовый выход ФС2 при освещении низким и высоким светом при всех используемых концентрациях CO_2 . Квантовый выход фотосинтеза при освещении светом высокой интенсивности у мутантных по α -КА4 растений был ниже, чем у ДТ при низкой концентрации CO_2 , близким с ДТ при повышенной и превышал ДТ при сверхвысоких концентрациях CO_2 . Коэффициент НФТ был выше у мутанта по α -КА2 на 30–40%, чем у ДТ за счет компонента qE в отличие от мутантов по α -КА4 у которых значение коэффициента НФТ при высоких концентрациях CO_2 было ниже, чем у ДТ также за счет компонента qE. Компоненты qT и qI практически не отличались от ДТ у обоих мутантов.

При длительной (6 часов) инкубации растений при высокой интенсивности света (550 мкмоль квантов/м²с) более устойчивыми к действию света оказались мутанты по α -КА2, чем по α -КА4. Изменение важных показателей фотосинтеза у мутантных по α -КА2 растений свидетельствует что фермент расположен в хлоропласте. По-видимому, эта КА способствует использованию протонов люмена для конверсии бикарбоната в CO_2 . Предполагается, что α -КА4 участвует в активации НФТ, ускоряя протонирование необходимых для этого компонентов.

I. Fabre N., Reiter I., Becuwe-Linka N., Genty B., Rumeau D. // Plant, Cell and Environment, 2007, v. 30, 617–629

**Гибридные структуры из квантовых точек и аллофикоцианина
Hybrid structures of quantum dots and allophycocyanin**

Карпулевич А. А.^{1,*}, Максимов Е. Г.¹, Случанко Н. Н.², Пашенко В. З.¹

1 – Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия

* e-mail: tesoromia@mail.ru; тел: +7 916 133 27 66

2 – Институт биохимии им. Баха РАН, Ленинский проспект, д. 33, стр.2, Москва, 119071, Россия

Квантовые точки (КТ) – это полупроводниковые наночастицы, обладающие уникальными оптическими свойствами. В настоящее время в приложении к биологическим объектам квантовые точки используются в основном как альтернатива органическим флуорофорам, то есть в качестве флуоресцентной метки, например, в медицинской диагностике. В то же время сравнительно мало работ по созданию гибридных структур типа КТ-белок. Например, квантовые точки могут выполнять роль искусственных антенн для фотосинтетических пигмент-белковых комплексов (ПБК). Такие гибридные структуры могут в перспективе стать элементарными ячейками для преобразования солнечной энергии.

В качестве модельной системы для исследования переноса энергии между КТ и белком использовали CdSe/ZnS КТ с максимумом флуоресценции 620 нм, водорастворимые за счет функциональных оболочек с карбоксильными группами, и белок аллофикоцианин (Sigma Aldrich). Исследование проводилось с помощью методов флуориметрии, стационарной спектроскопии и спектроскопии высокого временного разрешения.

Установлено, что в гибридных системах миграция энергии между квантовыми точками и аллофикоцианином может осуществляться безызлучательно, по механизму Ферстера. В присутствии белка наблюдали тушение (сокращение времени жизни и снижение интенсивности) флуоресценции КТ (донор энергии) и увеличение интенсивности флуоресценции аллофикоцианина (акцептор энергии). Эффективность миграции энергии и коэффициент усиления оценивали по спектрам возбуждения флуоресценции. В гибридных системах наблюдали усиление интенсивности флуоресценции белка для области возбуждающего света, которая соответствовала области поглощения КТ. Титрование квантовой точки белком в растворе позволило определить, что наибольший вклад в снижение интенсивности флуоресценции донора вносит динамическое тушение. В экспериментах оценивали влияние температуры, pH и хаотропных агентов на гибридные структуры, образованные за счет электростатических взаимодействий. Кроме того, были определены оптимальные условия для синтеза ковалентно связанных гибридных комплексов. Показана стабильность гибридных систем в течение нескольких дней после синтеза. Рассчитаны интегралы перекрывания спектров поглощения акцептора и флуоресценции донора, радиус Ферстера составил 60 Å, эффективность миграции энергии достигала 90%. Анализ структуры аллофикоцианина (IALL, PDB) позволил выявить аминокислотные остатки доступные для взаимодействия с функциональными группами КТ. Полученные результаты исследования модельных систем показывают перспективность создания прочно связанных гибридных структур, например, в качестве флуоресцентного маркера на основе аллофикоцианина.

ДИФфуЗИОННО-КОНТРОЛИРУЕМЫЙ РЕЖИМ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПРОЦЕССА ФОТОФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Карташов И. М., Опанасенко В. К., Мальян А. Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, 142290, Россия
e-mail: A_Malyan@issp.serpukhov.su, тел: +7 4967 73-17-38

Выяснение молекулярного механизма фотосинтеза и его саморегуляции необходимо для сознательного управления жизнедеятельностью и продуктивностью растений (Красновский А. А., 1984 ; Рубин А. Б., 1998 ; Тихонов А. Н., 2012). При исследовании физиолого-биохимических процессов фотосинтеза редко обращают внимание на диффузионные ограничения суммарной скорости реакции. В то же время эти ограничения возникают, когда каталитическая активность ферментов выше чем скорость поступления субстратов (Шноль С. Э., 1973, 1979).

В данной работе приведен анализ возможности функционирования процесса фотофосфорилирования в диффузионно-контролируемом режиме в условиях *in vitro*. Из анализа следует, что скорость синтеза АТФ можно изменить:

- повышением концентрации АДР в среде (Stroop S.D., Boyer P.D., 1985, Boyer P.D., 1993)
- предварительной адсорбцией АДР тилакоидными мембранами (Карташов И. М., Макаров А. Д., Мальян А. Н., 1973).
- гипотонической обработкой хлоропластов (Affalo C. and Shavit N., 1983)
- подключением АТФ потребляющего фермента (гексокиназа плюс глюкоза) (Affalo C. and Shavit N., 1984)
- добавкой аденилаткиназы (фосфорильного провода) (Карташов И.М., 2009, 2010)
- вязкостью реакционной среды (Карташов И. М., Опанасенко В. К., Мальян А. Н., 2015).

Эти экспериментальные данные свидетельствуют о возможности диффузионно-контролируемого и саморегулируемого режима функционирования процесса фотофосфорилирования.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Клементьев К. Е.¹, Максимов Е. Г.¹, Цораев Г. В.¹, Еланская И. В.², Спасский А. В.³, Пашенко В. З.¹

¹ – кафедра биофизики, Биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия,
e-mail: klementyevke@gmail.com

² – кафедра генетики, Биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

³ – отдел ядерных и космических исследований, Научно-исследовательский институт ядерной физики имени Д. В. Скобельцына, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Необходимость моделирования поведения биологических объектов в условиях повышенной радиации и ослабленного геомагнитного поля обусловлена тем, что экипаж и биологические объекты на борту дальнего пилотируемого космического корабля или на лунной базе длительное время будут находиться в межпланетном магнитном поле, которое более чем в 10^3 раз слабее геомагнитного. Потоки космических лучей вне геомагнитного поля также будут повышенными. Известно, что воздействие даже незначительно пониженного магнитного поля приводит, как правило, к неблагоприятному влиянию на жизнедеятельность биологических объектов, хотя механизм этого воздействия изучен слабо.

В настоящей работе представлены результаты влияния условий космического полета на цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 (далее *Synechocystis*). Для моделирования условий полета использовали циклотрон У-120 НИИЯФ МГУ, позволяющий получать ускоренные ядра гелия с энергией 30.3 МэВ для облучения биообъектов *in vivo*. Для ослабления геомагнитного поля использовали камеры из магнитомягкого материала и трехкомпонентная система колец Гельмгольца. Также культура клеток цианобактерии *Synechocystis* была отправлена в космос на спутнике Фотон М4 и провела на орбите Земли 45 суток. Изменения структурно-функционального состояния фотосинтетических мембран клеток цианобактерий оценивали с помощью следующих методов: абсорбционной спектроскопии, спектрофлуориметрии (Fluoromax-4, Horiba Jobin Yvon), индукции флуоресценции хлорофилла фотосистемы 2 (PEA, Hansatech и PAM-2000, Walz) и спектрофлуориметрии с пикосекундным временным разрешением (Simple-Tau 130, Becker&Hickl).

Установлено, что антенные комплексы цианобактерии *Synechocystis* – фикобилисомы являются наиболее чувствительными к действию ионизирующего излучения и условиям космического полета. Показано, что пребывание клеток в данных условиях вызывает значительное увеличение интенсивности и времени жизни флуоресценции в области 660 нм, что, вероятно, обусловлено нарушением целостности фикобилисом и, как следствие, снижением эффективности переноса энергии как внутри фикобилисом, так и от фикобилисом к фотосинтетическим РЦ. Об изменениях структуры фикобилисом также свидетельствует практически полное отсутствие нефотохимического тушения флуоресценции. В модельных опытах показано, что при больших дозах ионизирующего излучения происходит инактивация ФС2. Аналогичные эффекты характерны и для клеток, побывавших на орбите Земли. Следует отметить, что пересев культуры клеток цианобактерий на питательную среду и культивация при нормальных условиях приводит к полному восстановлению параметров, что, свидетельствует о жизнеспособности части клеток. Очевидно, для детального понимания механизмов устойчивости клеток цианобактерий требуются дополнительные исследования.

**ГЛОБАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДИНАМИКИ КОРОТКОЖИВУЩИХ СИГНАЛОВ ЭПР
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТНЫХ СИСТЕМ
Global kinetic analysis of transient EPR signals of photosynthetic pigment systems**

Кленина И. Б., Проскуряков И. И.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: kleonik@online.stack.net; тел: +7 4967 73-28-80, факс: +7 4967 33-05-32

Первичные фотохимические процессы фотосинтеза протекают в специализированных пигмент-белковых структурах, светособирающих антеннах и реакционных центрах (РЦ), и представляют собой серию быстрых реакций переноса энергии и электрона. Поскольку образующиеся в процессе интермедиаты, такие как радикальные пары, триплетные состояния и свободные радикалы парамагнитны, представляется естественным изучать их с помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

В докладе будут обсуждаться результаты измерения и анализа кинетики сигналов ЭПР, возникающих под действием импульсного фотовозбуждения в ряде фотосинтетических объектов:

- 1) изолированные РЦ *Rhodobacter sphaeroides* R26;
- 2) светособирающие комплексы LH2, выделенные из фототрофной бактерии *Allochromatium minutissimum*;
- 3) сухие плёнки суммарного каротиноида, выделенного из хроматофоров *Allochromatium minutissimum*.

Во всех случаях регистрировали кинетики в диапазоне сигналов ЭПР исследуемых состояний: в случае РЦ *Rhodobacter sphaeroides* R26 – сигнала первичной радикальной пары; в случаях каротиноидов и антенных комплексов *Allochromatium minutissimum* – захватывающих диапазон спектра триплетных состояний каротиноидов.

Математическая обработка полученного массива динамических данных была проведена с помощью программы глобального анализа Glotaran [1], применяемой ранее только в случае оптических пико- и фемтосекундных измерений. Примененный подход позволил получить спектры ЭПР промежуточных короткоживущих состояний, а также новую информацию о механизмах изученных фотопроцессов.

Авторы выражают благодарность фонду РНФ (грант 14-14-00535) за финансовую поддержку работы.

[1]. Snellenburg, J. J.; Laptinok, S. P.; Seger, R.; Mullen, K. M.; van Stokkum, I. H. M. J., “Glotaran: A Java-Based Graphical User Interface for the R Package TIMP”, Journal of Statistical Software, 2012, 49(3), 1–22

ФОТОСИСТЕМА 2 и СИСТЕМА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ ВОДЫ

Климов В. В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия
e-mail: vklimov@rambler.ru, тел. +7 4967 733768, факс +7 4967 330532

Обзор посвящён обсуждению экспериментальных данных о световых реакциях переноса электрона в фотосистеме 2 растений и цианобактерий и о структурно-функциональной организации процесса фотосинтетического окисления воды и выделения молекулярного кислорода.

БЕСПИГМЕНТНОЕ ВОЗБУЖДЕНИЕ КИСЛОРОДНЫХ МОЛЕКУЛ ИК ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ В ОРГАНИЧЕСКИХ И ВОДНЫХ СРЕДАХ

Козлов А. С., Красновский А. А.

Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Ленинский просп., д. 33, корп. 2, г. Москва, 119071, Россия, e-mail: anton4ikk_06@mail.ru, phoal@mail.ru; тел.: +7(495) 954-14-72

Переходу кислородных молекул из основного в синглетные состояния соответствуют главные спектральные полосы поглощения в ближней ИК области с максимумами при 765 и 1273 нм. При лазерном возбуждении растворенного кислорода светом этих длин волн образуется синглетный кислород (СК), который вызывает окисление ряда органических соединений, в том числе биологически важных, в водных и органических средах. Максимумы спектров действия соответствующих фотореакций совпадают с максимумами основных полос поглощения кислорода. В настоящее время активно обсуждается возможность применения этого способа генерации СК для беспигментного лазерного уничтожения раковых опухолей. В этом случае скорость окислительных процессов должна определяться скоростью лазерной генерации СК (V_{so}), которая, как известно, зависит от мощности лазерного излучения и оптической плотности кислорода по формуле:

$$V_{so} = 2,3 \cdot I \cdot A_{ox},$$

где I – интенсивность излучения в Э/(л·с), а A_{ox} – оптическая плотность кислорода, которая зависит от его растворимости и молярного коэффициента поглощения в данной среде. Поскольку интенсивность лазерного излучения легко контролировать, основная трудность оценки эффективности генерации СК при прямом возбуждении заключается в определении значений оптической плотности растворенного кислорода для двух главных абсорбционных полос. Так как оптическая плотность кислорода очень мала, и ее прямое спектрофотометрическое измерение невозможно, в нашей лаборатории разработан фотохимический метод анализа оптических параметров растворенного кислорода, в основе которого лежит прямое возбуждение кислородных молекул ИК диодными лазерами и регистрация образующегося СК с помощью чувствительной химической ловушки – 1,3-дифенилизобензофурана (ДФИБФ). Данные, полученные нами с помощью этого метода, показывают, что в естественных условиях оптическая плотность в максимуме кислородной полосы при 1273 нм в зависимости от природы среды изменяется в пределах от 10^{-5} до $5 \cdot 10^{-7}$ для оптического пути 1 см. Эта величина примерно в 20 раз меньше в воде, чем в органических неполярных средах. В неполярных средах оптическая плотность в максимуме другой полосы (765 нм) на порядок меньше, чем у полосы 1273 нм. При переходе от неполярных растворителей к полярным полоса при 765 нм относительно усиливается, а в водных средах максимумы обеих полос почти равны. Этот факт с учетом того, что излучение с длиной волны около 765 нм почти не поглощается водой и поэтому существенно меньше нагревает ткани, позволяет полагать, что при проведении лазерной терапии возбуждение кислорода в полосу 765 нм может быть более эффективным, чем в полосу 1273 нм. С другой стороны, наши данные показывают, что скорость образования СК при беспигментном возбуждении кислородных молекул в живых системах очень мала при допустимой для терапии мощности лазерного излучения. Поэтому не исключено, что биомедицинские эффекты лазерного облучения обусловлены не деструктивным действием СК, а его влиянием на сигнальные и регуляторные системы клеток.

ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЕ АБСОРБЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ В СВЕТСОБИРАЮЩИХ КОМПЛЕКСАХ LH2 и LH1-RC из *ALL. MINUTISSIMUM* и *Ect. HALOALKALIPHILA*

Photoinduced carotenoid absorption changes in light-harvesting complexes LH2 and LH1-RC from *All. minutissimum* and *Ect. haloalkaliphila*

Козловский В. С.¹, Ашихмин А. А.², Махнева З. К.², Москаленко А. А.², Компанец В. О.³, Чекалин С. В.³, Лукашев Е. П.⁴, Пашенко В. З.⁴, Разживин А. П.¹

1 – НИИ физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 40, Москва, 119991, Россия
e-mail: razjivin@belozersky.msu.ru; тел: +7 495 939-54-13

2 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: andrey-moskalenko@rambler.ru; тел: +7 4967 73-18-49, факс: +7 4967 45-67-89

3 – Институт спектроскопии РАН, г. Троицк, Москва, 142190, Россия
e-mail: chekalin@isan.troitsk.ru; тел: +7 495 851-02-37

4 – Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: paschenko@biophys.msu.ru; тел: +7 495 939-11-07

Светособирающие комплексы LH1 и LH2 пурпурных бактерий содержат молекулы основного пигмента (бактериохлорофилл, БХл) и вспомогательных пигментов (молекулы каротиноидов, Кар). В видимой области спектра регистрируются две налагающихся полосы оптического поглощения БХл с пиками около 360 и 390 нм («полоса Core») и полоса Qx с максимумом около 590 нм. Между ними располагается широкая полоса поглощения молекул Кар в области 420–570 нм. При возбуждении фемтосекундными (фс) лазерными импульсами регистрируется достаточно сложная картина абсорбционных изменений (АИ), отражающих процессы перехода молекул в возбужденное состояние, процессы внутримолекулярной релаксации возбуждений и процессы переноса энергии между молекулами пигментов. Эти АИ в значительной степени налагаются друг на друга, причем они могут проявляться как «выцветание», так и «затемнение», релаксирующие с разными постоянными времени. Более того, на характер АИ может влиять взаимодействие между пигментами, что усложняет интерпретацию регистрируемых сигналов.

Мы исследовали АИ комплексов LH2 и LH1-RC из клеток *Allochrochromatium minutissimum* и *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* дикого типа и из клеток с подавленным синтезом каротиноидов методом фс спектроскопии возбуждения/зондирования. Возбуждающие 70-фс импульсы $\lambda=340$ нм вызывали «выцветание» в полосе Qx около 590 нм и в полосе Кар (420–570 нм) в комплексах из клеток дикого типа или только в полосе Qx в комплексах с подавленным синтезом Кар. АИ регистрировались во временном интервале от 0 до 10 пикосекунд. Интенсивность возбуждения соответствовала поглощению примерно одного кванта на комплекс за импульс.

Вычитая АИ бескаротиноидных комплексов из АИ комплексов дикого типа, удается выделить спектральные изменения, обусловленные только молекулами Кар. Полученные данные по спектральным и кинетическим характеристикам молекул Кар для исследованных светособирающих комплексов в фемтосекундном временном диапазоне обсуждаются в сравнении с результатами измерений других авторов.

ЭФФЕКТ КИСЛОРОДА НА ТРИПЛЕТНОЕ СОСТОЯНИЕ P_{700} В ФОТОСИСТЕМЕ 1

Козулева М. А.^{1,2}, Флорес М.², Реддинг К.²

1. Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, e-mail: kozuleva@gmail.com
2. Аризонский государственный университет, Темпи, США

Среди активных форм кислорода наиболее негативное действие на метаболизм фотосинтезирующих организмов оказывает синглетный кислород. Пигмент-белковый комплекс Фотосистема 2 (ФС2) считается основным местом генерации синглетного кислорода, тогда как Фотосистема 1 (ФС1) не вносит существенного вклада в этот процесс [1]. Превалирующий путь генерации синглетного кислорода при фотосинтезе – взаимодействие молекулы кислорода в основном состоянии (триплетное состояние) с молекулами пигментов в триплетном возбужденном состоянии. Фотосинтетический аппарат организмов с оксигенным типом фотосинтеза был эволюционно адаптирован для уменьшения генерации триплетных состояний пигментов и синглетного кислорода. Однако какие структурные особенности и процессы обеспечивают низкий выход образования синглетного кислорода в ФС1 до сих пор не известно.

Триплетное состояние P_{700} ($^3P_{700}$) в ФС1 зарегистрировано неоднократно – в комплексах ФС1, обработанных для максимальной рекомбинации заряда из состояния $P_{700}^{+}A_0^{-}$. Наиболее широко используемой является обработка дитионитом натрия, обеспечивающего восстановленное состояние вторичных кофакторов переноса электрона, A_1 , F_X , $F_{A/B}$. Однако дитионит натрия восстанавливает молекулы кислорода, создавая анаэробные условия в системе, что делает невозможным исследование эффекта кислорода. Образование $^3P_{700}$ было зарегистрировано также в комплексах ФС1, обработанных SDS, причем не было обнаружено эффекта кислорода на время спада сигнала, приписываемого релаксации $^3P_{700}$ [2]. Однако обработка SDS значительно нарушает нативность комплексов, что затрудняет интерпретацию результатов.

Целью данной работы было исследование эффекта кислорода на образование $^3P_{700}$ в нативных комплексах ФС1, изолированных из *Chlamydomonas reinhardtii*. Для этого был использован мутант с заблокированным синтезом филлохинона, *menD1*, в хинон-связывающий сайт ФС1 которого встраивается пластохинон. Ранее было показано, что обработка ФС1 из *menD1* последовательными всплесками частотой 15 Hz приводит к двойному восстановлению пластохинона до пластохинола (PQH_2) [3], что увеличивает рекомбинацию зарядов из состояния $P_{700}^{+}A_0^{-}$. Состояние $^3P_{700}$ в комплексах *menD1* (PQH_2) было зарегистрировано при температуре 4 К с помощью ЭПР. Анаэробные условия создавали с помощью глюкозо-глюкозооксидазной системы. Амплитуда сигнала $^3P_{700}$ в анаэробных условиях был в 3 раза выше, чем в аэробных; однако в обоих случаях амплитуда была значительно ниже, чем в комплексах, обработанных дитионитом натрия.

1. Hideg E., Vass I. // Photochemistry and Photobiology. 1995, v. 62, 949–952
2. Setif P., et al // Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics. 1981, v. 638, 257–267
3. McConnell M., et al // Biochemistry. 2011, v. 50, 11034–11046

АКАДЕМИК ЕЛЕНА НИКОЛАЕВНА КОНДРАТЬЕВА: К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ

Колотилова Н. Н.

Кафедра микробиологии МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва
e-mail: kolotilovan@mail.ru

В 2015 году исполняется 90 лет со дня рождения выдающегося российского ученого, основоположника изучения фотосинтезирующих бактерий в нашей стране, Елены Николаевны Кондратьевой (1925–1995). Окончив кафедру микробиологии Московского университета (1949), Елена Николаевна, по предложению заведующего кафедрой академика В. Н. Шапошникова, начала изучать физиологию анаэробных фототрофных бактерий. В ходе ее работы была создана первая в нашей стране коллекция пурпурных и зеленых бактерий, что позволило исследовать эти организмы в сравнительном аспекте. Ею были подробно изучены потребности и условия роста разных представителей фототрофных бактерий, особенности их физиологии, метаболизм углерода, серы, азота, вопросы регуляции метаболизма, причины облигатной автотрофии, пути ассимиляции углерода. В 1964 г. она защитила докторскую диссертацию, в 1968 г. получила профессорское звание, в 1992 г. была избрана действительным членом РАН. В 1975–1985 гг. Е. Н. Кондратьева была президентом Всесоюзного микробиологического общества, в течение ряда лет она была членом исполнительного комитета Федерации Европейских Микробиологических Сообществ (FEMS), почетным членом микробиологических обществ Англии и Германии, членом редколлегий журналов «Микробиология», «Archives of Microbiology», «FEMS Letters», «Anaerobes» и др. С 1989 г. и до конца жизни Е. Н. Кондратьева возглавляла кафедру микробиологии МГУ имени М. В. Ломоносова, где она более 30 лет вела активную педагогическую работу.

Главные научные достижения Е. Н. Кондратьевой связаны с изучением фотосинтезирующих бактерий. Проведенные под ее руководством исследования выявили способность ряда пурпурных бактерий к росту в темноте за счет хемосинтеза, привели к расшифровке новых путей фиксации углекислоты у зеленых серных и зеленых нитчатых бактерий, раскрыли закономерности азотфиксации и фотовыделения пурпурными бактериями водорода. В 1988 г. за исследования по фотоводороду она вместе с группой сотрудников была удостоена Государственной премии.

В 1970х гг. Е. Н. Кондратьевой были начаты исследования углеродного метаболизма у метилотрофных бактерий, эти работы представляли новое и весьма перспективное направление как для фундаментальной науки, так и для биотехнологии. В наши дни исследования метилотрофов активно продолжаются. Е. Н. Кондратьева не только стояла у истоков новых перспективных направлений в микробиологии, но и создала сильную микробиологическую школу, которая продолжает развиваться и сегодня. Многие научные традиции Е. Н. Кондратьевой тесно связаны с Пущино

Е. Н. Кондратьева – автор следующих научных монографий:

- Кондратьева Е.Н. Фотосинтезирующие бактерии. М.: Изд. АН СССР, 1963. 315 с.; Kondrat'eva E.N. Photosynthetic bacteria. Israel Program for Scientific translations, Jerusalem, 1965. 244 p.;
Кондратьева Е.Н. Фотосинтезирующие бактерии и бактериальный фотосинтез. Учебное пособие. М.: МГУ, 1972. 73 с.;
Кондратьева Е.Н., Гоготов И.Н. Молекулярный водород в метаболизме микроорганизмов. М.: Наука, 1980. 340 с.;
Кондратьева Е.Н. Хемолитотрофы и метилотрофы. Учебное пособие. М.: МГУ, 1983. 171с.;
Кондратьева Е.Н., Максимова И.В., Самуилов В.Д. Фототрофные микроорганизмы. Учебное пособие. М.: МГУ, 1989. 376 с.;
Кондратьева Е.Н. Автотрофные прокариоты. Учебное пособие. М.: МГУ, 1996. 302 с

УЧАСТИЕ ФОТОИНДУКЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В ДИСТАНЦИОННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ ХЛОРОПЛАСТОВ В КЛЕТКАХ ХАРОВОЙ ВОДОРОСЛИ

Комарова А. В., Булычев А. А.

Кафедра биофизики Биологического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия, e-mail: aval945@mail.ru, тел.: +7(495)939-35-03

Непрерывный обмен метаболитами между хлоропластами и другими компонентами клетки является важной составляющей внутриклеточной регуляции фотосинтеза. В данной работе на примере харовых водорослей рассматриваются дистанционные взаимодействия неподвижных хлоропластов, расположенных на расстоянии 1–2 мм друг от друга. Предполагается, что передача сигналов между пластидами, включая обмен окислительно-восстановительными эквивалентами, может корректировать скорость потока электронов в ЭТЦ фотосинтеза в соответствии с потреблением АТФ и НАДФН в процессах ассимиляции CO_2 . Основной задачей было изучить влияние интермедиата, образующегося при локальном освещении клетки, на окислительно-восстановительное состояние ЭТЦ на акцепторной стороне ФС2 в хлоропластах, находящихся на значительном удалении от места световой стимуляции, а также установить, участвуют ли фотоиндукционные процессы в передаче и восприятии такого сигнала. Для измерения флуоресценции хлорофилла *in vivo* на микроучастках интернодальных клеток водоросли *Chara corallina* использовали метод насыщающих световых импульсов. Обнаружено, что короткий импульс локального света ($I=500 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, диаметр освещаемой области 400 мкм) индуцирует возрастание флуоресценции F' в участках клетки, расположенных ниже по течению цитоплазмы в плоскости измерения, тогда как в противоположном направлении от места локального освещения интенсивность свечения не меняется. Распространение волны флуоресценции F' от места приложения фотостимула отражает временное восстановление первичного акцептора Q_A и переносчиков электронов на участке между двумя фотосистемами в стационарных условиях при постоянной интенсивности фонового освещения. Установлено, что после темновой адаптации локальное освещение удаленного участка не вызывало изменений уровня свечения. Изменения F' , опосредованные локальным фотостимулом, также отсутствовали в период 1–2 мин после включения фоновой подсветки. Восстановление реакции на местное освещение наблюдалось спустя 3 мин после начала световой адаптации. Это говорит о существовании индукционных явлений в дистанционной передаче сигналов между хлоропластами, аналогичных индукции фотосинтетической фиксации CO_2 . Исследуемые изменения F' полностью подавлялись агентами, нарушающими поток электронов в акцепторной части ФС1 (метилвиологен, дифенилениодоний). Полученные данные свидетельствуют о том, что окислительно-восстановительные эквиваленты, образующиеся в строме ярко освещенных хлоропластов, транслицируются в цитоплазму и переносятся с потоком цитоплазмы. Во время движения с циклозом НАДФ(Н) попадает в удаленные хлоропласты, вызывая временное восстановление переносчиков электронов в ЭТЦ. Сделан вывод, что за фотоиндукцию дистанционных взаимодействий хлоропластов могут отвечать стадии переноса НАДФН через мембраны оболочки хлоропластов и/или стадии восприятия сигнала в строме хлоропластов за счет светочувствительных ферментных систем, таких как ферредоксин-НАДФН-редуктаза или НАДФН-пластохион редуктаза.

ФОТОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ТЕМНОВЫЕ ПРОЦЕССЫ ФОТОСИНТЕЗА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ УСЛОВИЙ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Кособрюхов А. А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия, e-mail: kosobr@rambler.ru тел: +7 4967 73-29-88; факс: +7 4967 33-05-32

В естественных и контролируемых условиях выращивания растений происходят постоянные изменения уровней интенсивности света, температуры, концентрации углекислоты и других факторов внешней среды. Эти изменения могут укладываться в границы физиологической нормы реакции, но могут в значительной степени выходить за них. Реализация генетического потенциала биопродуктивности растений и их устойчивости во многом зависит от ритмики изменения факторов внешней среды и эндогенных физиолого-биохимических ритмов. Выявление соотношения этих процессов имеет большое значение в плане выяснения механизмов приспособления растений к изменяющимся условиям произрастания, а также, для определения возможности направленного регулирования продукционного процесса.

Одним из подходов к изучению путей приспособления растений к изменяющимся условиям внешней среды является исследование кинетических характеристик изучаемых процессов. Наряду с достаточно хорошо изученным кратковременным влиянием экологических факторов на фотосинтетический аппарат, а также длительным их воздействием на структуру фотосинтетического аппарата и целого растения, все больше внимание уделяется исследованию действия факторов в часовых временных интервалах. Такой подход позволяет оценить характер ответной реакции не только на уровне световой стадии фотосинтеза, но и выяснить уровень фотосинтетической активности, определяемый активностью темновых процессов, пулом ассимилятов, донорно-акцепторными отношениями в листе и целом растении. Особую актуальность имеют исследования с использованием методов, не нарушающих целостность листьев. Таким подходом является построение углекислотных и световых зависимостей CO_2 газообмена и последующего анализа данных с использованием математических моделей, что позволяет оценить активность отдельных звеньев световой и темновой стадий фотосинтеза, эффективность использования световой энергии и другие показатели.

В задачу работы входило исследование кинетических параметров активности фотосинтетического аппарата, устьичной проводимости и транспирации, а также анализ изменения активности реакции карбоксилирования с использованием модели Фаркьюхара и др. при изменении интенсивности света и/или спектрального состава. Исследования проводили на листьях разных видов растений. Ответную реакцию фотосинтеза растений на изменение условий выращивания оценивали путем измерения газообмена в течение нескольких часов после смены режима.

Изучение работы фотосинтетического аппарата при изменении параметров среды в различных временных интервалах (сек, мин, часы, сутки) позволило выявить кинетику изменения скорости электронного транспорта в ЭТЦ хлоропластов (скорости регенерации РБФ), активности РБФК/О и использования триозофосфатов, оценить характер ответной реакции устьичного аппарата. Выявлена регуляторная роль света, различных участков спектра, в регуляции активности отдельных фотосинтетических процессов и, в конечном итоге - продукционного процесса растений. Определены оптимальные временные интервалы воздействия факторов на растения, способствующие повышению продуктивности растений в контролируемых условиях.

ОСОБЕННОСТИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ СПЕКТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЛИСТЬЕВ ЯЧМЕНЯ, ВЫРАЩЕННОГО ПРИ ОСВЕЩЕНИИ УЗКОПОЛОСНЫМ КРАСНЫМ И СИНИМ СВЕТОМ

Characteristics of low-temperature fluorescence spectra in leaves of barley grown with narrow-band red and blue light

Кочетова Г. В., Беляева О. Б., Жигалова Т. В., Бассарская Е. М., Аверчева О. В.

Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: olga.vercheva@gmail.com, Тел.: +7(495) 939-27-76; Факс: +7(495) 939-43-09

Выращивание растений на узкополосном синем и красном свете, испускаемом светодиодами (СД), приводит к формированию фотосинтетического аппарата (ФСА), отличающегося организацией и функциональной активностью от ФСА растений, выращенных под белым светом. В настоящей работе исследовали низкотемпературные спектры флуоресценции (ФЛ) листьев и гомогенатов из листьев 9-дневных проростков ячменя, выращенного при освещении узкополосным красным (660 нм) (КС-вариант) и синим (450 нм) (СС-вариант) светом. Контролем служили растения, выращенные под люминесцентными лампами (ЛЛ-вариант, контроль). Плотность потока ФАР во всех световых вариантах – 70 мкмоль квантов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$. Перед измерениями ФЛ растения адаптировали к темноте в течение 4–5 часов. ФЛ измеряли при 77К на спектрофлуориметре FluoroMax-4 (HORIBA-Scientific, France) при возбуждении ФЛ двумя длинами волн, соответствующими максимумам поглощения Chl *a* и Chl *b*: 440 и 474 нм. Оценивали отношения максимумов флуоресценции ФСІ и ФСІІ: для листьев F742/F684, для гомогенатов листьев – F739/F683. При анализе низкотемпературных спектров ФЛ листьев не было выявлено достоверных различий между исследованными световыми вариантами из-за существенной реабсорбции коротковолновой флуоресценции пигментами ФСІ, что занижало регистрируемую флуоресценцию в области коротковолновых максимумов, соответствующих ФСІІ. Для снижения эффекта реабсорбции были исследованы гомогенаты из адаптированных к темноте листьев растений. Отношения F739/F683 в спектрах гомогенатов СС-варианта не имели достоверных отличий от контрольного ЛЛ-варианта при обоих режимах возбуждения ФЛ. В спектрах гомогенатов КС-варианта отношения максимумов флуоресценции ФСІ:ФСІІ были выше, чем у растений контрольного варианта: F739/F683 +23% при возбуждении 474 нм и +15% при возбуждении 440 нм. Такая разница в соотношении флуоресценции первой и второй фотосистем свидетельствует о разном распределении хлорофилла в фотосистемах адаптированных к темноте растений, выращиваемых при разных световых условиях, в частности о большем относительном количестве пигмента в первой фотосистеме у растений, выращенных на КС. Для ответа на вопрос, является ли относительно большее количество пигмента ФСІ постоянным, или это результат различных изменений (или скоростей изменений) состояния фотосистем в период темновой адаптации, необходимы дальнейшие исследования (в частности, изменение спектров гомогенатов разных вариантов растений во время темновой адаптации).

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ КОНФИГУРАЦИЙ КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ ІІ В МЕМБРАНАХ ТИЛАКОИДОВ ГРАН

Кочубей С. М.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев
e-mail: skbiofis@mail.ru

Выявлено три экспоненциальных компонента в кривой индукции флуоресценции хлорофилла листьев озимой пшеницы с заблокированным электронным транспортом на уровне PSII. Разложение этих кривых с использованием оригинального алгоритма позволяет определить как относительные вклады компонентов, так и характеристические времена. Соотношения вкладов α , β и γ компонентов оказываются подобными для различных стадий вегетации, а также для разных сортов пшеницы. Хотя относительный вклад β и γ компонентов несколько увеличивается у зрелых растений наряду с увеличением относительной концентрации Chl *b*. Обнаруживается подобие этих соотношений с таковыми для трех конфигурации супермолекулярного комплекса PSII, которые выявлены в мембранах тилакоидов арабидопсиса и шпината: C2S2, C2S2M, C2S2M2, где C – core комплекс PSII, а S и M прочно и умеренно связанные комплексы LHCIІ. Эти данные позволили предположить, что три компонента индукционной кривой соответствуют трем конфигурациям комплекса PSII.

5-ти минутный прогрев листьев в темноте при 45°C вызывает перераспределение вкладов α , β и γ компонентов в пользу β компонента за счет уменьшения доли α компонента. При этом этот эффект возрастает для сортов менее устойчивых к температурному стрессу. Анализ известных особенностей организации различных конфигураций супермолекулярного комплекса PSII и данных о чувствительности отдельных сайтов к высокотемпературному прогреву позволяет предложить объяснение этих явлений.

ТРИПЛЕТНЫЙ ХЛОРОФИЛЛ, СИНГЛЕТНЫЙ КИСЛОРОД И ФОТООКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

Красновский А. А.

1 – Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Ленинский просп. 33, корп. 2, 119071, Москва
2 – Биологический факультет Московского государственного университета, 119899, Москва
e-mail: phoal@mail.ru

Суммируются результаты анализа первичных механизмов фотоокислительного стресса в растениях, основанного на измерении открытых в лаборатории люминесцентных явлений: низкотемпературной фосфоресценции (950–1000 нм) триплетного хлорофилла и фотосенсибилизированной ИК (1270 нм) фосфоресценции синглетного кислорода, и результатах фотохимических экспериментов. Низкотемпературная фосфоресценция пигментов позволила измерить энергию и естественное и радиационное время жизни триплетного состояния различных сольватов мономерных молекул хлорофиллов, обнаружить триплетные состояния димерных и олигомерных форм пигментов и определить относительную интенсивность фосфоресценции и флуоресценции исследованных форм. Триплетные состояния хлорофилла и его предшественников были зарегистрированы также в фиксированных жидким азотом этиолированных, зеленеющих и сформированных листьях растений, клетках водорослей, изолированных хлоропластах и их фрагментах. Проведена оценка квантового выхода заселения триплетного состояния в различных структурных компонентах фотосинтетического аппарата. Измерения ИК фосфоресценции кислорода показали, что фотовозбуждение мономерных и димерных молекул хлорофилла и его аналогов в аэробных условиях приводит к активной генерации синглетного кислорода, которая сопровождается эффективной физической дезактивацией пигментами образованного ими синглетного кислорода и существенно менее интенсивным разрушением пигмента в ходе этого взаимодействия. Фотохимические эксперименты в модельных системах свидетельствуют о том, что в аэробных условиях фотосенсибилизированное хлорофиллом образование синглетного кислорода приводит к разрушению пигментов и окислению введенных в раствор окисляющихся соединений, например, аскорбиновой кислоты, аминокислот и белков. Совокупность данных показывает, что аналогичный механизм определяет фотоокислительный стресс в растениях при действии яркого солнечного света. Однако этот эффект ослаблен на несколько порядков величины из-за наличия естественных защитных систем. Предполагается обсудить природу основных факторов, определяющих фотоокислительный стресс, а также стратегию и эффективность защиты фотосинтетического аппарата [1–5].

1. Krasnovsky AA. Jr. // Proc. Roy. Soc., Edinburgh, 1994, v. 102B, 219–235.
2. Krasnovsky, A.A., Jr. // Photosynthesis: from Light to Biosphere, P. Mathis, ed., Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, 1995, v. 6, p. 275–278.
3. Krasnovsky, A.A. Jr. // In: Handbook of Porphyrin Science, (eds Karl M. Kadish, Kevin M. Smith, Roger Guilard) 2014, Vol. 33, Part II. p.78–165. World Scientific Publishing, Singapore.
4. Krasnovsky AA. Jr., Kovalev Yu.V. // Biochemistry (Moscow), 2014, v. 79, 349–361.
5. Neverov KV, Krasnovsky AA. Jr., Zabelin AA., Shuvalov VA, Shkuropatov AY. // Photosynthesis Research 2015; DOI: 10.1007/s11120-015-0105-1

ВЛИЯНИЕ ФИТОХРОМНОЙ СИСТЕМЫ НА СТРЕСС-УСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Креславский В. Д., Ширшикова Г. Н., Любимов В. Ю., Кособрюхов А. А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: vkreslav@mail.ru; тел: 7(4967)732988

Исследовано влияние УФ-радиации на фотосинтетические параметры и устойчивость фотосинтетического аппарата (ФА) растений арабидопсиса с разным содержанием фитохромов. Были использованы мутанты, дефицитные по фитохрому В (мутант *hy3*), по хромофору фитохромов – фитохромобилину (мутант *hy2*), а также по фитохромам А и В одновременно (двойной мутант, ДМ). Растения выращивали на белом свете и на светодиоде красном свете (635 нм, 10 Вт м⁻² с⁻¹).

Между растениями дикого типа (ДТ) и мутантными не обнаружено значительного различия величин флуоресцентных параметров – F/F_m , $Y(II)$, ETR, характеризующих активность ФА. Однако во всех случаях в мутантах было замечено снижение содержания фотосинтетических и УФ-поглощающих пигментов. Показано снижение устойчивости ФА к УФ-А радиации, оцененное по уменьшению активности ФС2 при действии УФ-А (2 ч, 12 Вт м⁻² с⁻¹) у мутантов *hy2*, *hy3* и ДМ по сравнению с ДТ. Максимальный квантовый выход флуоресценции F/F_m снижался после УФ-облучения растений на (7.5±0.1)% у ДТ, на (8.9±0.2)% у *hy2*, (8.1±0.2)% у *hy3* и 14.6±0.4% у ДМ. При выращивании арабидопсиса на красном свете (КС) снижение величины F/F_m после облучения УФ-А было 19–23% для всех мутантов и 12–13% для ДТ. Предоблучение КС, которое увеличивает содержание активной формы фитохрома В, не влияло на величину F/F_m у всех мутантов, но приводило к её снижению при действии УФ-А на ДТ. Аналогичную тенденцию наблюдали при действии света высокой интенсивности. Напротив, ранее было обнаружено повышение устойчивости к УФ-радиации у трансгенных растений картофеля Дара-5 и Дара-12, суперпродуцентов ФхВ [1], что связано с более высоким пулом каротиноидов и УФ-поглощающих пигментов в листьях, а не изменениями на уровне хлоропластов за счет повышенного содержания ФхВ.

Активность одного из ключевых антиоксидантных ферментов хлоропласта аскорбатпероксидазы (АсП) была значительно ниже у мутанта *hy2*, дефицитного по фитохромобилину. Активность ключевого фермента синтеза флавоноидов ФАЛ возрастала в результате облучения КС растений ДТ, но не мутантов *hy2* и *hy3*.

Методом ПЦР в реальном времени обнаружено КС-индуцированное повышение транскрипционной активности генов как цитозольной (APX1), так и тилакоидной (tAPX) аскорбатпероксидазы у ДТ и мутанта *hy3*. У мутанта *hy2* после облучения КС наблюдали заметное снижение уровня экспрессии соответствующих генов, а также гена халконсинтазы, что может объяснять отсутствие влияния предоблучения КС на устойчивость ФА этого мутанта к УФ-радиации. Большая чувствительность ФА мутантов к УФ-радиации может быть связана с низким содержанием в листьях фотосинтетических и УФ-поглощающих пигментов и пониженной активностью некоторых антиоксидантных ферментов.

Таким образом, изменения содержания фитохромов и их активных форм служат адаптивным механизмом ФА растений при действии УФ-радиации, света высокой интенсивности и, вероятно, других стрессовых факторов, что может быть важно для целей биотехнологии.

Работа была поддержана грантом РФФИ №15-04-01199а.

1. Креславский В. Д., Кособрюхов А. А., Шмарев А. Н., Аксенова Н. П., Константинова Т. Н., Голяновская С. А., Романов Г. А. // Физиология растений. 2015, т. 62(2), 222–228.

**РОЛЬ ГЕНОВ ТЕМНОВОГО (*brc-1* и *lts-3*) И СВЕТООВОГО (*brs-1* и *chl-1*)
БИОСИНТЕЗА ХЛОРОФИЛЛА НА СТРУКТУРУ И ФУНКЦИЮ МЕМБРАН В КЛЕТКАХ
МУТАНТОВ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*
The role of genes of dark (*brc-1* and *lts-3*) and light (*brs-1* and *chl-1*) chlorophyll
biosynthesis on the structure and function of membranes in the cells of mutants
*Chlamydomonas reinhardtii***

Ладыгин В. Г.^{1*}, Семенова Г. А.², Кособрюхов А. А.¹, Чекунова Е. М.³

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, г. Пущино, 142290, Россия

* e-mail: ladyginv@rambler.ru; тел: +7 4967 73-28-64

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пущино, 142290, Россия

3 – Кафедра генетики и биотехнологии биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета, 199034, Россия

Клетки зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, несущие аллельные мутации (*brc-1* и *lts-3*) в гене *LTS3* в темноте, накапливали красные предшественники хлорофилла – протопорфирин IX и Mg-протопорфирин IX. Они формировали колонии оранжевого цвета в темноте, которые зеленели на свету. Ген *LTS3* кодирует ДНК-связывающий белок, который является фактором транскрипции, активирующим экспрессию генов Mg-хелатазы. Эти данные указывали на то, что у *Ch. reinhardtii* регуляция темнового биосинтеза хлорофилла осуществляется не только на этапе превращения протохлорофиллида, но и на более ранней стадии синтеза пигмента протопорфирина IX – путем транскрипционной регуляции генов Mg-хелатазы. Исследования мутантов *Ch. reinhardtii*, накапливающих в темноте протопорфирин IX – субстрат Mg-хелатазы, позволили идентифицировать 2 ядерных гена: *LTS3* и *CHLH*. Исследования показали, что ген *CHLH* *Ch. reinhardtii* кодирует большую субъединицу Mg-хелатазы. Мутации в гене *CHLH* (*brs-1* и *chl-1*) вызывали гибель клеток на свету.

Изучено изменение структурно-функциональных характеристик клеток дикого типа CC-124 и мутанта *Brc-1* *Ch. reinhardtii* в темноте и на свету. Показано, что клетки дикого типа CC-124 имели хорошо развитую структуру и высокую функциональную активность, благодаря их способности синтезировать хлорофилл как на свету, так и в темноте. У мутанта *Brc-1* в клетках, растущих на свету, плазмалемма имеет четкую трехслойную структуру и двухслойную мембраны оболочки ядра, митохондрий и хлоропластов. В клетках мутанта *Brc-1*, выросших в темноте, как плазмалемма, так и мембраны ядра, митохондрий и хлоропластов едва различимы и имеют прерывистую структурную организацию. «Разрыхление» всех мембранных структур клетки сопровождалось снижением функциональной активности [1]. Мутант *Brc-1* утратил способность синтезировать хлорофилл в темноте в результате мутации в гене *brc-1*, блокирующей синтез фермента Mg-хелатазы. В темноте он накапливал много протопорфирина IX и имел редуцированную мембранную систему и низкую функциональную активность. Обсуждаются причины столь существенных нарушений структуры и функции в клетках мутанта *Brc-1* в темноте и восстановления их на свету, так как световой синтез хлорофилла у них не нарушен.

1. Ладыгин В.Г., Чекунова Е.М., Семенова Г.А., Кособрюхов А.А. // Биофизика. 2014. Т. 59. № 4. С. 692–703.

**МУТАНТЫ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* КАК СУПЕРПРОДУЦЕНТЫ
БИОЛОГИЧЕСКИ ЦЕННЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ФОТОБИОТЕХНОЛОГИИ
Mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* as superproducers of biologically valuable products
for Photobiotechnology**

Ладыгин В. Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: ladyginv@rambler.ru; тел: +7 4967 73-28-64

Известно, что каротины, протопорфирин IX и ненасыщенные жирные кислоты давно используются в медицинской практике. В настоящее время активно ведутся исследования каротиноидов в связи с участием их в защитных реакциях виолаксантинового и лютеин-эпоксидного циклов, а также антиоксидантных свойств каротиноидов используемых в медицине и фармакологии. Во многих направлениях этих исследований достигнуты значительные успехи. Однако роль ζ-каротина, протопорфирина IX и ненасыщенных жирных кислот до сих пор мало изучена [1–4].

Предварительные исследования показали, что у мутантов *Chlamydomonas* накапливалось значительное количество ζ-каротина (до 36–39%), что позволяет их использовать как суперпродуцентов. Они могут найти широкое практическое применение в медицине и фармакологической промышленности, в частности как противоонкологическое средство. Клетки дикого типа K(+) *Ch. reinhardtii* накапливают α-каротина 4–7%, а β-каротина – 93–96% от их суммарного содержания. Мутант C-41 утратил способность синтезировать α-каротин. Можно предположить, что у него генетически нарушен ген *CrtL-e*, ответственный за синтез фермента ликопин-ε-циклазы. Он накапливает 40–47% β-каротина, 17–22% β-зеакаротина и 33–41% ζ-каротина от общей суммы каротинов [1, 2].

Анализ мутантов с нарушением темнового биосинтеза хлорофилла позволил выявить штаммы, которые накапливают значительное количество протопорфирина IX [3], что позволяет рекомендовать их для получения значительного количества этого вещества. Кроме того, нами были получены темно-зеленые мутанты, которые накапливали в 2–3 раза больше хлорофиллов, каротиноидов, белков и липидов. Эти штаммы можно рекомендовать для получения и использования в медицинских целях ненасыщенных жирных кислот [4].

Полученные результаты позволили оценить не только динамику накопления биологически ценных продуктов для медицины, но и установить, что мутантные штаммы накапливают достаточное количество биомассы, что позволяет широко использовать полученные нами мутанты *Ch. reinhardtii* для целей биотехнологии. Обсуждается возможность использования мутантов с высоким содержанием ζ-каротина, протопорфирина IX и ненасыщенных жирных кислот для широкого использования их в медицине.

1. Ладыгин В.Г. // Авторское свидетельство на изобретение № 1289064 от 08.10.1986 г.

2. Ладыгин В.Г. // Прикл. биохим. и микробиол. 2014. Т. 50. № 6. С. 578–586.

3. Ладыгин В.Г., Чекунова Е.М., Семенова Г.А., Кособрюхов А.А. // Биофизика. 2014. Т. 59. № 4. С. 692–703.

4. Ladygin V.G., Biel K.Ya., Calvin K. Patent USA. 2013. №PP23, 858 P3.

ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОЙ БИНАРНОЙ КУЛЬТУРЫ *RHODOBACTER SPHAEROIDES* И *CLOSTRIDIUM BUTYRICUM*, РАЗЛАГАЮЩЕЙ ПОЛИСАХАРИДЫ НА СВЕТУ

Лауринавичене Т., Шастик Е.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: laurinaoke@mail.ru; тел: +7 4967 73-27-91, факс: +7 4967 33-05-32

Для эффективного выделения водорода из сложных субстратов обычно предлагается двухстадийный процесс, в котором на первой стадии осуществляется гидролиз субстрата с образованием жирных кислот и водорода (за счет анаэробных хемогетеротрофов), а на второй – фотоферментация жирных кислот с выделением H_2 (за счет пурпурных фотоотрофных бактерий). Наряду с этим возможен и одностадийный процесс с использованием бинарных культур, в котором обе стадии совмещены. В наших экспериментах бинарная культура *Rhodobacter sphaeroides* N7 и *Clostridium butyricum* выделяла водород в процессе фотоферментации крахмала с выходом 4.9 моль/моль гексозы. Однако получение стабильных бинарных культур является непростой задачей, т.к. небольшие изменения условий культивирования могут вызывать противоположные эффекты у двух видов и таким образом нарушить равновесие между ними. Преобладающая активность клостридий приводит к понижению pH, ингибирующему рост пурпурных бактерий. С другой стороны, нами показано, что пурпурные бактерии могут тормозить гидролиз крахмала и выделение водорода клостридиями. Для воспроизводимого получения водорода с помощью бинарной культуры было изучено влияние некоторых факторов (pH, интенсивность света, температура, доли инокулятов, наличие восстановителей или следов кислорода, а также дополнительных субстратов) и выяснен их допустимый диапазон. Проведение процесса в специально сконструированной ячейке позволило регистрировать кинетику изменения pH и E_h при фотоферментации бинарной культурой по сравнению с *Clostridium butyricum*.

Обсуждаются механизмы воздействия пурпурных бактерий на клостридии: поддержание неоптимальных для клостридий значений pH и E_h , синтез сигнальных молекул или антимикробных соединений.

Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-00246 (ТЛ).

ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗДЕЛЕНИЯ ЗАРЯДОВ В РЦ *Rba. SPHAEROIDES* С ПОВЫШЕННЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ ПЕРВИЧНОГО ДОНОРА ЭЛЕКТРОНА ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

Леонова М. М., Христин А. М., Шувалов В. А., Хмельницкий А. Ю.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, ул. Институтская, 2, Московская область, 142290, Россия
e-mail: m.m.leonova@gmail.com; Tel./Fax: +7(496)773-26-80/+7(496)733-05-32

С использованием метода сайт-направленного мутагенеза были получены семь рекомбинантных штаммов пурпурной бактерии *Rhodobacter sphaeroides* с реакционными центрами (РЦ), несущими одинарные аминокислотные замещения, M160LN, L131LN и M197FN, и их сочетания – двойные и тройные. Данные замены привели к появлению водородных связей между бактериохлорофиллами (БХл) димера и субъединицами белка РЦ и, как следствие, к повышению окислительно-восстановительного потенциала (E_m) первичного донора электрона Р, которое имеет аддитивный характер. Методом фемтосекундной спектроскопии было исследовано первичное разделение зарядов между димером Р и первичным акцептором электрона БХл B_A . Скорость переноса электрона оценивалась по времени жизни стимулированного излучения возбужденного состояния донора P^* (при 940 нм). При расчетах использовали двухэкспоненциальную аппроксимацию кинетик стимулированного излучения.

Было показано, что в РЦ тройного мутанта в присутствии восстановителя хинонного акцептора Q_A при комнатной температуре разделение зарядов не наблюдается, только возврат P^* в основное состояние с константой $\tau_1 = 137,0$ пс. Во всех РЦ с одиночными и двойными заменами происходит разделение зарядов с образованием состояний $P^+B_A^-$ и $P^+H_A^-$, но с меньшей скоростью, чем в РЦ дикого типа. Было отмечено, что в целом с ростом E_m первичного донора электрона Р перенос электрона замедляется. Это выражается как в росте значений констант τ_1 и τ_2 , так и в увеличении вклада медленного компонента кинетики. Из общего ряда вынесены мутантные РЦ, содержащие замещение M197FN. У одиночного мутанта E_m Р повышен на 125 мВ, тогда как скорость переноса электрона с Р на B_A сопоставима со скоростью в РЦ дикого типа (τ_1 и τ_2 равны 3,7 и 17 пс соответственно против 2,9 и 15,5 пс в диком типе). В РЦ M160LN+M197FN ($\Delta E_m = \sim 190$ мВ) вклад быстрого компонента (3 пс) составляет всего 30%. В РЦ L131LN+M197FN ($\Delta E_m = \sim 205$ мВ) стимулированное излучение из P^* затухало с константами 13 пс (60%) и 125 пс (40%). Одним из объяснений этого явления может заключаться в предположении, что замещение M197FN приводит, помимо увеличения потенциала Р, к увеличению потенциала анион-радикала B_A^- .

Сделано заключение, что гетерогенность кинетик стимулированного излучения P^* в мутантных РЦ растет с повышением потенциала Р. Эта закономерность объясняется с помощью модели обратного переноса $P^* \leftarrow P^+B_A^-$, при которой рост гетерогенности кинетик является результатом роста скорости обратного переноса и одновременно замедления скорости прямого переноса электрона вследствие повышения уровня энергии состояния $P^+B_A^-$ относительно состояния P^* в мутантах.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-32112 и грантом Президента РФ НШ-4771.2014.4.

Кадмий в хлоропластах: Поиск возможных мишеней, количественный подход **Cadmium in chloroplasts: Possible targets, a quantitative approach**

Лысенко Е. А., Клаус А. А., Карташов А. В., Кузнецов В. В.

Институт физиологии растений (РАН) ФАНО, г. Москва, 127276, Россия.
email: genlysenko@mail.ru; +7 499 231-83-44

Кадмий (Cd) – тяжёлый металл, токсичный для растений и животных. Фотосинтетический аппарат может являться одной из мишеней для кадмия. Анализ воздействия Cd на процессы в хлоропластах осложняется рядом причин. В большом числе работ показано ингибирование фотосинтетических процессов кадмием, однако, во многих работах зарегистрировано и отсутствие такого эффекта. Влияние на темновую фазу фотосинтеза выявляется чаще, чем на процессы в электрон-транспортной цепи тилакоидных мембран. Но известно, что Cd ингибирует формирование и функционирование устьиц. Это приводит к уменьшению поступления CO₂ в хлоропласты, что само по себе ингибирует работу ферментов цикла Кальвина-Бенсона. Поэтому довольно трудно понять, какие эффекты кадмия вызваны его проникновением в хлоропласты, а какие опосредованы его влиянием на различные процессы роста и развития растений.

О непосредственном поступлении Cd в хлоропласты известно очень мало. Корректная оценка требует выделения высокоочищенных интактных хлоропластов. Более 10 лет назад были выполнены две таких работы, и их результаты оказались практически несопоставимы. В хлоропластах рапса накапливались следовые количества (4.5 нг Cd/мг Хф) [1], а в хлоропластах сахарного тростника довольно много (93 и 336 нг Cd/мг Хф) [2]. Проведенное нами исследование показало промежуточные значения (49 и 92 нг Cd/мг Хф для кукурузы, 126 и 171 нг Cd/мг Хф для ячменя) [3]. Стало ясно, что накопление кадмия в хлоропластах может варьировать в широком диапазоне. Мы предложили подход к оценке доли кадмия, проникающего из тканей листа в хлоропласты. Оказалось, что этот параметр варьирует в ещё большем диапазоне: от 0.02% до 14.3% [3].

Затем мы впервые исследовали распределение Cd внутри хлоропластов. Оказалось, что порядка ¾ Cd поступает в тилакоиды и только ¼ остаётся в строме. Подобное распределение было выявлено и для других катионов (Fe, Mg, Ca, Zn, Mn). Поэтому, можно ожидать, что в хлоропластах Cd связывается и ингибирует компоненты электрон-транспортной цепи тилакоидов в большей степени, чем ферменты цикла Кальвина-Бенсона.

Накопление Cd в хлоропластах недостаточно для замещения Mg в сколь-нибудь заметной порции антенных хлорофиллов. Наиболее близким по количеству элементом оказывается Mn. Если предположить, что в тилакоидах весь Mn входит в состав водоокисляющих кластеров (Mn₄CaO₅) ФС2, то количество катионов Cd окажется не на много меньше, чем количество таких кластеров. Для нарушения структуры кластера достаточно замены одного катиона. Нарушение кадмием работы водоокисляющего комплекса показано в целом ряде работ. Полагая количество комплексов ФС2 равным числу марганцевых кластеров, другие функционально важные сайты в ФС2 тоже могут быть допустимыми мишенями с позиции количественного анализа.

Работа поддержана грантом РНФ № 14-14-00584.

1. Baryl A. et al. // Planta. 2001, v.212, 696-709

2. Pietrini F. et al. // Plant Physiol. 2003, v.133, 829-837

3. Lysenko E.A. et al. // Photosynth. Res. On-line first. DOI: 10.1007/s11120-014-0047-z

Влияние трегалозной матрицы на кинетику рекомбинации зарядов в фотосистеме 1 при различной степени влажности

**Малфerrари М.¹, Мамедов М. Д.², Милановский Г. Е.²,
Вентуроли Дж.¹, Семенов А. Ю.²**

1 – Университет г. Болонья, Италия;

2 – Институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета, Россия
e-mail: semenov@genebee.msu.ru

Дисахарид трегалоза был использован для исследования кинетики рекомбинации зарядов в препаратах комплексов фотосистемы 1 (ФС 1) из цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803. Кинетика абсорбционных изменений в комплексах ФС 1, высушенных в трегалозной матрице, была исследована при различных уровнях влажности (г). Показано, что при комнатной температуре ФС 1 в сухой трегалозной матрице была стабильна и функционально активна в течение многих месяцев. Кинетика рекомбинации электрона, измеренная на длине волны 820 нм и отражающая восстановление фотоокисленного первичного донора электрона в ФС 1, димера хлорофилла P700, от терминальных железо-серных кластеров, была сходной при измерении в растворе и в трегалозной матрице при высоком уровне влажности г=63%. Кинетика спада сигнала P700⁺ ускорилась и становилась более гетерогенной при дегидратации. Анализ кинетики рекомбинации с помощью метода максимальной энтропии (MEM) показал, что при дегидратации вклад медленной компоненты с характерным временем ~200 мс уменьшался одновременно с увеличением вклада быстрой компоненты с τ 150 мкс. При относительной влажности г<53% в кинетике обнаруживались две новые распределенные компоненты во временном диапазоне 1–50 мс. Влияние дегидратации ФС 1 в трегалозной матрице при комнатной температуре сходно с температурной зависимостью кинетики рекомбинации зарядов в ФС 1 в растворе в присутствии криопротекторов. Этот эффект предполагает нарушение динамики белка ФС 1 в трегалозной матрице. Наблюдаемое ускорение кинетики рекомбинации зарядов при дегидратации обусловлено ингибированием прямого переноса электрона от вторичного акцептора филлохинона A₁ на железо-серные центры. В наиболее сухих образцах ФС 1, при влажности г=11%, основная кинетическая компонента (~τ 150 мкс) обусловлена обратным переносом электрона от восстановленного филлохинона A₁ на P700⁺. Похожие эффекты наблюдались ранее на бактериальных реакционных центрах.

Влияние вязкости среды на синтез АТФ хлоропластами и гидролиз АТФ сопрягающим фактором CF_1
Effect of medium viscosity on ATP synthesis by chloroplasts and ATP hydrolysis by coupling factor CF_1

Мальян А. Н., Опанасенко В. К., Карташов И. М.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
 e-mail: A_Malyan@issp.serpukhov.su, тел: +7 4967 73-17-38

Высокая концентрация белка в строме хлоропласта и сложная организация его структуры указывают на важную роль диффузии субстратов и продуктов в процессах синтеза и гидролиза АТФ. Для оценки влияния диффузии в представленной работе исследовано влияние вязкости среды на кинетику циклического фотофосфорилирования в присутствии феназинметасульфата, а также гидролиза АТФ тилакоидными мембранами и изолированным сопрягающим фактором CF_1 . Установлено, что при добавлении в реакционную среду увеличивающих вязкость реагентов (сахарозы, декстрана или полиэтиленгликоля (ПЭГ)) в концентрациях, не вызывающих разобщения, скорость синтеза АТФ уменьшается. Декстран и ПЭГ ингибировали синтез АТФ на 50% при концентрациях гораздо меньших (5–10%), чем сахароза (30–40%). Эффективная константа Михаэлиса (K_m) для АДФ с возрастанием вязкости увеличивалась в 2–4 раза, при этом максимальная скорость реакции практически оставалась постоянной. Полученные данные свидетельствуют о функционировании процесса синтеза АТФ в диффузионно-контролируемом режиме.

Исследовано влияние вязкости реакционной среды, создаваемой сахарозой или бычьим сывороточным альбумином, на кинетику гидролиза АТФ сопрягающим фактором хлоропластов CF_1 . Введение сахарозы или альбумина снижало максимальную скорость Ca^{2+} -зависимой АТФазной реакции при сохранении величины константы Михаэлиса (K_m), что согласуется с предположением о влиянии вязкости на активность фермента. В случае Mg^{2+} -зависимой АТФазной реакции, стимулированной сульфитом и этанолом, присутствие сахарозы повышало K_m , не меняя максимальную скорость, величина которой многократно превосходила скорость Ca^{2+} -зависимого гидролиза. Низкие концентрации альбумина стимулировали, а более высокие ингибировали реакцию, тогда как рассчитанная экстраполяцией максимальная скорость возрастала. Предполагается, что стимулирующее действие альбумина обусловлено оптимизацией структуры фермента, тогда как ингибирование – диффузионным характером торможения. Обсуждаются молекулярные механизмы ингибирующего действия вязкости. Принимая во внимание высокие концентрации белка в строме хлоропластов, высказывается предположение, что кинетические параметры гидролиза и, вероятно, синтеза АТФ *in vivo* должны сильно отличаться от параметров, полученных при значениях вязкости среды, приближающихся к вязкости воды.

Влияние дисахарида трегалозы на реакции переноса электрона и протона в комплексах фотосистемы 2
The effect of trehalose on vectorial electron and proton transfer reactions in photosystem II

Мамедов М. Д.¹, Носикова Е. А.², Семенов А. Ю.¹

¹ – НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, стр.40, Москва, 119991, Россия

² – Факультет биоинженерии и биоинформатики Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, стр.40, Москва, 119991, Россия
 * e-mail: mahirmamedov@yandex.ru; тел: +7 495 939-31-88

Светозависимое функционирование пигмент-белкового комплекса фотосистемы 2 (ФС 2) непосредственно сопряжено с переносом зарядов через мембрану, который приводит к образованию трансмембранной разности электрических потенциалов. В данной работе нами было изучено влияние дисахарида трегалозы, который является уникальным по своим физико-химическим свойствам на перенос электрона и протона в кислород-выделяющем комплексе ФС 2 с помощью прямого электрометрического метода. Было продемонстрировано, что при однократном срабатывании фермента, трегалоза значительно ускоряет кинетику электрогенных реакций, обусловленных переносом протонов при $S_2 \rightarrow S_3$ и $S_4 \rightarrow S_0$ переходах комплекса окисления воды ФС 2. В то время как добавление трегалозы практически не влияет на реакцию переноса электрона от марганцевого кластера к нейтральному редокс-активному тирозину Y_z ($S_1 \rightarrow S_2$ переход). Мы предполагаем, что в присутствии трегалозы комплекс окисления воды находится в более оптимальной конформации для эффективного функционирования в результате изменения гидратации.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-14-00789) и частично РФФИ (грант 14-04-00519).

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА МЕТОДОМ МОНТЕ-КАРЛО

Маслаков А., Антал Т. К., Ризниченко Г. Ю.

Биологический факультет Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: taras_an@mail.ru; тел.: +7 495 939-50-29

Альтернативой кинетическим моделям первичных реакций фотосинтеза является метод Монте-Карло, позволяющий моделировать процессы переноса электрона в ансамблях фотосинтетических реакционных центров, величина которых сравнима с количеством реакционных центров в клетке фотосинтезирующих организмов (5–10 млн). Данный метод позволяет учитывать гетерогенность моделируемого ансамбля, при этом добавление новых путей переноса электрона в модель не требует изменения структуры всей модели. Подход Монте-Карло позволяет «напрямую» проверять на модели отклик системы на те или иные изменения структуры и функциональной организации фотосинтетического аппарата, в том числе в результате стрессовых воздействий различной природы.

В настоящей работе представлена модель световой индукции электронного транспорта в фотосинтетической цепи, включающей ФС1, ФС2, цитохромный комплекс b_6/f , а также пластохинон, пластоцианин и ферредоксин в определенных соотношениях. При моделировании электронного транспорта в ФС2 учитывались переходы между четырьмя состояниями кислород-выделяющего комплекса, а также взаимодействия различных редокс состояний пластохинона с Qb-сайтом. Рассчитанные из модели светоиндуцированные изменения выхода флуоресценции хлорофилла были сопоставлены с экспериментально наблюдаемыми кривыми (ОЛР), а рассчитанные изменения редокс состояния пигмента P_{700} в ФС1 – с изменениями поглощения на длине волны 820 нм. Модельные кривые индукции флуоресценции и редокс переходы P_{700} показали хорошее соответствие с экспериментально полученными кривыми, измеренными, в том числе, при разных интенсивностях актиничного света, в присутствии важных фотосинтетических ингибиторов и акцепторов электронов, таких как диурон, дибромотимохин и метилиологен, а также в условиях термической и химической инактивации донорной стороны ФС2. В рамках модели изучен вклад отдельных реакций электронного транспорта в фазы индукции флуоресценции на ОЛР кривой.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПРЕВРАЩЕНИЯ ЭНЕРГИИ ЗЕЛЁНЫМИ ВОДОРΟΣЛЯМИ *CHLORELLA VULGARIS* В ПРИСУТСТВИИ НАНОАКВАХЕЛАТОВ

СЕЛЕНА

Михайленко Н. Ф., Шевченко Ю. В., Золотарёва Е. К.

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, Киев, 01601, Украина;
e-mail: membrana@ukr.net; тел.: +38 044 234-50-41

Селен (Se) является необходимым микроэлементом не только для гетеротрофных организмов, но и для многих зелёных водорослей [1], принимая участие в антиокислительных процессах. В живых организмах Se находится преимущественно в форме селеносодержащих белков, замещая атомы серы в некоторых остатках цистеина и метионина. Обогащённая селеном биомасса водорослей находит применение в качестве кормовой добавки, для повышения содержания Se в почвах и пр. [2].

В настоящее время для обогащения растительной массы микроэлементами активно применяются нанотехнологии. Помимо коллоидных растворов наночастиц, перспективными наноматериалами являются наноаквахелаты биогенных элементов – наночастицы, лигандами которых являются молекулы воды и/или карбоновых кислот. Гидратированные наночастицы обладают способностью легко проникать сквозь мембраны клеток и затем освобождаться от лигандов, что создаёт условия для их высокой активности при сохранении экологической чистоты. В настоящее время промышленно производятся и широко используются сверхчистые нанокислоты основных микроэлементов [3]. Целью настоящей работы было исследование влияния карбоксиллированных лимонной кислотой наноаквахелатов селена на интенсивность протекания фотохимических реакций у широко применяемой во многих отраслях биотехнологии зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer.

Водоросли выращивали на жидкой минеральной среде Тамия при температуре 25–26°C и круглосуточном освещении с плотностью потока квантов ФАР 40–42 мкмоль·м⁻²·с⁻¹. При посеве культур вносили раствор карбоксиллированных лимонной кислотой наноаквахелатов селена до конечной концентрации 0,2, 0,4, 2 либо 4 мг/л. Пробы отбирали при посеве и через каждые 6 суток роста. Состояние фотосинтетического аппарата оценивали по параметрам варибельной флуоресценции хлорофилла а с помощью флуориметра Xe-PAM (Walz).

Добавление наноаквахелатов Se в концентрациях 0,4–4 мг/л вызывало 1,5-кратный прирост биомассы водорослей. Внесение нанокислот Se (0,4–4 мг/л) в среду культивирования водорослей приводило к кратковременному повышению значений F_v/F_m , а также Φ_{PSII} в основном за счёт возрастания F_v/F_m . Степень проявления и продолжительность действия селена возрастали по мере повышения его концентрации. Под действием наноаквахелатов Se в концентрациях 2 либо 4 мг/л на 6 сутки возрастал также показатель qP, а в присутствии 4 мг/л наноаквахелатов Se в течение всего эксперимента показатели нефотохимического тушения флуоресценции были достоверно повышены. Таким образом, было установлено, что карбоксиллированные лимонной кислотой наноаквахелаты селена в концентрациях от 0,4 до 4 мг/л повышают эффективность протекания фотохимических реакций в ФСII *C. vulgaris* на начальном этапе роста культуры.

1. Pilon-Smits E.A.H., Quinn C.F. // Cell Biology of Metals and Nutrients. 2010, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 225–241

2. Doucha J. et al. // Applied Microbiology and Biotechnology. 2009, v.83, 1001–1008

3. Борисевич В.Б., Каплуненко В.Г., Косинов Н.В. и др. Наноматериалы и нанотехнологии в ветеринарной практике. 2012, ВД «Авіцена», 512 с.

СОСТОЯНИЕ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ КЛЕТОК *EUGLENA GRACILIS* ПРИ МИКСОТРОФНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Мокросноп В. М., Полищук А. В., Золотарева Е. К.

Институт ботаники им. М. Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, Киев, 01601, Украина
e-mail: membrana@ukr.net, тел/факс + 380442723231

E. gracilis способна ассимилировать на свету экзогенные источники углерода, в частности, этанол и глутамат. Этанол катаболизируется в митохондриях и цитоплазме клеток *E. gracilis* с образованием двух молекул восстановленного НАДН и одной молекулы ацетата (Yoyal-Sanchez, 2011). Избыток восстановительных эквивалентов может направляться в пластиды, изменяя редокс-состояние фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Из-за стимуляции митохондриального дыхания содержание кислорода в среде инкубации *E. gracilis* значительно снижается и, как следствие, замедляются окислительные процессы в клетках. В этих условиях в хлоропластах *E. gracilis* регистрируется темновое восстановление пула пластохинонов (Пх) при участии НАДН-дегидрогеназы, поскольку при дефиците кислорода замедляется окисление пластохинона терминальной хлоропластной оксидоредуктазой. Ранее было показано, что восстановление Пх ускоряется в анаэробных условиях (Nellaepalli, 2012), но кинетика этого процесса осталась не исследованной. Целью данной работы был анализ состояния фотосинтетического аппарата и кинетики изменений редокс-состояния Пх в миксотрофных культурах *E. gracilis*, выращенных в присутствии этанола или смеси этанола и глутамата.

Микроводоросли *E. gracilis* var. *Bacillaris* культивировали автотрофно в течение 6 суток на жидкой минеральной среде (Cramer and Myers, 1952) при интенсивности освещения 100 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ и температуре 27°C. На 7-е сутки к аликватам суспензии добавляли субстраты: этанол (100 мМ), метанол (100 мМ), смесь этанола (100 мМ) с глутаматом натрия (40 мМ). Темновое восстановление пула Пх и состояние фотосинтетического аппарата клеток исследовали методом индукции флуоресценции хлорофилла на флуориметре ХЕ-РАМ (Walz, Германия). Редокс-состояние пула Пх оценивали по изменению F_0 в темноте после выключения действующего света интенсивностью 500 мкмоль·м⁻²·с⁻¹, а фотосинтетическую активность клеток – по изменению показателей F_v/F_m , qP , Φ_{PSII} . Концентрацию НАД(Ф)Н определяли по уровню флуоресценции.

Показано, что темновое восстановление пула Пх увеличивалось в миксотрофно выращенных клетках в ряду: метанол < этанол < этанол+глутамат. Прирост НАД(Ф)Н относительно контрольного образца за сутки при этом составил 250, 233,3 и 316,6 нг/мг хлорофилла. После продувки образцов азотом, ускоряющей их переход к анаэробному существованию, скорость темнового восстановления Пх не изменялась в контрольном варианте и существенно возрастала в миксотрофных культурах.

Максимальный квантовый выход F_v/F_m в клетках *E. gracilis*, инкубировавшихся в присутствии этанола и этанола с глутаматом, снижался на 4 и 10%, соответственно. Фотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла qP увеличивалось на 49 и 72%, а квантовый выход электронного транспорта Φ_{PSII} – на 42 и 58% в клетках *E. gracilis*, выращенных в присутствии этанола и смеси этанола с глутаматом, соответственно.

Таким образом, ассимиляция экзогенных субстратов способствует возрастанию восстановительного потенциала клеток *E. gracilis*, что отражается на редокс-состоянии электрон-транспортной цепи хлоропластов и фотосинтетической активности клеток.

НАКОПЛЕНИЕ ТОКОФЕРОЛОВ В КЛЕТКАХ *EUGLENA GRACILIS* ПРИ МИКСОТРОФНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Мокросноп В. М., Золотарева Е. К.

Институт ботаники им. М. Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, Киев, 01601, Украина
e-mail: membrana@ukr.net, тел/факс + 380442723231

Euglena gracilis – одноклеточная жгутиковая микроводоросль, в больших количествах накапливают биологически активные соединения: белки, полиненасыщенные жирные кислоты, прекурсоры тетратерпеноидов, каротиноидов, витаминов А, С и Е, парамилон – полисахарид с иммуностимулирующими и иммунопротекторными свойствами, и поэтому *E. gracilis* представляет интерес как перспективный объект биотехнологии. *E. gracilis* может расти как автотрофно с использованием CO₂ как единственного источника углерода, так и гетеротрофно в темноте, утилизируя экзогенные органические субстраты. Вариация условий культивирования позволяет существенно повысить выход α-токоферола у *E. gracilis* до уровня известных продуцентов витамина Е (Ogbonna J., 2009). Согласно данным литературы, этанол, а также комбинация этанола с глутаматом способствуют накоплению α-токоферола в клетках *E. gracilis* при гетеротрофном выращивании культуры (Rodriguez Zavala J. et al., 2010). Влияние миксотрофного культивирования на аккумуляцию токоферолов исследовано недостаточно. Целью работы было изучение накопления токоферолов в клетках *E. gracilis* при миксотрофном культивировании в присутствии этанола, глутамата или их смеси. Оценивались также содержание хлорофиллов (хл) и уровень кислорода в среде, которые, согласно литературным данным, могут коррелировать с концентрацией α-токоферола в клетках *E. gracilis*.

Клетки *E. gracilis* выращивали без перемешивания и аэрации, при 25°C и круглосуточном освещении с интенсивностью 100 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ на солевой питательной среде (Cramer and Myers, 1952) в присутствии этанола (100 ммоль, «Эт»), глутамата натрия (30 мМ, «Гт»), смеси этих соединений («ЭтГл») или без этих добавок («Контроль»). Содержание токоферолов определяли на 20-е сутки культивирования в основном согласно ГОСТ-30417-96, концентрацию клеток – путем подсчета их в камере Горяева, количество хл – спектрофотометрически в ацетоновых экстрактах клеток (Lichtenthaler, 1987), уровень кислорода – амперометрически с помощью компьютеризированного полярографа, оснащенного электродом Кларка.

Исследование показало, что накопление токоферолов в клетках культур *E. gracilis* на двадцатые сутки миксотрофного культивирования в присутствии этанола и глутамата не стимулировалось по сравнению с контролем. Концентрация клеток в культуре *E. gracilis* значительно (~ в 6 раз) возрастала в присутствии смеси субстратов (ЭтГл). При этом в клетках культуры ЭтГт накапливалось большее количество токоферола, чем в вариантах Эт и Гт. Содержание кислорода в суспензии клеток, инкубировавшихся с Гт, оставалось высоким, тогда как в присутствии этанола (Эт, ЭтГт) оно существенно снижалось по сравнению с контролем. Содержание хл было наибольшим в клетках варианта Эт, а наименьшим – в контрольных образцах.

Результаты работы показали, что накопление токоферолов клетками *E. gracilis* не зависит от содержания хл и концентрации кислорода в культуре. Выход токоферолов в пересчете на единицу объема миксотрофной суспензии возрастал за счет большего накопления биомассы и был самым высоким у варианта ЭтГт.

ФЕМОСЕКУНДНАЯ ДИНАМИКА ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ РАЗДЕЛЕНИЯ ЗАРЯДОВ В ФОТОСИСТЕМЕ 1

Femtosecond dynamics primary processes in photosystem 1

Надточенко В. А.^{1,2,3}, Шелаев И. В.¹, Гостев Ф.Е.¹, Мамедов М. Д.⁴, Семенов А. Ю.⁴,
Шувалов В. А.^{1,4,5}

- 1 – Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, 119991 Москва, ул. Косыгина, 4, Россия, e-mail: nadtochenko@gmail.com
- 2 – Институт фундаментальных проблем химической физики РАН, г. Черноголовка, 142432, Россия
- 3 – Химический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, Москва, 119991, Россия
- 4 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского, 119992 Москва, Россия; e-mail: shuvalov@issp.serpukhov.su, semenov@genebee.msu.ru
- 5 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, 142290, Пушкино Московской обл., ул. Институтская, 2, Россия.

Методами фемтосекундной лазерной спектроскопии изучена динамика первичных процессов переноса энергии и электрона в РЦ ФС1 *Synechocystis sp.* PCC 6803 мутантных штаммов ANL/BNL, ANM/BNM, ANH/BNH; получены экспериментальные данные о динамике дифференциальных спектров в 8-ти мутантных штаммах ANL/BNL, ANM/BNM, ANH/BNH ФС1 и в мутантных штаммах AML/BML; получены новые знания о первичном разделении зарядов в реакционном центре и о вероятности переноса электрона по двум цепям переноса электрона; разработана методика фемтосекундной лазерной спектроскопии адаптированная для исследования ФС1 с заменой филлохинона на измененные хиноны; установлена зависимость константы скорости переноса от акцептора А0 к А1 от редокс потенциала хинона; дан теоретический анализ зависимости константы скорости переноса от акцептора А0 к А1 от редокс потенциала хинона в рамках теории переноса электрона. Установлено, что во всех мутантах на ранних временах задержки ~100 фс наблюдаются спектральные признаки образования первичной ион-радикальной пары $P700^+A0^-A1$, форма дифференциальных спектров имеет одинаковый мотив. На больших временах задержки ~500 пс во всех мутантах, где мутацией была затронута ветвь В дифференциальные спектры мутантов близки по форме и интенсивности к спектрам дикого типа. Напротив, в мутантах, где мутация возмущает Хл первичного акцептора А0 в ветви А, дифференциальные спектры существенно отличаются от спектра дикого типа. Эти факты интерпретируются в предположении асимметрии переноса электрона по ветвям А и В в *Synechocystis sp.* PCC 6803 и различного выхода вторичной ион-радикальной пары $P700^+A0A1^-$.

Работа поддержана проектом РФФИ 13-04-40298-Н КОМФИ.

НИЗКОТЕМПЕРАТУРНАЯ ФОСФОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ИЗОЛИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТАХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ФС 2

Неверов К. В.^{1,2}, Красновский А. А.^{1,2}, Забелин А. А.³, Шувалов В. А.³,
Шкурпатов А. Я.³

- 1 – Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Ленинский пр-т, 33, Москва, 119071, Россия. e-mail: neverovk@mail.ru
- 2 – Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Воробьевы Горы, д.1, стр.12, Москва, 119992, Россия.
- 3 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия.

Фосфоресценция, сопровождающая излучательную дезактивацию триплетного состояния хлорофилла *a* (Хл), была зарегистрирована при 77 К в выделенных из шпината высокоочищенных препаратах реакционных центров фотосистемы 2 (РЦ ФС 2) [1]. Максимум главной полосы спектра фосфоресценции наблюдался при 952 нм, что соответствует энергии триплетного состояния 1,30 эВ; полуширина полосы составляла 21,5 нм. Время жизни фосфоресценции равно $1,5 \pm 0,1$ мс. Квантовый выход практически не отличался от квантового выхода фосфоресценции Хл, солюбилизированного в 2% водном растворе детергента Тритона X100. В спектре возбуждения фосфоресценции зарегистрированы максимумы, совпадающие с максимумами Хл, феофитина *a* (Фео) и β -каротина в низкотемпературном спектре поглощения РЦ ФС 2. Установлено, что интенсивность фосфоресценции при 952 нм сильно зависит от редокс-состояния РЦ. Замораживание препаратов РЦ на свету, как в присутствии силикомолибдата (вызывающего фотонакопление окисленного состояния первичного донора P680), так и в присутствии дитионита (что приводит к фотовосстановлению фотоактивного феофитина Фео_{DI}) сопровождалось резким падением интенсивности фосфоресценции.

Полученные данные позволяют заключить, что наблюдаемая фосфоресценция излучается триплетным состоянием Хл (возможно, мономерного хлорофилла ХлD1 в активной ветви пигментов РЦ), которое эффективно заселяется в результате рекомбинации зарядов в фотоиндуцированной ион-радикальной паре $P680^+Feo_{DI}^-$.

[1] Neverov K.V., Krasnovsky A.A. Jr., Zabelin A.A., Shuvalov V.A., Shkuropatov A.Ya. // Photosynthesis Research. 2015; DOI: 10.1007/s11120-015-0105-1

ТЕМПЕРАТУРНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ВРЕМЕНИ ЖИЗНИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ТРИПТОФАНИЛОВ В РЦ *Rb. SPHAEROIDES* ЗАМОРАЖЕННЫХ ДО 80K В ТЕМНОТЕ ИЛИ НА АКТИВИРУЮЩЕМ СВЕТУ

Нокс П. П., Корватовский Б. Н., Гришанова Н. П., Сейфуллина Н. Х., Пашенко В. З., Рубин А. Б.

Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: knox@biophys.msu.ru; тел: +7 495 939-12-38

Флуоресцентная спектроскопия триптофанилов в составе белков широко используется в качестве природного внутреннего индикатора конформации белков и их динамики. Важную информацию о роли структурно-динамического компонента в функционировании фотосинтетических реакционных центров (РЦ) предоставляет параллельное изучение температурных зависимостей динамических и функциональных показателей. Одним из подходов является сравнение влияния замораживания РЦ пурпурных бактерий до криогенных температур в темноте или на активирующем свете в условиях реализации обратимого фотопереноса электрона между первичным донором – димером бактериохлорофилла (Р) и первичным хинонным акцептором (Q_A) РЦ фотоактивных белков. В таких экспериментах регистрируется существенная разница в значениях и температурных зависимостях времени темновой рекомбинации фотоокисленного Р и фотовосстановленного Q_A при размораживании РЦ охлажденных до 77K в темноте или на активирующем свете. Различия объясняются на основе индуцируемых светом переходов РЦ между различными конформационными состояниями, которые могут модулироваться температурным фактором. В данной работе проведено исследование в аналогичных условиях времени жизни триптофановых остатков в структуре РЦ пурпурных бактерий *Rb. sphaeroides*. Использовали установку счета фотонов TCSPC Simple Tau 140. Флуоресценцию возбуждали лазером EPLED (Edinburg Photonics), 280 нм, длительность импульса 870 пс, спектральная ширина – 10 нм. Регистрация флуоресценции осуществлялась с помощью 16-канального многоанодного фотоумножителя Hamamatsu K5900. Кинетические кривые флуоресценции хорошо аппроксимировались модельной кривой в двухкомпонентном приближении, среднее время жизни (τ_m) вычисляли как сумму произведений амплитуд и времен соответствующих кинетических компонентов. При 295K для РЦ в буфере и водно-глицериновой среде (70% глицерина) τ_m составляло при 330 нм 1,5–2 нс. В охлажденных до 80K в темноте РЦ τ_m удлинилось до 2,5–3 нс, в охлажденных на свету РЦ оно было на 0,2–0,3 нс короче. Различия в τ_m сохранялись при последующем нагревании этих образцов до ~250K, после чего они нивелировались. В сухой пленке РЦ τ_m при 295K составляло ~0,8 нс, при 80K – ~0,9 нс. Выраженной разницы при охлаждении в темноте или на свету сухой пленки РЦ не выявлено. Полученные различия при охлаждении в темноте или на свету гидратированных образцов РЦ возможно связаны с локальными изменениями микроокружения триптофанилов в структуре РЦ в результате световой активации, фиксируемыми при замораживании РЦ на свету.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты № 13–04–00403 и 15–04–01536

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОХИМИЧЕСКОГО (P680) И НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО (P680⁺) ТУШЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ В ФСII

Пашенко В. З.¹, Горохов В. В.¹, Гришанова Н. П.¹, Максимов Е. Г.¹, Мамедов М. Д.²

¹ – Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: vz.paschenko@gmail.ru; тел: +7 495 939-11-07

² – Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, Москва, 119992, Россия

Время жизни и квантовый выход флуоресценции комплексов ФСII зависят от эффективности фотохимического и нефотохимического тушения. Фотохимическое тушение флуоресценции антенны ФСII осуществляется путем захвата возбуждений адаптированными к темноте [P680Q_a] состояниями РЦ. При интенсивном импульсном возбуждении генерируются как заметное количество триплетных состояний каротиноидов в антенне, так и “закрытые” состояния РЦ [P680⁺Q_a], которые являются нефотохимическими тушителями флуоресценции антенны. Общепринято считать, что эффективность тушения флуоресценции антенны состояниями реакционного центра [P680Q_a] и [P680⁺Q_a] идентична. В справедливости этой “догмы” усомнился Г. Ренгер, который показал, что константа скорости тушения флуоресценции состоянием [P680⁺Q_a] в 2 раза больше константы скорости тушения состоянием [P680Q_a]. К такому заключению он пришел при анализе изменения выхода флуоресценции обработанных гидроксиламином мембранных фрагментов ФСII после 10 нс возбуждения на временной шкале 100 нс – 10 с. Оказалось, что для наилучшей аппроксимации экспериментальных данных необходимо предположить, что эффективность нефотохимического тушения флуоресценции антенны состоянием [P680⁺Q_a] должна быть в 2 раза большей, чем тушение состоянием [P680Q_a].

В данной работе мы в прямом эксперименте измерили константы скорости фотохимического k_{P680} и нефотохимического k_{P680^+} тушения флуоресценции мембранных фрагментов (BBY частицы) фотосистемы II, а также кислородвыделяющих коровых частиц ФСII и коровых частиц, лишенных кислородвыделяющего комплекса. В “темновом” состоянии РЦ измеряли кинетику затухания флуоресценции антенны при низкоинтенсивном возбуждении ($\lambda=532$ нм) и регистрации свечения с помощью электроннооптического преобразователя. Частота возбуждения образца составляла 1 Гц, в процессе измерения образец непрерывно перемешивали. Для создания “закрытого” [P680⁺Q_a] состояния РЦ было использовано высокоинтенсивное импульсное ($\lambda=532$ нм) предвозбуждение образца (накачка), опережающее на 8 нс измерительный импульс света. В этих условиях под действием импульса накачки в РЦ формировалось состояние [P680⁺Q_a], после чего кинетика флуоресценции антенны измерялась с помощью пробного слабого пикосекундного импульса света, подаваемого на образец через 8 нс после импульса накачки. Оказалось, что эффективность тушения флуоресценции антенны фотоактивным пигментом РЦ в окисленном (P680⁺) состоянии в ~1.5 раза выше, чем эффективность тушения нейтральным (P680) состоянием РЦ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 14–04–01536.

РОЛЬ ФИЛЛОХИНОНА В ПРОЦЕССАХ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА В ФОТОСИСТЕМЕ I

Петрова А. А.¹, Босхмджиева Б. К.², Трубицин Б. В.³, Тихонов А. Н.³, Мамедов М. Д.¹, Семенов А. Ю.¹

1 – НИИ Физико-химических проблем биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, дом 1, стр. 40, Москва, 119992, Россия
e-mail: draparnaldia@gmail.com; тел: +7 495 939-31-88

2 – Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, дом 1, стр. 73, Москва, 119234, Россия

3 – Физический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, дом 1, стр. 2, Москва, 119991, Россия

Электрон-транспортная цепь фотосистемы I (ФС I) состоит из шести молекул хлорофилла, двух молекул филлохинона и трех железо-серных кластеров. Одним из наиболее интересных кофакторов переноса электрона является филлохинон, поскольку именно реакция переноса электрона от хинона к железо-серным кластерам является скоростью-лимитирующей. В 2001 году был получен и охарактеризован цианобактериальный мутант *menB*, у которого прерван биосинтез филлохинона и в соответствующий сайт связывания встраивается пластохинон. Пластохинон, в свою очередь, может быть в водной среде легко замещен другими хинонами. Данный объект позволяет изучать влияние среднеточечного потенциала на процессы переноса электрона в ФС I.

Прямым электрометрическим методом нами было показано, что замещение пластохинона на 2,3-дихлор-1,4-нафтохинон приводит полной остановке переноса электрона на уровне хинонного акцептора. Это объясняется тем, что редокс потенциал данного хинона таков, что дальнейший перенос электрона на железо-серные кластеры становится энергетически невыгодным и происходит рекомбинация электронов на P700.

Нами также были изучены процессы взаимодействия ФС I с искусственным акцептором электронов метилвиологеном. Методом импульсной спектрофотометрии при длине волны 820 нм было показано, что добавление метилвиологена приводит к увеличению вклада медленной компоненты в кинетику рекомбинации зарядов в случае *menB* с пластохиноном в сайте связывания A₁, что говорит об эффективном акцептировании электронов. В случае *menB* с 2,3-дихлор-1,4-нафтохиноном увеличение вклада медленной компоненты наблюдается только в присутствии высокой концентрации метилвиологена, что свидетельствует о том, что в этом случае происходит взаимодействие метилвиологена с хинонным акцептором ФС I.

Эти данные коррелируют с результатами, полученными методом времязрешенной ЭПР-спектроскопии в X-полосе.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСИТОННЫХ СОСТОЯНИЙ В ТРУБЧАТЫХ АГРЕГАТАХ ХЛОРОСОМ Distinctive features of the exciton structures in chlorosomal tubular aggregates

Пищальников Р. Ю.¹, Krzysztof Pawlak^{2,3}, Petar Lambrev³, Michael Reus², Gyöző Garab³, Yuliya Miloslavina³, Alfred R. Holzwarth²

1 – Институт общей физики им. А. Н. Прохорова, РАН, ул. Вавилова. 38, Москва, Россия

2 – Max-Planck-Institute for Chemical Energy Conversion, Stiftstr. 34-36, D-45470 Mülheim an der Ruhr. Germany

3 – Hungarian Academy of Sciences, Biological Research Centre, Szeged, Hungary
e-mail: rpishchal@kapella.gpi.ru

Хлоросомы являются единственными в своём роде светособирающими комплексами фотосинтезирующих организмов, которые не содержат белковой матрицы в качестве основы, задающей пространственную конфигурацию молекул бактериохлорофилла в антенне. Такие антенные комплексы позволяют зелёным бактериям осуществлять эффективный фотосинтез в условиях экстремально низкой освещённости. По сравнению с антеннами высших растений, пурпурных бактерий и цианобактерий они обладают необычными свойствами. Молекулярная структура, оптические спектры и миграция энергии в хлоросомах изучены не достаточно подробно и до сих пор являются предметом интенсивных дискуссий [1–6].

Для исследования зависимости экситонной динамики возбуждённых состояний от молекулярной структуры в хлоросомах дикого типа и мутантах (QRU), выделенных из *C. tepidum*, мы использовали различные методы абсорбционной спектроскопии: линейное поглощение, круговой дихроизм (CD и ACD) и линейный дихроизм (LD). Основываясь на недавно предложенном способе упаковки молекул пигментов в антенне (syn-anti Bchl stacking) [2,6] и используя релаксационную теорию Редфилда, были рассчитаны линейные оптические свойства и проведены оценки времён жизни наиболее интенсивных экситонных уровней для трубчатых агрегатов хлоросом дикого типа и мутантов bchQRU. Сравнение теоретических и экспериментальных данных позволяет оценить основные параметры квантовой модели миграции энергии в трубчатых агрегатах и высказать предположения о причинах их столь высокой эффективности.

[1] A.R.Holzwarth, K.Griebenow, and K.Schaffner. // J. Photochem. Photobiol. A, 1992, v.65, 61.

[2] S.Ganapathy, G.Oostergetel, M.Reus, Y.Tsukatani, A.Gomez Maqueo Chew, F.Buda, D.A.Bryant, A.R.Holzwarth, and H.J.M.de Groot. // Biochemistry, 2012, v.51, 4488.

[3] Y.Tian, R.Camacho, D.Thomsson, M.Reus, A.R.Holzwarth, and I.G.Scheblykin. // J. Am. Chem. Soc., 2011, v.133, 17192.

[4] A.Jesorka, A.R.Holzwarth, A.Eichhöfer, C.M.Reddy, D.Kinoshita, H.Tamiaki, M.Katterle, J.V.Naubron, and T.S.Balaban. // Photochem. Photobiol. Sci., 2012, v.11, 1069.

[5] J.M.Linnanto and J.E.I.Korppi-Tommola. // The Journal of Physical Chemistry B, 2013.

[6] S.Ganapathy, G.T.Oostergetel, P.K.Wawrzyniak, M.Reus, A.G.M.Chew, F.Buda, E.J.Boekema, D.A.Bryant, A.R.Holzwarth, and H.J.M.de Groot. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009, v.106, 8525.

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНЫХ ДОЖДЕЙ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ ГОРОХА

Полищук А. В., Водка М. В., Белявская Н. А., Хомочкин А. П., Золотарева Е. К.

Институт ботаники им. М. Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, Киев, 01601, Украина

e-mail: membrana@ukr.net, тел/факс + 380442723231

Кислотные дожди (КД) являются наиболее распространенным следствием антропогенного загрязнения окружающей среды, затрагивающим значительную часть территорий индустриально развитых государств. Кислотные осадки в виде дождя, снега, тумана или росы пагубно влияют на состояние природных экосистем, негативно влияют на растительность либо непосредственно, повреждая, главным образом, листья, либо косвенно – через почву и корневую систему, способствуя более высокой растворимости таких токсичных металлов, как кадмий, ртуть и свинец. Воздействие КД на растения приводит к характерным симптомам повреждения листьев, биохимическим, анатомическим и ультраструктурным изменениям фотосинтетического аппарата (Gabara et al., 2003; Stoyanova, Velikova, 1997; Tarhanen, 1998; Wen et al., 2011). Под действием КД изменяется способность растений фиксировать CO_2 при фотосинтезе и ингибируется синтез глюкозы и других сахаров (Velikova et al., 1999), снижается содержание хлорофиллов *a* и *b* (Neufeld et al., 1985; Shaukat, Khan, 2008).

Целью настоящей работы являлось изучение влияния имитированного кислотного дождя на функциональные и ультраструктурные характеристики фотосинтетического аппарата листьев гороха, а также проверка предположения о роли тилакоидной карбоангидразы (КА) в негативном влиянии КД на фотохимическую активность хлоропластов.

В условиях лабораторной имитации кислотного дождя (ИКД) исследовались ультраструктура и функциональные показатели фотосинтетического аппарата (ФСА) листьев гороха. Листья 14-дневных растений гороха опрыскивали водным раствором NaNO_3 (0,2 мМ) и Na_2SO_4 (0,2 мМ), (рН 5,6, контрольный вариант), либо тем же раствором, подкисленным до рН 2,5 слабым эквивалентным раствором HCl и H_2SO_4 (кислотный вариант). Функциональные характеристики ФСА оценивали методом индукции флуоресценции хлорофилла. Показано уменьшение эффективности фотосинтетического электронного транспорта на 25%, что сопровождалось ростом квантового выхода тепловой диссипации избыточных квантов света на 85%. Ультраструктурные изменения хлоропластов после двух суток обработки листьев ИКД регистрировали методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). При этом наблюдались изменения в строении гран, неоднородность упаковки тилакоидов в гранах, что проявлялось в увеличении межтилакоидных промежутков и толщины гранальных тилакоидов по сравнению с контролем. В хлоропластах, изолированных из листьев, обработанных ИКД, был подавлен электронный транспорт, повышен уровень тепловой диссипации энергии света и подавлена миграция светособирающих пигмент-белковых комплексов, а также снижена КА активность. Выдвинуто предположение о возможной инактивации тилакоидной КА под воздействием ИКД и ее участии в ингибировании фотохимической активности хлоропластов. Полученные данные свидетельствуют о том, что кислотные дожди негативно влияют на фотосинтетический аппарат, нарушая мембранную систему хлоропластов.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФОТОСИСТЕМЫ 2 МУТАНТОВ *SYNECHOCYSTIS* PCC 6803 С РАЗЛИЧНЫМ РЕДОКС СОСТОЯНИЕМ ПЛАСТОХИНОНОВОГО ПУЛА

Проскурина О. В.¹, Бобычевцева Ю. В.², Кузьминов Ф. И.^{1,4}, Еланская И. В.¹, Фадеев В. В.²

¹ – Физический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, 119991 Москва

e-mail: olgavproskurina@gmail.com

² – Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, 119071 Москва

³ – Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, 119991 Москва

⁴ – Institute of Marine and Coastal Sciences, Rutgers, the State University of New Jersey, New Brunswick, New Jersey 08901, USA.

Для выяснения природы процессов, регулирующих активность ФС2 при переходных состояниях фотосинтетического аппарата цианобактерий, исследовали переменную флуоресценцию фотосистемы 2 (ФС2) клеток дикого типа цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803 и мутантов, у одного из которых (Ox^-) вследствие отсутствия терминальных оксидаз пула пластохинонов (PQ) был восстановлен, а у другого (SDH^-) из-за отсутствия сукцинатдегидрогеназы – окислен [1, 2]. Показано, что при темновой адаптации у клеток Ox^- выход переменной флуоресценции, измеренной в присутствии диурона при помощи флуориметра PAM-101, в 1,5 раза меньше такого же клеток дикого типа и SDH^- , но возрастает до уровня дикого типа после световой адаптации к дневному свету ($50 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 20 мин). Интенсивность полос ФС2 (683 и 692 нм) в 77К спектре флуоресценции клеток Ox^- после световой адаптации существенно выше по сравнению с таковой адаптированных к темноте клеток этого мутанта. Эти данные указывают на переход фотосинтетического аппарата Ox^- из состояния 2, характерного для темновых условий, в состояние 1 на свету. Подобные изменения активности ФС2 и 77К спектров флуоресценции не наблюдаются у клеток дикого типа и мутанта SDH^- .

Константы времени ре-окисления Q_A^- , рассчитанные по кинетике релаксации флуоресценции, измеренной в импульсном режиме флуориметром FIRE при возбуждении светом 470 или 590 нм, в клетках Ox^- в 3–4 раза выше, чем в клетках дикого типа и мутанта SDH^- . Освещение клеток Q_A^- непрерывным действующим светом 470 нм ($50 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) на фоне вспышек возбуждающего света ускоряет окисление Q_A^- , а выключение непрерывного света снижает скорость окисления Q_A^- до исходного уровня. Т.е. эффективное поглощение возбуждающего света фотосистемой 2 замедляет ре-окисление Q_A^- в клетках Ox^- с восстановленным пулом пластохинонов и приводит к увеличению относительного содержания закрытых реакционных центров. Непрерывный синий свет ускоряет линейный перенос электронов, что сопровождается ускорением ре-окисления Q_A^- и возрастанием доли открытых центров ФС2 у мутанта Ox^- . Полученные данные указывают на регуляцию активности ФС2 при изменении состояний фотосинтетического аппарата цианобактерий скоростью линейного переноса электронов через изменение редокс состояния хиноновых акцепторов ФС2 Q_A и Q_B .

1. Howitt, C.A., Cooley, J.W., Wiskich J.T., Vermaas, W.F.J. // 2001, Planta, v. 214, 46–56.

2. Bolychevtseva Y.V., Kuzminov F. I., Elanskaya I. V., Gorbunov M. Y., Karapetyan N.V., Biochemistry (Moscow), 2015, v. 80, 50–60.

**ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ ВОЗБУЖДЕНИЯ И ДЕСТРУКТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ
В ПЕРИФЕРИЙНЫХ СВЕТОСОБИРАЮЩИХ КОМПЛЕКСАХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ**
**Energy transfer and destructive processes in peripheral light-harvesting complexes
of purple bacteria**

Проскуряков И. И.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: pros@issp.serpukhov.su; тел: +7 4967 73-28-80, факс: +7 4967 33-05-32

Светособирающие (антенные) комплексы (ССК) фотосинтетических организмов выполняют функцию увеличения эффективного сечения поглощения реакционных центров (РЦ), поглощая кванты света и передавая энергию возбуждения на РЦ. Биологическая целесообразность требует, чтобы квантовый выход указанного процесса был максимальным. Однако для целого ряда пурпурных бактерий такое требование не соблюдается – вероятность переноса энергии от входящих в состав ССК каротиноидов (Кар) может принимать значения 0,2–0,3. Ранее было обнаружено, что некоторые пурпурные бактерии при освещении в полосу поглощения Кар в присутствии кислорода претерпевают окисление бактериохлорофилла ССК [1]. Механизм данного процесса остается неизвестным. В докладе сообщается о параллельных измерениях скорости фотоокисления бактериохлорофилла и нарастания сигнала ЭПР ловушек активных форм кислорода с использованием периферийных ССК LH2, выделенных из пурпурных бактерий *Alc. minutissimum*, *Rps. palustris*, *Rbl. acidophilus*, *Tch. tepidum* и *Ect. haloalkaliphila*. Во всех случаях два исследуемых процесса показывают значительную степень корреляции. Нами было показано, что возбуждение в полосу поглощения Кар хромофоров и периферийных ССК пурпурных бактерий, имеющих низкую эффективность переноса энергии, приводит к появлению сигналов ЭПР, принадлежащих молекулам каротиноидов в триплетном состоянии. Заселение $^3\text{Кар}$ происходит по практически мгновенному механизму синглет-триплетного деления возбуждения. Молекулы каротиноидов обычно рассматриваются как тушители триплетных состояний хлорофиллов. Однако при числе двойных связей меньше 10 энергия $^3\text{Кар}$ становится достаточной для заселения синглетного кислорода при взаимодействии с $^3\text{O}_2$. Высказывается предположение, что в случае, когда каротиноидный состав ССК неоднороден, возможно присутствие Кар с длиной сопряженной системы двойных связей менее 10. Генерация синглетного кислорода при взаимодействии кислорода воздуха и $^3\text{Кар}$, образующихся по механизму деления возбуждения, в таком случае может вызывать наблюдаемое фотоокисление бактериохлорофилла.

Автор выражает благодарность фонду РНФ (грант 14-14-00535) за финансовую поддержку работы.

1. Махнева З.К., Ерохин Ю.Е., Москаленко А.А. // Доклады РАН. 2007, т.416, 408–411

**О ПЕРЕНОСЕ ЭНЕРГИИ ВОЗБУЖДЕНИЯ ОТ ПОЛОСЫ СОРЕ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА
К КАРОТИНОИДАМ**
**On the transfer of excitation energy from the Soret band of bacteriochlorophyll
to carotenoids**

**Разживин А. П.¹, Козловский В. С.¹, Ашихмин А. А.², Махнева З. К.²,
Москаленко А. А.², Компанец В. О.³, Чекалин С. В.³, Лукашев Е. П.⁴, Пашенко В. З.⁴**

1 – НИИ физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 40, Москва, 119991, Россия
e-mail: razjivin@belozersky.msu.ru; тел: +7 495 939-54-13

2 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: andrey-moskalenko@rambler.ru; тел: +7 4967 73-18-49, факс: +7 4967 45-67-89

3 – Институт спектроскопии РАН, г. Троицк, Москва, 142190, Россия
e-mail: chekalin@isan.troitsk.ru; тел: +7 495 851-02-37

4 – Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: paschenko@biophys.msu.ru; тел: +7 495 939-11-07

В видимой области спектра молекулы бактериохлорофилла (БХл) имеют две налагающиеся полосы поглощения с пиками около 360 и 390 нм («полоса Соре») и полосу Qx с максимумом около 590 нм. Широкая полоса поглощения молекул каротиноидов (Кар) лежит в области 420–570 нм. Взаимное спектральное положение полос БХл и Кар позволяет предполагать перенос энергии возбуждения как от Кар на БХл (Qx), так и от БХл («полосы Соре») на Кар. Перенос от Кар на БХл хорошо известен и достаточно подробно изучен. Перенос от молекул БХл («полосы Соре») на Кар дискутируется в ряде работ (см. [1,2] и ссылки в них), однако экспериментальные доказательства такого переноса практически отсутствуют.

Мы исследовали методом фемтосекундной (фс) лазерной спектроскопии возбуждения/зондирования фотоиндуцированные абсорбционные изменения светособирающих комплексов LH2 и LH1-RC из клеток пурпурных бактерий *Allochrochromatium minutissimum* и *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* дикого типа и из клеток с подавленным синтезом каротиноидов. При возбуждении 70-фс импульсами с $\lambda=340$ нм наблюдались абсорбционные изменения («выцветание») в полосе Qx около 590 нм и в полосе Кар (420–570 нм) в комплексах из клеток дикого типа или только в полосе Qx в комплексах с подавленным синтезом Кар. Выцветание регистрировалось на фоне примерно такого же или большего по величине увеличения поглощения за счет переходов БХл из S_1 в более высокие возбужденные состояния.

Количественная обработка результатов измерений показала, что абсорбционные изменения в полосе Кар обусловлены прямым возбуждением молекул Кар, которые имеют небольшое поглощение при 340 нм (~5% от общего поглощения при этой длине волны). Другими словами, мы не обнаружили переноса энергии возбуждения от молекул БХл «полосы Соре» к молекулам Кар в исследованных комплексах в пределах точности измерений ~10%.

1. Limantara L. et al. // Biochemistry. 1998, v. 37, 17469–17486.

2. Amarie S. et al. // Photosynthesis Research. 2010, v. 103, 141–151.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФОТОСИНТЕЗА

Рубин А. Б.

Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия
e-mail: rubin@biophys.msu.ru

РОЛЬ ТИЛАКОИДНОЙ α -КАРБОАНГИДРАЗЫ 4 В МЕТАБОЛИЗМЕ

ARABIDOPSIS THALIANA

Руденко Н. Н., Федорчук Т. П., Игнатова Л. К., Журикова Е. М., Иванов Б. Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ул. Институтская, д. 2 г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: rudenko_n@gambler.ru; тел.: +7 4967-73-24-48, факс: +7 4967-33-05-32

Карбоангидразы (КА) – ферменты, катализирующие реакцию обратимой гидратации углекислого газа, присутствуют во всех компартментах клеток листьев высших растений – плазматической мембране, цитоплазме, митохондриях и хлоропластах. Данные о КА в тилакоидах высших растений появились еще в 80-е гг. XX-го века, и с начала 2000-х гг. стали появляться сведения о присутствии в мембране тилакоидов нескольких КА – как вблизи ФС1, так и вблизи ФС2. В 2004 г. среди белков тилакоидных мембран был обнаружен продукт гена *At4g20990*, кодирующего α -КА4 [1], согласно номенклатуре [2].

С использованием специфических праймеров к гену *At4g20990* нами было найдено, что в растениях, выращенных при низкой интенсивности света (80 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) и низкой концентрации CO_2 (150 ppm) содержание транскриптов этого гена невелико, но оно возрастает в 4 раза при повышении концентрации углекислоты в атмосфере до 750 ppm. При адаптации растений к высокой, 400 мкмоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, интенсивности света было обнаружено, что в растениях, выращиваемых при «коротком» световом дне (8 ч день/16 ч ночь) уровень экспрессии гена *At4g20990* возрастал в 2 раза, тогда как в растениях, выращиваемых при «длинном» световом дне (16 ч день/8 ч ночь) – в 10–16 раз.

Вес растений, нокаутированных по гену *At4g20990*, был примерно на 10% больше веса растений дикого типа. При этом в листьях мутантов содержание крахмала было в 2–3 раза выше, чем в растениях дикого типа, и в хлоропластах листьев мутантных растений присутствовали очень крупные крахмальные зерна.

Нокаут гена *At4g20990* приводил к уменьшению уровня диссипации энергии в светособирающей антенне и к ускорению развития процесса фотоингибирования при освещении. В растениях, лишенных α -КА4, изменялся размер антенны светособирающего комплекса ФС2 (ССК), что было следствием как изменения интенсивности экспрессии генов *lhcb2*, *lhcb3* и *lhcb6*, кодирующих белки ССК, так и интенсивности их трансляции, что следовало из того, что изменение содержания белков ССК, Lhcb1-6 и PsbS не коррелировало с изменением содержания их транскриптов. При этом содержание белков антенны у мутантов, выращенных при пониженной интенсивности света, было выше, а у выращенных при повышенной интенсивности света – ниже, чем в растениях дикого типа в тех же условиях выращивания. В растениях, в которых отсутствовала α -КА4, существенно увеличился уровень экспрессии генов других КА, α -КА2 и высокоэкспрессивных β -КА1 и β -КА2.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 14-04-32323.

1. Friso G., Giacomelli L., Ytterberg A.J., Peltier J.-B., Rudella A., Sun Q., van Wijk K.J. // Plant Cell. 2004. v. 16, 478–499.

2. Fabre N., Reiter I.M., Becuwe-Linka N., Genty B., Rumeau D. // Plant Cell Environ. 2007. v. 30, 617–629.

БЛИЖНЕ-ИНФРАКРАСНЫЙ ОДНОДОМЕННЫЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ БЕЛОК НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ФИТОХРОМА

Румянцев К. А.^{1,2}, Щербакова Д. М.², Захарова Н. И.², Верхуша В. В.², Туроверов К. К.¹

1 – Лаборатория структурной динамики, стабильности и фолдинга белков, Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург 194064, Россия

e-mail: kkt@incras.ru; +7 812 297-19-57

2 – Департамент анатомии и структурной биологии, Колледж медицины им. Альберта Эйнштейна, Нью-Йорк, 10461, США

Флуоресцентные белки (ФБ) являются широко используемыми генетически-кодируемыми маркерами для количественного, неинвазивного исследования биологических процессов. Создание биомаркеров, флуоресцирующих в ближне-инфракрасном (ближне-ИК) спектральном диапазоне позволяет глубже заглянуть в ткани животных, которые наиболее светопроницаемы в этом диапазоне длин волн. Для широкого применения ФБ важно также, чтобы они имели низкий молекулярный вес и не были склонны к димеризации. Нам удалось на основе хромофор-связывающего домена бактериального фитохрома *Rhodospseudomonas palustris* (БФх), получить ФБ, названный GAF-FP с молекулярной массой ~19 кДа, который в 2 раза меньше, по сравнению с другими ФБ на основе БФх, и в 1.4 раза меньше по сравнению с широко применяемыми GFP-подобными белками, флуоресцирующий в ближнем ИК диапазоне. В отличие от большинства других ближне-ИК ФБ, GAF-FP является мономером, обладает высокой фотостабильностью и устойчив к внесению малых пептидных вставок. Более того, GAF-FP способен ковалентно присоединять два различных тетрапиррольных хромофора: фикоцианиобилин и биливердин, последний из которых в достаточной концентрации содержится в тканях млекопитающих. GAF-FP, содержащий биливердин в качестве хромофора, имеет полосу поглощения с максимумом при 635 нм и полосу флуоресценции с максимумом при 670 нм, что позволяет получать высокие соотношения сигнала флуоресценции к фоновому сигналу даже если ФБ локализован на расстоянии нескольких мм от поверхности ткани. Помимо ближне-ИК полосы поглощения, GAF-FP также имеет полосу поглощения в фиолетовой области спектра с максимумом при 378 нм. Это свойство было использовано нами для создания химерного белка, состоящего из модифицированной люциферазы *Renilla reniformis* (RLuc8) и GAF-FP, способного к резонансному переносу энергии биолюминесценции при окислении диметокси-коэлектрантина люциферазы. Без ФБ RLuc8 катализирует расщепление субстрата с излучением света в области 400 нм. В составе химерного белка GAF-FP–RLuc8 энергия от субстрата передается на хромофор ФБ и затем излучается в ближне-ИК диапазоне, соответствующем спектру флуоресценции GAF-FP. Высокий уровень ближне-ИК сигнала GAF-FP–RLuc8 позволяет одновременно наблюдать его наряду с люминесценцией люциферазы светлячка, создавая условия для проведения многопараметрического биолюминесцентного сканирования. Полученные результаты открывают путь для направленного создания малых ближне-ИК ФБ на основе различных природных БФх с перспективой их широкого применения в клеточной и молекулярной биологии.

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА IQD1 – КАЛЬМОДУЛИН-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА, РЕГУЛИРУЮЩЕГО НАКОПЛЕНИЕ ГЛЮКОЗИНОЛАТОВ В АРАБИДОПСИСЕ

Савченко Т. В.¹, Абель С.²

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, 142290, ул. Институтская, 2, Пушкино, Московская обл., Россия

e-mail: savchenko_t@rambler.ru; тел.: (4967)73-37-18; Факс: (4967)33-05-32

2 – Лейбницкий институт биохимии растений Департамент процессинга молекулярных сигналов, Вейнберг 3, D-06120, Галле, Германия

Глюкозинолаты – серосодержащие метаболиты, образующиеся из аминокислот (метионина, фенилаланина и триптофана) у представителей крестоцветных, выполняющие разнообразные защитные функции. Интерес к этим метаболитам объясняется их присутствием во многих пищевых продуктах, а также способностью производных глюкозинолатов оказывать воздействие на здоровье человека благодаря антиканцерогенным и гойтрогенным свойствам. Кальмодулин-связывающий белок IQD1 является важным регулятором уровня глюкозинолатов в тканях арабидопсиса. IQD1 – первый член малоизученного семейства белков IQD, представленного в арабидопсисе 33 белками. Все IQD белки содержат консервативный домен IQD, состоящий из 67 аминокислот, характеризующийся наличием уникально организованных последовательностей IQ, 1-5-10 и 1-8-14 для взаимодействия с кальций-связывающим белком кальмодулином. Нами был проведен анализ биохимических свойств IQD1 белка. Было показано, что IQD1 связывает кальмодулины и кальмодулин-подобные белки *in vitro* и в дрожжевой двугибридной системе. С помощью метода белкового оверлея установлена умеренная аффинность при взаимодействии IQD1 с типичным кальмодулином арабидопсиса CAM2 (Kd=0,6 мкМ). С помощью делеционного анализа картирована область связывания кальмодулина в изучаемом белке. Скрининг экспрессионной библиотеки кДНК выявил родственной легкой цепи кинезина белок-1 KLCR1 в качестве основного интерактора, взаимодействующего с IQD1. Исследования клеточной локализации IQD1 свидетельствуют о том, что в растительной клетке этот белок выступает скаффолдом для транспорта молекулярных “грузов” вдоль микротрубочек.

**БАКТЕРИОФИТОХРОМ-ПОДОБНЫЙ КОМПЛЕКС ФОТОТРОФНОЙ ПУРПУРНОЙ
БАКТЕРИИ *RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS*
Bacteriophytochrome-like complex from phototrophic purple bacteria
*Rhodopseudomonas palustris***

Сердюк О. П., Смолыгина Л. Д.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290,
Институтская, 2, Россия
e-mail: serdyuko@rambler.ru; тел: +7 (4967) 73 26 08, факс: +7 (4967) 330532

Комплекс желтого цвета, который считается продуктом распада при солиubilизации фотосинтезирующих мембран детергентом, был выделен из хроматофоров фототрофной пурпурной бактерии *Rhodopseudomonas palustris* методом тритон-электрофореза наряду с коровым и светособирающим комплексами – LH1 и LH2, поглощающими в красной области спектра. Комплекс был выделен не только электрофоретическим, но и хроматографическим методом на гидроксилатапите и в обоих случаях в определенном соотношении с LH1 и LH2 комплексами. Оптимальной для его выделения оказалась концентрация 2% тритона, как и для фотосинтезирующих комплексов. Увеличение концентрации тритона до 4% не приводило к накоплению комплекса, а вызывало его деструкцию. На этом основании был сделан вывод, что комплекс нативный и существует в хроматофорах наряду с LH1 и LH2 комплексами.

Основными в спектре его поглощения были максимумы при 680 нм и 755 нм., а также при 633 нм, 645 нм. По максимумам поглощения комплекс мог быть отнесен к бактериофитохином (Bphe's), обнаруженным ранее в *Rhodopseudomonas palustris*. Так, для Bphe4 характерны максимумы при 680, 770 и 630 нм, а для Bphe3 – при 680 нм и 645 нм.

При выделении комплекса на гидроксилатапите соотношение максимумов 755/680 нм в спектре поглощения было равно 4:1, однако после концентрирования комплекса под вакуумом такое же соотношение сохранялось, но уже для спектра с преобладающим максимумом при 680 нм. Коротковолновая форма (Pr) при 680 нм у бактериофитохинома (Bphe4) из *Rhodopseudomonas palustris* считается базовой и при освещении переходит в длинноволновую форму (Pfr) при 755 нм. При освещении концентрированного желтого комплекса белым светом наблюдали только уменьшение максимума при 680 нм. на каждую новую вспышку (2 мин освещение, 3 мин темновой интервал) и не наблюдали изменений в полосе 755 нм. Затем следовало его темновое восстановление в течение 3-х часов на 40–50%, но не на 90%, как для очищенного Bphe4 из *Rhodopseudomonas palustris*. Исследования кинетики накопления форм при пропускании белого света через интерференционные фильтры показали накопление формы 755 нм при освещении комплекса светом при 680 нм, достигшее максимума через 50 сек после начала освещения с последующим быстрым спадом кривой при продолжении освещения еще в течение 50 сек и медленным в течение 100 сек после выключении света. Такая кинетика образования Pfr формы, вероятно объясняет, почему не был зафиксирован переход Pr–Pfr при освещении комплекса белым светом.

Доказательством наличия хромофора биливердина в комплексе было характерное для билинов зеленоватое свечение, полученное при окрашивании уксусно-кислым цинком полосы в геле и ее элюата из геля.

Неоднозначность полученных данных о фотоактивности бактериофитохром-подобного комплекса, вероятно, можно объяснить еще и тем, что фотоиндуцированные изменения наблюдали не на очищенном препарате, как в случае Bphe4.

**СТИМУЛЯЦИЯ ЭКЗОГЕННЫМ МЕТАНОЛОМ ФОТОВЫДЕЛЕНИЯ ВОДОРОДА
КУЛЬТУРОЙ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII***

Степанов С. С., Полищук А. В., Подорванов В. В., Якимова О. В.

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного, Киев, 01601, ул. Терещенковская, 2, Украина
e-mail: membrana@ukr.net, тел. +38 044 272-32-31

Зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* способна расти гетеротрофно на ацетате, но не в присутствии глюкозы или гексоз (Harris, 2009). Присутствие ацетата в культуральной среде необходимо для индуцируемого в анаэробных условиях фотовыделения водорода клетками *C. reinhardtii*. Благодаря наличию двух индуцируемых в анаэробных условиях ферредоксин-зависимых гидрогеназ – HydA1 и HydA2, *C. reinhardtii* является одним из наиболее перспективных фотопродуцентов водорода. Недавно мы показали, что рост *C. reinhardtii* стимулируется в присутствии экзогенного метанола (Степанов, Золотарева, 2013). В настоящей работе исследовалось влияние экзогенного метанола на состояние фотосинтетического аппарата, дыхание и светозависимое выделение кислорода *C. reinhardtii*, а также на способность выделять водород в анаэробных условиях, созданных с помощью дефицита серы в культуральной среде.

Рост культуры исследовали методом подсчета клеток в камере Горяева, состояние фотосинтетического аппарата оценивали, определяя параметры вариабельной флуоресценции хлорофилла а с помощью флуорометра Хе-РАМ ("Walz"). Дыхание, светозависимое выделение кислорода и водорода изучали амперометрически с помощью компьютеризированного полярографа, оснащенного электродом Кларка. Содержание НАД(Ф)Н в клетках определяли флуоресцентным методом.

При исследовании влияния экзогенного метанола на рост *C. reinhardtii* в накопительной культуре установлено, что наиболее эффективная стимуляция, на 50%, наблюдается при однократном внесении метанола до концентрации 50 мМ при начальной концентрации клеток в культуре 1 млн/мл. При этом скорость светозависимого выделения кислорода, а также параметры qP и Φ_{PSII} не изменялись, в то время как интенсивность митохондриального дыхания повышалась на 30%, начиная с 6-го часа эксперимента. Добавление в темноте 100 мМ метилового спирта к среде инкубации *C. reinhardtii* приводило к незначительному возрастанию содержания восстановленных форм никотиновых коферментов, тогда как на свету сразу после внесения метанола концентрация восстановленных эквивалентов возрастала в четыре раза. Возрастание восстановительного потенциала клеток в присутствии метанола может способствовать эффективному образованию водорода в культуре *C. reinhardtii*.

Накопление водорода в анаэробных условиях изучали непосредственно в суспензии клеток, до появления газовой фазы. Перед началом эксперимента образцы переводили в среду, не содержащую серы, и в течение 2 часов продували аргоном для удаления кислорода. Выделение водорода начиналось после 24 часов инкубации, и его концентрация на 50-й час опыта достигала 130 мкМ в контроле и 380 мкМ в присутствии 50 мМ метанола.

Такое выраженное стимулирующее действие метанола может быть связано как со способностью уменьшать размер функциональной светособирающей антенны фотосистемы II, так и с активацией процессов митохондриального и хлоропластного дыхания, способствующих сохранению анаэробного состояния культуры.

**ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНОГО ГЕНА *brc-1* Mg-ХЕЛАТАЗЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ
МЕМБРАН В ТЕМНОТЕ И НА СВЕТУ В КЛЕТКАХ МУТАНТА BRC-1
CHLAMYDOMONAS REINHARDTII
The influence of regulatory gene *brc-1* of Mg-chelatase on membrane formation in the dark
and in the light in mutant Brc-1 *Chlamydomonas reinhardtii***

Семёнова Г. А.¹, Ладыгин В. Г.²

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пушкино, 142290, Россия

2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, г. Пушкино, 142290, Россия

e-mail: ladyginv@rambler.ru; тел: +7 4967 73-28-64

Исследование проведено на клетках мутанта Brc-1 одноклеточной зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*. В работе впервые установлено, что темновой биосинтез хлорофилла в клетках *Ch. reinhardtii* регулируется на уровне транскрипции – путем активации генов, кодирующих фермент Mg-хелатазу. Установлены ядерные гены *LTS3* и *brc-1*, кодирующие факторы транскрипционной активации Mg-хелатазы в темноте.

Изучена структурная организация клеток мутанта Brc-1 одноклеточной зеленой водоросли *Ch. reinhardtii*, выращенной в темноте и на свету в течение 1 мин, 6 мин и непрерывного освещения. Мутант Brc-1 несет мутацию *brc-1* в ядерном гене *LTS3*. На свету в его клетках все мембранные структуры нормально формируются и хорошо развиты. В темноте клетки мутанта Brc-1 хорошо растут и делятся, но при этом, все их клеточные мембраны: плазмалемма, тонопласт, митохондриальные мембраны, мембраны оболочки ядра и хлоропласта, тилакоиды и мембраны диктиосом аппарата Гольджи не выявляются с помощью электронной микроскопии. Показано, что даже кратковременное освещение клеток мутанта Brc-1 в течение 1 или 6 мин приводит к существенному восстановлению всех вышеперечисленных мембранных структур. Детально изучено формирование плазмалеммы клеточной стенки мембран митохондрий, хлоропластов и ядра, а также везикул эндоплазматического ретикулоума аппарата Гольджи и восстановление редуцированных гранул глазного пятна. Предполагается, что в клетках мутанта Brc-1 в темноте нарушен не только биосинтез хлорофилла на уровне протопорфирина IX, но и ранние этапы биосинтеза глицеролипидов. Обсуждаются возможные причины наблюдаемых нарушений в структуре мембран у мутанта Brc-1 в темноте и быстрый светозависимый синтез и восстановление их на свету.

**ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИЕ БАКТЕРИИ – ПРОДУЦЕНТЫ АНТАГОНИСТОВ
ЭНДОТОКСИНОВ
Photosynthetic bacteria are producers of endotoxin antagonists**

Серов Д. А., Радзюкевич Я. В., Прохоренко И. Р.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: dmitriy_serov_91@mail.ru; тел.: +7 4967 73–07–44; факс +7 4967 33–05–32

Обнаружение филогенетической связи фотосинтезирующих бактерий с другими грамотрицательными бактериями привлекло к ним внимание бактериологов, инфекционистов, иммунологов и других специалистов. Наибольшее число фототрофов найдено в классе Proteobacteria. К этому же классу относится ряд патогенных бактерий, в числе которых *Legionella pneumophila*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и другие [1]. Подобно другим грамотрицательным бактериям Proteobacteria окружены клеточной оболочкой, включающей в себя цитоплазматическую мембрану, клеточную стенку (пептидогликановый слой плюс внешняя мембрана) и внешние слои – капсулы и слизистые оболочки. Наружный слой внешней мембраны, которая находится в контакте с окружающей средой, состоит в основном из макроамфифильных молекул – липополисахаридов (ЛПС). В свободном виде ЛПС в зависимости от строения их липида проявляют разную биологическую активность. Среди фотосинтезирующих бактерий встречаются высоко токсичные, такие как *Rubrivivax (Rhodocyclus) gelatinosus* (β-субгруппа), у которых каждый из глюкозаминовых остатков липида А связан с тремя остатками жирных кислот, имеющими меньшую, чем у липида А *Escherichia coli* длину углеводородных цепей [2]. Представители α-субгруппы, такие как *Rhodobacter capsulatus* или *Rhodobacter sphaeroides*, не токсичны, более того, ЛПС этих бактерий способны конкурировать с токсичными ЛПС (эндотоксинами) в крови за клетки-мишени млекопитающих [3]. Эти свойства нетоксичных ЛПС природного происхождения послужили основой для создания их синтетических аналогов [4], нашедших применение в медицине [5].

В лаборатории молекулярной биомедицины из фотосинтезирующей бактерии *Rhodobacter capsulatus* PG (Всероссийская коллекция микроорганизмов ИБФМ) получен и охарактеризован ЛПС. В экспериментах *in vitro* и *ex vivo* показана антагонистическая активность этого ЛПС в отношении эндотоксинов из *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* [6, 7]. Результаты доклинических исследований показали биологическую безопасность и эффективность исследуемого ЛПС.

1. Woese C. R. // Microbiol. Rev. 1987, v. 51, 221–271

2. Rietschel E. T., Kirikaе T., Schade U.F. et al. // FASEB J. 1994, v. 8, 217–225

3. Грачев С.В., Прохоренко И.Р., Зубова С.В., Кабанов Д.С., Косякова Н.И., Мельцер М., Прохоренко С.В. // Молекулярные механизмы взаимодействия токсинов с клетками-мишенями. 2012, Москва: ООО «Медицинское информационное агентство», – 256 с.

4. Christ W. J., Asano O., Robidoux A.L.C., Hawkins L.D., McGuinness P.D., Mullarkey M.A. et al. // Science. 1995, v. 268, 80–83

5. Barochia, A., Solomon S., Cui X., Natanson C., Eichacker P.Q. // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2011, v. 7: 479–494

6. Прохоренко И.Р., Кустанова Г.А., Гражданкин Е.Б., Кабанов Д.С., Мурашев А.Н., Прохоренко С.В., Грачев С.В. // Доклады РАН. 2005, т. 402, 838–840

7. Волошина Е.В., Косякова Н.И., Прохоренко И.Р. // Биологические мембраны. 2013, т. 30, 357–363

**СВОЙСТВА ТРИПЛЕТНЫХ СОСТОЯНИЙ СИНТЕТИЧЕСКИХ И ПРИРОДНЫХ
СЕНСИБИЛИЗАТОРОВ**
Triplet state properties of synthetic and natural sensitizers

Соколова И. В., Брянцева Н. Г., Неволлина К. А., Чайковская О. Н.

Физический факультет Национального исследовательского Томского государственного университета, Новособорная пл., д. 1, Томск, 634050, Россия
e-mail: sokolova@phys.tsu.ru; тел: +7 3822 53-34-26, факс: +7 3822 53-30-34

Фотосенсибилизированные реакции протекают в частицах, не поглотивших первоначально квант излучения и сенсибилизация дает возможность индуцирования фотохимических превращений в области длин волн, где реагент прозрачен. При переносе энергии можно заселить те электронные состояния молекулы, которые не заселяются непосредственно при поглощении излучения, и фотосенсибилизированные процессы могут химически отличаться от несенсибилизированного фотолиза. Фотофизические свойства исследуемых соединений будут определять дальнейший ход фотохимических и фотобиологических процессов, так как все они протекают с участием электронно-возбужденных состояний, преимущественно триплетных. Только при установлении фундаментальных закономерностей связи таких свойств со строением можно планировать целенаправленный синтез (или выделение из природных объектов) новых, перспективных для применения веществ [1]. В работе проведено теоретическое и экспериментальное исследование спектров поглощения из возбужденного триплетного состояния псораленовых сенсибилизаторов. Определены наиболее интенсивные полосы триплет-триплетного (Т-Т) поглощения. Проведено сравнение экспериментальных спектров Т-Т-поглощения с теоретическими характеристиками Т-Т переходов. При температуре 77К измерены спектры фосфоресценции пяти соединений. Измерение квантовых выходов фосфоресценции выполнено методом сравнения с эталоном (8-метоксипсорален). Для исследуемых молекул при температуре 77К было определено время жизни фосфоресценции. Для соединений 3,4-фенил-4',5'-циклогексилпсорален; 4'-метил-3,4-циклогептилпсорален; 4',5'-диметил-3,4-циклогексилпсорален это время равно 1,1; 1,25 и 2,5 с, соответственно. Для всех исследуемых соединений основным каналом дезактивации энергии является фосфоресценция. Значительная величина квантового выхода фосфоресценции (25–70%) получена для исследованных соединений, наиболее интенсивно фосфоресцирующим соединением является 3,4-фенил-4',5'-циклогексилпсорален. Квантово-химическим методом ЧПДП/С получены данные по положению нижних возбужденных триплетных состояний и подтверждены экспериментальными данными. При измерении спектров Т-Т поглощения найдены как интенсивные (в области 319–325 нм), так и менее интенсивные переходы.

Кроме того в работе обсуждаются свойства триплетных состояний гуминовых кислот различного происхождения и условия, при которых такие структуры обнаруживают фотосенсибилизационные свойства.

Настоящая работа выполнена при поддержке Программы повышения международной конкурентоспособности Томского государственного университета на 2013–2020 гг., а также задания Минобрнауки России № 2014/223 на выполнение государственных работ в сфере научной деятельности в рамках базовой части государственного задания, код проекта 1766.

1. Dall'Acqua F., Viola G., Vedaldi D., in CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology, 2003, Ed., Horspool W., Lenci F. Boca Raton London New York Washington: CRC PRESS, 142-1 – 142-17.

**ОБРАЗОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ B820
ПРИ ДИССОЦИАЦИИ АНСАМБЛЕЙ RC-LH1 ИЗ ПУРПУРНОЙ БАКТЕРИИ
Ectothiorhodospira haloalkaliphila С РАЗЛИЧНЫМ СОСТАВОМ КАРОТИНОИДОВ**

Соловьев А. А., Ашихмин А. А., Москаленко А. А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: alex_1_i@mail.ru; тел. (4967)731849, факс (4967)330532

Большинство прицентровых светособирающих комплексов (LH1) пурпурных бактерий могут диссоциировать с образованием субъединиц B820, что свидетельствует об универсальности этих субъединиц как структурного модуля. Эти субъединицы состоят из димерной формы бактериохлорофилла (БХл), нековалентно связанной с двумя короткими гидрофобными полипептидами α и β , организованной в базовую структуру $\alpha\beta(\text{БХл})_2$ или её димер. Субъединицы B820 в большинстве случаев были получены из бескаротиноидных LH1. Систематического исследования влияния каротиноидов на диссоциацию LH1-комплексов с образованием B820 не проводилось. Известно, однако, что диссоциация каротиноидсодержащих LH1 с образованием B820 часто бывает затруднена. Каротиноиды теряются в ходе этого процесса. Показано, что добавление каротиноидов индуцирует обратный процесс образования LH1-комплексов из субъединиц B820 [1].

В нашей лаборатории были получены ансамбли RC-LH1 из клеток *Ect. haloalkaliphila* с восстановленным биосинтезом каротиноидов после подавления этого процесса дифениламином. Количество каротиноидов в этих ансамблях варьировалось в широких пределах от их практически полного отсутствия до частичного или полного заполнения «карманов». В случае полного заполнения «карманов» были получены ансамбли RC-LH1 с преобладанием либо родопина и ангидрородовибрина, либо спириллоксантина [2]. Было показано, что устойчивость таких комплексов к действию октил- β -D-глюкопиранозиды, ведущему к образованию B820, весьма существенно отличается. Обсуждаются возможные причины таких отличий.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (13-04-01184а, 15-04-02660а) и гранта Президента Российской Федерации № НШ-4771.2014.4.

1. Fiedor L., Akahane J., and Koyama Y. Carotenoid-induced cooperative formation of bacterial photosynthetic LH1 complex // Biochemistry. 2004. V. 43. № 51. P. 16487–16496.

2. Ashikhmin A., Makhneva Z., Moskalenko A. The LH2 complexes are assembled in the cells of purple sulfur bacterium *Ectothiorhodospira haloalkaliphila* with inhibition of carotenoid biosynthesis // Photosynth. Res. 2014. V. 119. № 3. P. 291-303.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МЕХАНИЗМА НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ ФИКОБИЛИСОМ В ПИГМЕНТНОМ АППАРАТЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Стадничук И. Н.¹, Зленко Д. В.², Красильников П. М.²

1 – Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, г. Москва, 119071, Россия
e-mail: stadnichuk@mail.ru; тел. +7 495 954-14-72, факс: +7 495 954-27-32

2 – Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва 119991, Россия
e-mail: dzlenko@gmail.ru; kgram@mail.ru; тел +7 495 939-43-67

Антенной пигментного аппарата цианобактерий служат фикобилисомы (PBS) – состоящие из фикобилипопротеинов гигантские надмолекулярные пигмент-белковые комплексы, содержащие до нескольких сот ковалентно связанных с апопротеинами фикобилиновых хромофоров. Для защиты PBS, достигающих размера 40 нм и массы в 5–7 млн. дальтон, от действия избыточного света служит фотопротекторный механизм, реализующийся за 30–60 сек и названный нефотохимическим тушением (NPQ), так как процесс проще всего наблюдать по обратимому тушению флуоресценции ФБС. За десятилетие со времени обнаружения [1] были экспериментально установлены многие важнейшие свойства нового фотобиологического эффекта (см. обзор [2]). 1) NPQ связан с действием так называемого ОСР – оранжевого каротиноид-протеина (35 кДа). 2) ОСР находится в клетке цианобактерий в соотношении с PBS, близком к 1:1. 3) Для реализации NPQ требуется фотоактивация ОСР интенсивным светом, что приводит к изменению структурных свойств как самого белка, так и его каротиноидного хромофора, гидроксизиненона. 4) ОСР в ходе тушения непосредственно взаимодействует с PBS. 5) Для обратимости эффекта тушения необходим непигментированный FRP-белок массой 13 кДа. Вопрос об участии связывания ОСР и PBS и механизме их взаимодействия, обеспечивающем эффект тушения, оставался открытым. Нами предложена компьютерная объемная (3D) модель контактного взаимодействия ОСР и PBS, которая не требует нарушения известной по рентгеноструктурным данным пространственной структуры белков. Методом ММ–PBSA рассчитана свободная энергия образования комплекса, величина которой не превышает нескольких десятков кДж/моль, что хорошо согласуется с наблюдаемой в эксперименте обратимостью NPQ. Найденный нами сайт связывания ОСР и PBS высокоспецифичен как образованный центральной впадиной в молекуле ОСР и характерным выступом, включая участок фолдинга, на поверхности Lcm-белка, являющегося конечным акцептором энергии, получаемой от всех остальных коротковолновых хромофоров в составе PBS. Компьютерные расчеты свидетельствуют о высокой комплементарности находящихся в контакте белковых поверхностей. На основе геометрических параметров полученной трехмерной модели, включая расстояние между центрами масс и направления векторов дипольных моментов перехода каротиноидного хромофора ОСР и соседнего с ним фикобилинового хромофора Lcm, и квантово-химических расчетов показано, что тушение реализуется по экситонному механизму вследствие обмена энергией между хромофорными молекулами с участием запрещенного по симметрии S1 возбужденного состояния каротиноида. Напротив, высокая скорость тушения (40 ps) не может быть реализована в рамках теории Фёрстера. Предложена общая схема NPQ, включая взаимодействие ОСР, PBS и FRP на свету и в темноте.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант 14-14-00589).

1. Rakhimberdieva M.G. et al., FEBS Lett., 2004, 574, 85–88;
2. Kirilovsky D., Photochem. Photobiol. Sci., 2013, 12, 1135–1143.
3. Stadnichuk I.N. et al. Photosynth. Res., 2015, in Press.

СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХЛОРОФИЛЛОСОДЕРЖАЩИХ ТКАНЕЙ ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ

Тихонов К. Г.¹, Христин М. С.¹, Сундырева М. А.², Креславский В. Д.¹, Савченко Т. В.¹

1 – Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия
e-mail: ktikhonov@rambler.ru, тел. +7 4967 731837, факс +7 4967 330532

2 – Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия

Факт протекания фотосинтетических процессов в хлорофиллосодержащих тканях одревесневших стеблей растений, в результате которых происходит перепоглощение выделяющегося при дыхании тканей стволов и ветвей углекислого газа, был установлен ещё в начале прошлого века. Известно, что фотосинтез тканей одревесневших стеблей вносит значительный вклад в углеродный баланс растения, особенно в условиях дефолиации растений, оказывает влияние на радиальный рост ствола, биомассу почек и формирование молодых листьев. Однако, мало известно о структурной организации фотосинтетического аппарата хлоропластов одревесневших стеблей и особенностях их функционирования. Представляемая работа посвящена исследованию структурно-функциональных особенностей фотосинтетического аппарата хлоропластов флоэмы лозы винограда *Vitis vinifera* L. до и после воздействия стрессовых факторов – промораживания и воздействия света высокой интенсивности. Нами проведён сравнительный анализ содержания фотосинтетических пигментов, исследованы спектры флуоресценции хлорофилла при 77К, а также проведены измерения параметров флуоресценции хлорофилла (Fv/Fm) в листьях, молодых стеблях и во флоэме одревесневших черенков винограда. Были обнаружены особенности структурной организации и исключительная устойчивость к неблагоприятным воздействиям фотосинтетического аппарата флоэмы виноградной лозы. Спектры низкотемпературной флуоресценции хлорофилла подтвердили высокое отношение ФС2 к ФС1 во флоэме лозы винограда. Впервые показана способность фотосинтетического аппарата хлоропластов флоэмы лозы адаптироваться к интенсивному освещению путём миграции LHCP от ФС2 к ФС1. Измерения параметров переменной флуоресценции хлорофилла подтвердили высокую фотохимическую активность ФС2 флоэмы и показали высокую устойчивость фотосинтетического аппарата флоэмы к промораживанию и пониженную приспособленность к яркому свету в сравнении с листом.

ЭЛЕКТРОННЫЙ И ПРОТОННЫЙ ТРАНСПОРТ В ХЛОРОПЛАСТАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЦЕПИ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА И МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СВЕТОВЫХ СТАДИЙ ФОТОСИНТЕЗА

Тихонов А. Н.

Физический факультет Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы
e-mail: an_tikhonov@mail.ru, тел. 8-495-9392973

Данное сообщение посвящено анализу механизмов электронного и протонного транспорта в хлоропластах высших растений в контексте проблемы регуляции световых стадий окислительного фотосинтеза. Будут рассмотрены следующие вопросы.

1. Структурно-функциональная организация фотосинтетической цепи электронного транспорта: строение и функционирование пигмент-белковых комплексов ФС2 и ФС1, цитохромный b_6f комплекс.
2. Природа лимитирующей стадии в цепи переноса электронов между ФС2 и ФС1. Диффузионно-контролируемые стадии переноса электронов (пластохинон, пластоцианин). Окисление пластохинола цитохромным b_6f комплексом.
3. Механизмы светозависимой регуляции фотосинтетического транспорта электронов и механизмы защиты фотосинтетического аппарата от светового стресса.
 - 3.1. pH-зависимая регуляция электронного транспорта между ФС2 и ФС1:
 - * явление фотосинтетического контроля (влияние внутритилакоидного pH на скорость окисления пластохинола b_6f комплексом).
 - * модуляция активности ФС2 (нефотохимическое тушение).
 - 3.2. Активация реакций цикла Кальвина.
 - 3.3. Перераспределение энергии поглощаемого света между ФС2 и ФС1 (переходы «состояние I» ↔ «состояние II»).
 - 3.4. Редокс-регуляция электронного транспорта.
 - 3.5. Альтернативные пути электронного транспорта в хлоропластах.
 - 3.6. Светозависимые структурные перестройки тилакоидных мембран хлоропластов.
 - 3.7. Эффекты экранирования хлоропластов за счет их пространственного перемещения.
4. Энергетические аспекты сопряжения протонного транспорта с реакциями синтеза АТФ в хлоропластах.
5. Математическое описание электронного и протонного транспорта в хлоропластах: современные достижения и перспективы.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЯ КАРОТИНОИДОВ В КЛЕТКАХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ *SYNECHOCYSTIS* SP. PCC 6803 ПРИ ХОЛОДОВОМ СТРЕССЕ Cold shock affects carotenoids state in *Synechocystis* sp. PCC 6803

Тютяев Е. В.¹, Максимов Е. Г.², Миронов К. С.³, Лось Д. А.³, Максимов Г. В.²

1 – Факультет биотехнологии и биологии Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарёва, ул. Ульянова д.26Б, Республика Мордовия, г. Саранск, 430000, Россия, e-mail: tyutyaev.eugeny@yandex.ru

2 – Биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119991, Россия

3 – Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Российской Академии Наук, ул. Ботаническая д.35, Москва, 127276, Россия

Известно, что увеличение количества полиненасыщенных жирных кислот в составе липидов ведет к снижению вязкости мембраны. Данный механизм используется цианобактериями для адаптации к условиям пониженной температуры. При холодном стрессе клетки цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 увеличивают количество полиненасыщенных жирных кислот за счет специальных ферментов – десатураз, кодируемых генами *desA* и *desD*. Мутант (*desA*⁻/*desD*⁻), лишенный десатураз, напротив не способен регулировать вязкость мембран, что приводит к проявлению ряда характерных различий структурно-функциональной организации фотосинтетических мембран мутанта и дикого типа в условиях холодного стресса [1].

В рамках данной работы, состояние фотосинтетических мембран дикого типа цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 и мутанта *desA*⁻/*desD*⁻ изучали с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) света. Клетки цианобактерий культивировали при температурах 33 и 25°C. Для регистрации спектров КР использовали установку с ПЗС матрицей TCD1304DG (Toshiba, Япония) и 473 нм лазер, измерения проводили в кварцевых капиллярах при температуре 25°C. Основные полосы в полученных спектрах КР соответствуют каротиноидам. Показано, что при нормальных условиях спектры КР мутанта и дикого типа практически идентичны. Установлено, что культивация клеток мутанта по десатуразам А и D в условиях пониженных температур (25°C) не вызывает значительных изменений в спектрах КР каротиноидов. Однако, сопоставление спектров КР дикого типа, выращенных при 33 и 25°C, позволило выявить характерные различия – изменение соотношения интенсивности полос 1160 и 1526 см⁻¹, а также сдвиг полосы 1526 см⁻¹. Данные различия могут объясняться изменением длины сопряжения или увеличением упорядоченности структуры каротиноидов при культивации в условиях пониженных температур. Вероятно, в условиях холодного стресса может происходить изменение количества каротиноидов связанных с мембранными белками и находящихся в липидной мембране. Отсутствие характерных изменений в спектрах КР у мутанта *desA*⁻/*desD*⁻ свидетельствует о наличии общих механизмов, позволяющих клеткам цианобактерий регулировать вязкость мембран и состояние фотосинтетических пигмент-белковых комплексов и эффективно адаптироваться к пониженным температурам.

Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ 15-04-01930 А, МК-5949.2015.4, программы У.М.Н.И.К № 3069ГУ/2014.

1. Mironov, K. S., Sidorov, R. A., Trofimova, M. S., Bedbenov, V. S., Tsyndambaev, V. D., Allakhverdiev, S. I., & Los, D. A. (2012). Light-dependent cold-induced fatty acid unsaturation, changes in membrane fluidity, and alterations in gene expression in *Synechocystis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817(8), 1352-1359.

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА РЕАКЦИОННОГО ЦЕНТРА *RHODOBACTER SPHAEROIDES* С АМИНОКИСЛОТНЫМ ЗАМЕЩЕНИЕМ L(M196)H.

Фуфина Т. Ю.¹, Васильева Л. Г.¹, Габдулхаков А. Г.², Шувалов В. А.¹

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ул. Институтская 2, г. Пушкино, 142290, Россия.
2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка РАН, ул. Институтская 4, г. Пушкино, 142290, Россия.
e-mail: tat-fufina@yandex.ru, тел +7(4967)732680, факс+7(4967)330532

Одной из актуальных задач современной науки является поиск возобновляемых альтернативных источников энергии. К таким источникам относится фотосинтез, который можно назвать природной технологией преобразования света в энергию. Одним из ключевых этапов фотосинтеза являются первичные фотопроцессы – реакции, в которых энергия света, поглощенная пигментами фотосинтезирующего организма, преобразуется в энергию разделенных зарядов. Первичное преобразование энергии света происходит в реакционных центрах (РЦ) фотосинтеза. Реакционные центры фотосинтезирующих бактерий являются хорошей модельной системой для исследования первичных процессов разделения зарядов. РЦ пурпурной бактерии *Rhodobacter sphaeroides* представляет собой транс-мембранный пигмент-белковый комплекс, состоящий из трех белковых субъединиц (H, M и L) и десяти кофакторов переноса электрона. Методом направленного мутагенеза аминокислотный остаток лейцина M196, расположенный вблизи бактериохлорофилла P_B, был замещен гистидином. В спектре поглощения изолированных РЦ L(M196)H отмечается длинноволновый сдвиг максимума полосы поглощения первичного донора электрона P. Величина окислительно-восстановительного потенциала E_m P/P⁺ в мутантных РЦ выросла на +65(±15) мВ, по сравнению с РЦ дикого типа. Данные рентгеноструктурного анализа, полученные с разрешением 2,4Å, указывают на возникновение π-π взаимодействий или π-водородных взаимодействий. Кроме того, согласно структурным данным, His-M196 участвует в образовании дополнительных водородных связей, которые приводят к повышению стабильности мутантного РЦ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям РАН, программы «Молекулярная и клеточная биология», программы Президента Российской Федерации (грант НШ 4771.2014.4) и РФФИ (13-04-40297-Н, 14-04-32112, 15-04-03041).

УЧАСТИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА В ФОТОИНАКТИВАЦИИ ДОНОРНОЙ СТОРОНЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2, ЛИШЕННОЙ МАРГАНЦА

Хоробрых А. А., Климов В. В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пушкино, 142290, Россия
e-mail: andrewkhor@rambler.ru

Ранее было показано, что [1, 2, 3] препараты фотосистемы 2, не содержащие водо-окисляющего комплекса (апо-ВОК-ФС2), характеризуются значительным фотопоглощением O₂ на донорной стороне ФС2 сопровождающимся фотообразованием гидроперекисей, и было предположено, что эти эффекты связаны с окислительной фотоинактивацией ФС2. В данной работе приведено экспериментальное подтверждение этой гипотезы. Показано, что переход от анаэробных условий к аэробным значительно активирует фотоинактивацию апо-ВОК-ФС2 как в отсутствие, так и в присутствии экзогенного акцептора электрона, феррицианида. Фотоинактивация апо-ВОК-ФС2 подавляется при добавлении экзогенных доноров электрона (Mn²⁺, дифенилкарбазид, ферроцианид). Добавление супероксиддисмутазы не влияло на фотоинактивацию апо-ВОК-ФС2. Делается вывод, что взаимодействие молекулярного кислорода с окисленными компонентами донорной стороны ФС2 отражает участие O₂ в общем механизме фотоинактивации ФС2 по донорному типу.

1. Khorobrykh, S. A., Khorobrykh, A. A., Klimov, V. V., and Ivanov, B. N. (2002). *Biochemistry (Moscow)* 67, 683–688.
2. Yanykin, D. V., Khorobrykh, A. A., Khorobrykh, S. A., and Klimov, V. V. (2010) *Biochim. Biophys. Acta* 1797, 516–523.
3. Khorobrykh SA, Khorobrykh AA, Yanykin DV, Ivanov BN, Klimov VV and Mano J (2011) *Biochemistry* 50(49): 10658-10665

**ОБРАЗОВАНИЕ И ЭКСТРАКЦИЯ ПРОЧНО СВЯЗАННОГО ХЛОРОФИЛЛА
В ПРЕПАРАТАХ ХЛОРОФИЛЛ-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ
Formation and extraction of the tightly bound chlorophyll in samples
of chlorophyll-protein complexes**

Христин М. С.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия
e-mail: khristin_@rambler.ru Тел. +7(4967)731966

Изучали образование и экстракцию прочно связанного хлорофилла с белками в препаратах РЦ *R. sphaeroides* R-26, РЦ ФС2, ЛНП, мембран фотосинтезирующих организмов. Препараты мембран *R. sphaeroides* R-26 модифицировали глутаровым альдегидом, экстрагировали органическими растворителями, растворами детергентов при комнатной и пониженной температурах, что приводило к образованию белково-пигментных агрегатов из которых не удавалось полностью экстрагировать хлорофилл. Агрегированные комплексы при таких обработках легко осаждались центрифугированием, их осадки содержали хлорофилл и каротиноиды. Не агрегированные и агрегированные препараты исследовали электрофорезом в полиакриламидном геле. Не агрегированные хлорофилл-белковые комплексы разделялись на зеленые, либо неокрашенные белковые зоны если до электрофореза образцы были прогреты при 95–100°C, 3 минуты в присутствии SDS и мочевины. Агрегаты оставались на старте геля. В процессе электрофореза из них с помощью SDS непрерывно экстрагировались пигменты и белки. Диссоциация комплексов ФС2 и антенн на белковые субъединицы и пигменты зависела от концентрации детергентов в образце и в электродном буфере. Пигменты, связанные с белками, продолжали экстрагироваться из окрашенных зеленых полос в ходе окрашивания гелей белковым красителем кумассии и отмывания фона красителя растворами уксусной кислоты и этанола. Однако и в этом случае наблюдали неполное экстрагирование хлорофиллов. В результате окраска зон, содержащих хлорофилл, белок и кумассии отличалась от зон, содержащих только белок и связанный с ним краситель. В спектре поглощения зон, содержащих кумассии, феофитин и каротиноиды наблюдали четкие максимумы поглощения, характерные для каждого из этих компонентов. Непрерывно экстрагируемый из агрегатов хлорофилл и каротиноиды движутся в геле размытой зоной, которая начинается от места нанесения образца на гель и заканчивается в нижней части гелей. Свободные хлорофиллы можно было выявить анализом цветной фотографии геля с помощью компьютерных программ и спектрофотометрией. В опытах с РЦ зона свободных хлорофиллов разделялась на синий (бактерихлорофилл), зеленый (бактерихлорофилл + каротиноиды) и желтый (каротиноиды) участки геля, которые при недостаточном контрасте сливались в одну окрашенную зону. Представлены также результаты экстракции хлорофиллов, иммобилизованных в полиакриламидные гели. На основе полученных данных обсуждается природа прочного связывания хлорофилла с белками.

Прочно связанный хлорофилл – трудно экстрагируемый хлорофилл в препаратах пигмент-белковых комплексов, подвергнутых модификации белков либо включенных в белковые агрегаты, полиакриламидные гели, природные мембраны в которых сайты связывания молекул хлорофилла экранированы и недоступны для растворителей.

ФОТОБИОТЕХНОЛОГИЯ И ПОЛУЧЕНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ЭНЕРГОНОСИТЕЛЕЙ

Цыганков А. А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: ttt-00@mail.ru; Тел. 8 (4967)732791

Человечество нуждается в новых источниках энергии. Это связано не только с тем, что ископаемые источники энергии истощаемы. В первую очередь это обусловлено тем негативным эффектом, который сопровождает использование ископаемых источников энергии (изменение состава атмосферы и, как следствие, возрастание температуры на Земле; загрязнение почв и вод продуктами, оставшимися после горения ископаемых источников, а также нефтью, вытекающей при авариях на поверхность Земли). Солнце является единственным на Земле экологически чистым источником энергии. Следует отметить, что энергия течения рек также в конечном итоге происходит от солнечной активности. Существуют и разрабатываются другие способы получения энергоносителей за счет энергии Солнца. Их можно разделить на такие, которые дают энергоносители, применяющиеся с использованием уже имеющейся инфраструктуры, и те, которые требуют для своего использования создания новой инфраструктуры.

К первым относятся биотоплива первого, второго и третьего поколений, основанные на преобразовании энергии, запасенной в биомассе растений (как на основе отходов лесной промышленности, так и на основе специально выращенных растений), в традиционные топлива, а также биогаз, полученный при очистке загрязненных органическими веществами сточных вод.

Ко вторым можно отнести все нетрадиционные способы использования способности фотосинтеза запастись солнечную энергию. Прежде всего, это биомасса микроводорослей, которая может быть подвергнута дальнейшему разложению (физическим, химическим или биологическим путем) для получения спиртов, биодизеля и биогаза. Использование способности ряда фотосинтезирующих микроорганизмов к светозависимому выделению водорода также относится к нетрадиционному получению энергоносителей, поскольку использование водорода в широком масштабе пока невозможно вследствие отсутствия соответствующей инфраструктуры. Изучается также возможность преобразования солнечной энергии надомолекулярными комплексами биомолекул на основе реакционных центров фотосинтеза в электричество, а также сопряжение реакционных центров с гидрогеназами для прямого получения водорода.

В докладе кратко рассмотрены современные тенденции исследований и описаны основные проблемы, требующие решения для практического использования разных способов получения альтернативной энергии.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА МИКРОВОДОРОСЛИ *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* ПРИ ПЕРЕХОДЕ В СОСТОЯНИЕ ГЕМАТОЦИСТЫ

Чеканов К. А., Соловченко А. Е., Лобакова Е. С.

Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, Москва, 119234, Россия
e-mail: kostya_ne_kostya@mail.ru

Микроводоросль *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) – продуцент вторичного кетокаротиноида астаксантина, имеющего большое практическое значение. Этот пигмент накапливается в клетках при трансформации их в гематоцисты (покоящиеся клетки, приспособленные для переживания неблагоприятных условий) под действием стрессоров, таких как свет высокой интенсивности и дефицит минерального питания. Образование гематоцист – сложный процесс, сопровождающийся накоплением астаксантина (каротиногenezом), глубокой перестройкой метаболизма клетки, изменением ее морфологии и ультраструктуры.

Исследовали особенности функционирования фотосинтетического аппарата клеток *Haematococcus pluvialis* SCCAP K-0084 методом анализа быстрой фазы индукции флуоресценции хлорофилла а при переходе в состояние гематоцисты. Для индукции образования гематоцист клетки экспонировали (вегетативные или «зеленые») и стационарной («бурые») фаз роста (на среде BG-11 при 60 мкмоль квантов ФАР/м²/с) ресуспендировали в дистиллированной воде и инкубировали при 480 мкмоль квантов ФАР/м²/с. Выход культуры на стационарную фазу роста сопровождался падением параметра F_v/F_m (с 0,75 до 0,43), что может свидетельствовать о снижении способности клеток к фотохимической утилизации поглощенной энергии света вследствие замедления деления. В первые сутки после переноса клеток в стрессовые условия, индуцирующие каротиногenez, параметр F_v/F_m существенно не изменялся, но затем резко снижался (до 0,50). Наблюдаемое в стрессовых условиях снижение F_v/F_m полностью обратимо: в условиях, благоприятных для роста, параметр принимает значение, характерное для вегетативных клеток.

При индукции каротиногenezа повышаются значения параметра NPQ, характеризующего уровень нефотохимического тушения флуоресценции. При освещении активным светом (80 мкмоль квантов ФАР/м²/с) адаптированных к темноте зеленых клеток наблюдали немонокотонное изменение NPQ: в первые секунды рост до максимального значения, затем – снижение, обусловленное, по-видимому, активацией темновых реакций фотосинтеза. В начале образования гематоцист подобной немонокотонности в изменении NPQ не наблюдали, более длительная инкубация (более 3 суток) в стрессовых условиях приводила, при значительном накоплении астаксантина и формировании гематоцист, к падению NPQ до 0.

Также рассчитывали число циклов окисления-восстановления (оборотов) первичного хинонного акцептора (N), отражающее интенсивность транспорта электронов в ЭТЦ хлоропластов. В условиях, оптимальных для роста зеленых клеток, оно оставалось постоянным (около 490), образование гематоцист сопровождалось кратковременным резким повышением N с последующим его снижением.

Можно думать, что наблюдаемый при стрессе кратковременный рост фотосинтетической активности необходим для обеспечения энергией клеток при перестройке метаболизма в начальной фазе образования гематоцист. В этот период энергезависимые механизмы вносят существенный вклад в защиту клеток от фотоповреждения. У сформированных гематоцист *H. pluvialis* вклад NPQ снижается, и функция защиты от фотоповреждения переходит к фотопротекторным механизмам, менее зависимым от постоянного притока энергии, таким как экранирование избыточного света астаксантином.

ВЫРАЩИВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЛИПИДОВ: ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ЭНЕРГОЭФФЕКТИВНОСТИ

Чернова Н. И., Киселева С. В.

НИЛ возобновляемых источников энергии географического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, стр. 19, Москва, 119991, Россия
e-mail: chernova_nadegda@mail.ru; тел.: 7 495 939 42 57

Выполнен цикл исследований энергоэффективности производства биодизеля с использованием микроводорослей в качестве источника биомассы. Основой для оценок и расчетов баланса энергии являлись общие теоретические подходы, результаты зарубежных крупномасштабных проектов получения биотоплива из микроводорослей и собственные экспериментальные данные.

Был проведен анализ энергетических балансов преобразования солнечной энергии в биомассу липидосодержащих микроводорослей для пяти географических точек с учетом климатических условий (инсоляция, годовой ход температуры воздуха и др.), возможного диапазона продуктивности по биомассе и маслу и различных способов культивирования. Была подтверждена принципиальную возможность достижения рекордных продуктивностей по биомассе и маслу, что может определить – в перспективе – конкурентоспособность водорослевого биодизеля. При оптимальной организации процесса энергосодержание конечных продуктов может превышать затраты антропогенной энергии на выращивание микроводорослей даже без учета «энергетического эквивалента» использования CO₂ в качестве элемента питания. При этом значительный вклад в общее энергосодержание получаемых конечных продуктов дает энергия отходов биомассы после экстракции липидов. Имеются значительные резервы усовершенствования технологий культивирования биомассы:

- снижение потерь поступающего в биореакторы солнечного излучения, связанных с их неоптимальной пространственной геометрией, затенением и отражением; особенностями используемой технологии выращивания водорослей в открытых и закрытых культиваторах;
- повышение эффективности поступающих в биореакторы фотонов путем распределения солнечной энергии по всей поверхности клетки, использования селекционных и генномодифицированных штаммов, толерантных к высоким уровням радиации;
- увеличение доли энергии, поступившей в клетку, которая тратится на прямое запасаение ее в виде биомассы, а не на функционирование клетки;
- обеспечение высокого содержания липидов в биомассе микроводорослей, которое зависит от вида водоросли и подобранных условий культивирования.

Рассмотрены также достигнутые в реальных проектах (ASP, USA, 1978–1998; RITE, Japan, 1990–1999; Hawaiian project, USA, 1997–2001) показатели экономической эффективности получения биодизеля из водорослей. Даже при самом оптимистическом сценарии производства биодизеля ни один из проектов не привел к паритетным по сравнению с ископаемым сырьем и топливом из наземных масличных растений (канола) затратам для одинаковых климатических условий. Это заставляет учитывать особенности каждого проекта и региона его реализации при выборе стратегий организации производства, а также закладывать в проекты производство ценных сопутствующих продуктов с высокой добавочной стоимостью (астаксантин, β-каротин, фикоцианин, хлорофилл), что может существенно повысить рентабельность производства.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №15-08-02596.

ПЕРВИЧНОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ ЗАРЯДОВ В ФОТОСИСТЕМЕ 2 ЗЕЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Шувалов В. А.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Россия
e-mail: shuvalov@issp.serpukhov.su, Тел/Факс 8(4967)733601, 8(4967)330532

Исследования ядерного комплекса фотосистемы 2 растений с помощью лазерных импульсов длительностью ~20 фс с параллельной и перпендикулярной ориентацией электрических векторов зондирования и накачки показали, что при 278К первичное разделение зарядов происходит в первичном доноре электрона (димере хлорофилла P_{680}) с последующим переносом электрона на мономерный хлорофилл $Хл_{D1}$ (с временной константой ~0,9 пс) и далее – на молекулу феофитина за время ~14 пс. Показано, что при низкой температуре в комплексах ядра фотосистемы 2 растений могут альтернативно функционировать два различных донора электрона: димер молекул хлорофилла P_{680} и мономерный хлорофилл $Хл_{D1}$.

Работа поддержана грантами РФФИ 13-04-40297-Н, НШ-4771.2014.4 и Программой МКБ.

КИСЛОРОДВЫДЕЛЯЮЩИЙ КОМПЛЕКС МЕМБРАН ХЛОРОПЛАСТОВ: ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ – КЛЮЧ К ТЕХНОЛОГИИ

Шутилова Н. И.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: shn-bio@gambler.ru; тел: +7 4967 731966, факс: +7 4967 330532

Кислородвыделяющий комплекс (КВК) мембран хлоропластов – это главная энергопреобразующая система растений. Российскими учеными заложена основная база фундаментальных знаний процессов его функционирования. На основе проведенного всестороннего структурно-функционального исследования показано, что КВК функционирует как единая надмолекулярная система, в которой все фотохимические реакции, начиная от поглощения энергии света, ее трансформации в энергию химических связей с переносом электронов, протонов и окислением функциональных катионов Mn сопряжены с процессом окисления воды с образованием O_2 и генерацией электронного транспорта. Нами впервые разработана модель структурной организации КВК, основанная на принципах молекулярной симметрии, которая получила подтверждение рентгеноструктурным анализом. С учетом полученных экспериментальных данных была обоснована новая схема двуханодной организации водоокисляющего центра КВК и условия его стабилизации [1]. На основе данной схемы разработан механизм многоэлектронного окисления молекул воды, связанный синхронно с образованием O_2 . Показано, что он определяется идентичностью молекулярного окружения катионов Mn, их межатомным расстоянием и величиной фотогенерируемого окислительного потенциала, обуславливающих образование связывающих орбиталей атомов молекулярного кислорода, выделяющегося при окислении молекул воды в структуре водоокисляющего центра [1]. Разработанный механизм был подтвержден методом квантовохимического анализа [2]. Это показывает универсальный характер данного механизма, что обуславливает возможность его применения в технологии [3].

1. Шутилова Н.И. // Биологические мембраны, 2010. Т.27, С. 147–155
2. Шутилова Н.И., Моисеев Д.Н. // Химическая физика, 2010. Т.29, С. 66–75
3. Shutilova N.I. «The Concept of the Mechanism of Oxygen Formation during Photosynthesis of Plants and its Substantiation», //AMEA-nm Xabarlari (biologiya elmlary), 2011, cild 66, №3, sah. 77-90.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА С КОМПОНЕНТАМИ ДОНОРНОЙ СТОРОНЫ ФОТОСИСТЕМЫ 2 С ПОВРЕЖДЁННЫМ ВОДООКИСЛЯЮЩИМ КОМПЛЕКСОМ

Яныкин Д. В., Хоробрых А. А., Хоробрых С. А., Климов В. В.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино, 142290, Россия
e-mail: ya-d-ozh@rambler.ru

Показано, что разрушение водоокисляющего комплекса (ВОК) фотосистемы 2 (ФС2) (препараты апо-ВОК-ФС2) приводит к фотопоглощению O_2 , связанного как с акцепторной, так и с донорной стороной ФС2. В экспериментах с использованием флуоресцентной метки Spy-HP, специфичной для липофильных гидропероксидов показано, что фотопоглощение O_2 на донорной стороне ФС2 вызвано взаимодействием O_2 с радикалами, образующимися при фотоокислении органических молекул катион-радикалом $P680^{+*}$ (или $TyrZ^+$). Обнаружено, что при освещении в течение 3 мин препаратов апо-ВОК-ФС2 образуются гидропероксиды гидрофильной и гидрофобной природы, в количестве ~4 и ~200 молекул на один РЦ ФС2, соответственно. При импульсном освещении показано, что фотопоглощение O_2 характеризуется высоким квантовым выходом и активируется при добавлении каталитических концентраций Mn^{2+} и Ca^{2+} . Предположено, что фотопоглощение O_2 в апо-ВОК-ФС2 может отражать не только процессы, приводящие к фотоингибированию ФС2, но и вероятное участие O_2 в фотоформировании неорганического ядра ВОК ФС2.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Московской области в рамках научного проекта «14-44-03680 p_центр_a» и грантом Президента Российской Федерации МК-3890.2015.4.

СОПОСТАВЛЕНИЕ ДЕНДРОГРАММ ДЛЯ КОМПОНЕНТОВ ЦЕПЕЙ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА С ОБЩЕЙ ФИЛОГЕНИЕЙ ПРОКАРИОТ КАК ПОДХОД К ПРОБЛЕМЕ ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ЭВОЛЮЦИИ ФОТОСИНТЕЗА И ДЫХАНИЯ

Янюшин М. Ф.

Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, 142290, Россия;
e-mail: yanyushin@yandex.ru

Составлена композитная модель филогении прокариот на основании дендрограмм для РНК малой субъединицы рибосом и десяти универсальных белков не подвергшихся латеральному переносу. Частные дендрограммы зависят от метода построения и совпадают частично. Однако они совпадают в том, что разбиение бактерий происходит по одним и тем же отчетливо выраженным кластерам – ветвям. Неопределенным остается порядок ответвления. На композитной белковой дендрограмме это выражено в виде короткого промежутка, на котором произошло разделение на основные ветви бактерий и архей – можно назвать его периодом «большого ветвления».

Среди родов бактерий с опубликованными геномами около 80% обладают генами тех или иных компонентов ЭТЦ. Для сравнительного исследования взяты гены двух классов хинолакцептор оксидоредуктаз, цитохром оксидаз, фото-реакционных центров и гены ферментов, участвующих в синтезе (бактерио)-хлорофиллов.

Комплексы, окисляющие хинол, занимают центральное место в ЭТЦ. К ним относятся хорошо изученный $bc_1(b_hf)$ -комплекс и альтернативный комплекс, имеющий независимое происхождение. Опероны bc_1 -комплекса присутствуют в геномах основных классов эубактерий. Напротив, опероны второго рода присутствуют в геномах малонаселенных кластеров. На дендрограмме для bc_1 -комплексов имеются отдельные кластеры, конгруэнтные ветвям: цианобактерий, α , β , γ , ϵ -протеобактерий, бацилл, актиномицетов и зеленых серных бактерий. Вероятнее всего оперон bc_1 -комплекса возник в основании ветви цианобактерий или в основании кластера α , β , γ -протеобактерий и далее был перенесен латерально в другие ветви. На дендрограмме оперонов альтернативного комплекса отдельные кластеры соответствуют некоторым ветвям, из которых наибольший интерес представляют некоторые порядки δ -протеобактерий и зеленые несерные бактерии. Первые содержат опероны с последовательно усложняющимся составом и могут рассматриваться как исток латерального переноса этого типа оперона в другие линии.

Кластеры на дендрограмме для цитохром оксидаз соответствуют кластерам на дендрограммах для описанных оксидоредуктаз. Это говорит о том, что функциональная связь соответствует связности в процессе эволюции, и о том, что опероны этих ферментов будучи перенесены в основания ветвей далее наследовались вертикально.

Опероны реакционных центров имеются у всех представителей только в ветвях цианобактерий (ФС-1 и ФС-2) и зеленых серных бактерий (РЦ-1) и их кластеры на дендрограммах компактны и конгруэнтны филогенетическим. Напротив, только у малой доли протеобактерий и представителей ветви Chloflexi имеются опероны типа РЦ-2, а у единичных родов фирмикутов и ацидобактерий имеются опероны РЦ-1. Очевидно, они были перенесены латерально. Гены ферментов участвующих в синтезе (бактерио)-хлорофиллов образуют кластеры, в которых не разделены ветви для двух типов РЦ (ФС1-РЦ1 и ФС2-РЦ2). В совокупности это подтверждает гипотезу о том, что оба типа РЦ впервые появились в ветви, давшей начало цианобактериям и уже позже были раздельно перенесены в другие ветви.

Оглавление

Оргкомитет, Программный комитет.....	3
Наши спонсоры и партнёры.....	4
Программа мероприятий	6
Стендовая сессия.....	12
Тезисы докладов конференции:	
Low pH induced changes in thylakoid membranes Anjana Jajoo	15
Origin and evolution of PSI in Cyanobacteria and Chloroplasts Barry D. Bruce	16
Manganese Oxides and Gold Nanoparticles toward Water Oxidation Mohammad Mahdi Najafpour, Seyedeh Maedeh Hosseini, Małgorzata Hołyńska, Tatsuya Tomo, Suleyman I. Allakhverdiev	17
Nanostructured Manganese Oxide on Carbon Mohammad Mahdi Najafpour, Saeideh Salimi, Małgorzata Hołyńska, Tatsuya Tomo, Suleyman I. Allakhverdiev	18
Energy Transfer in <i>Halomicronema hongdechloris</i> – Cyanobacterium Containing Chlorophyll <i>f</i> Seiji Akimoto, Toshiyuki Shinoda, Min Chen, Tatsuya Tomo and Suleyman I. Allakhverdiev	19
Механизмы подавления триплетного состояния первичного донора фотосинтетических реакционных центров <u>Алисова И. В.</u> , Проскуряков И. И.	20
Свойства антенных комплексов пурпурных серных фотосинтезирующих бактерий со встроенным сфероидом <u>Ашихмин А. А.</u> , Махнева З. К., Большаков М. А., Москаленко А. А.	21
Совместное действие свинца и температуры на развитие окислительного стресса в листьях <i>Plantago major</i> L. <u>Балахнина Т. И.</u> , Фомина И. Р.	22
Влияние интенсивности освещения и ингибирования биосинтеза каротиноидов на сборку разных типов периферийного комплекса LH2 пурпурной серной бактерии <i>Allochrochromatium vinosum</i> <u>Большаков М. А.</u> , Махнева З. К., Ашихмин А. А., Москаленко А. А.	23
Роль реакции Мелера и активных форм кислорода в адаптации растений к повышенной освещенности <u>Борисова-Мубаракшина М. М.</u> , Ветошкина Д. В., Любимов В. Ю., Федорчук Т. П., Найдов И. А., Козулева М. А., Руденко Н. Н., Иванов Б. Н.	24

Сравнение энергетической эффективности технологий возделывания мискантуса китайского в условиях ЦФО Российской Федерации <u>Булаткин Г. А.</u> , Митенко Г. В.	25
Энергетическая эффективность производства биомассы мискантуса китайского на серых лесных почвах южного Подмосковья <u>Булаткин Г. А.</u> , <u>Гурьев И. Д.</u>	26
Сайт-направленный мутагенез бактериального реакционного центра для исследования пигмент-белковых взаимодействий <u>Васильева Л. Г.</u> , Фуфина Ф. Ю., Леонова М. М., Габдулхаков А. Г., Хатыпов Р. А., Шувалов В. А.	27
Особенности фотоиндуцированного образования водорода зеленой микроводорослью <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> в условиях недостатка магния <u>Волгушева А. А.</u> , Антал Т. К., Кукарских Г. П., Лаврухина О. Г., Кренделева Т. Е.	28
Обзор последних достижений в области искусственного фотосинтеза <u>Волошин Р. А.</u> , Жармухамедов С. К., Креславский В. Д., Бедбенов В. С., Аллахвердиев С. И.	29
Действие гуминовых веществ и наночастиц серебра и золота на флуоресценцию культуры микроводоросли <i>Scenedesmus quadricauda</i> <u>Габбасова Д. Т.</u> , Протопопов Ф. Ф., Заядан Б. К.	30
Запасание энергии в биомассе микроводорослей <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> и ее вовлечение в интегрированную систему получения водорода и других возможных компонентов <u>Гавришева А. И.</u> , Семина В. И., Цыганков А. А.	31
Гибридные структуры из поликатионных фталоцианинов алюминия и квантовых точек <u>Гвоздев Д. А.</u> , Максимов Е. Г., Страховская М. Г., Пашенко В. З.	32
Производные природного бактериохлорофилла <i>a</i> . Ретроспектива исследований последних 15 лет <u>Грин М. А.</u> , Миронов А. Ф.	33
Состояние фотосинтетического аппарата и транспорт электронов в ФСII зимнезеленых листьев <i>Ajuga reptans</i> <u>Дымова О. В.</u> , Христин М. С., Захожий И. Г., Головкин Т. К.	34
Сравнительное изучение мутантов <i>Rhodobacter spaheroides</i> , не синтезирующих периферийной антенны <u>Ельцова З. А.</u> , Цыганков А. А.	35
Молекулярная структура фикобилисом цианобактерий <u>Зленко Д. В.</u> , Красильников П. М., Стадничук И. Н.	36
Регуляция содержания компонентов эфирного масла в растениях базилика в светокультуре на основе светоиспускающих диодов <u>Иваницких А. С.</u> , Тараканов И. Г.	37

Влияние нокаута генов At2g28210 и At4g20990, кодирующих карбоангидразы α -2 и α -4, на показатели фотосинтеза растений <i>Arabidopsis thaliana</i> <u>Игнатова Л. К.</u> , Журикова Е. М., Иванов Б. Н.	38
Гибридные структуры из квантовых точек и аллофикоцианина <u>Карпулевич А. А.</u> , Максимов Е. Г., Случанко Н. Н., Пащенко В. З.	39
Диффузионно-контролируемый режим функционирования процесса фотофосфорилирования в условиях <i>in vitro</i> <u>Карташов И. М.</u> , Опанасенко В. К., Мальян А. Н.	40
Влияние условий космического полета на фотосинтетический аппарат цианобактерий <u>Клементьев К. Е.</u> , Максимов Е. Г., Цораев Г. В., Еланская И. В., Спасский А. В., Пащенко В. З.	41
Глобальный анализ динамики короткоживущих сигналов ЭПР фотосинтетических пигментных систем <u>Кленина И. Б.</u> , Проскуряков И. И.	42
Фотосистема 2 и система фотосинтетического окисления воды Климов В. В.	43
Беспигментное возбуждение кислородных молекул ИК лазерным излучением в органических и водных средах <u>Козлов А. С.</u> , Красновский А. А.	44
Фотоиндуцированные абсорбционные изменения каротиноидов в светособирающих комплексах LH2 и LH1-RC из <i>All. minutissimum</i> и <i>Ect. haloalkaliphila</i> <u>Козловский В. С.</u> , Ашихмин А. А., Махнева З. К., Москаленко А. А., Компанец В. О., Чекалин С. В., Лукашев Е. П., Пащенко В. З., Разживин А. П.	45
Эффект кислорода на триплетное состояние P_{700} в Фотосистеме 1 <u>Козулева М. А.</u> , Флорес М., Реддинг К.	46
Академик Елена Николаевна Кондратьева: к 90-летию со дня рождения Колотилова Н. Н.	47
Участие фотоиндукционных процессов в дистанционных взаимодействиях хлоропластов в клетках харовой водоросли <u>Комарова А. В.</u> , Булычев А. А.	48
Фотохимическая активность и темновые процессы фотосинтеза при изменении условий внешней среды Кособрюхов А. А.	49
Особенности низкотемпературных спектров флуоресценции листьев ячменя, выращенного при освещении узкополосным красным и синим светом <u>Кочетова Г. В.</u> , Беляева О. Б., Жигалова Т. В., Бассарская Е. М., Аверчева О. В.	50
Вариабельность конфигураций комплекса Фотосистемы II в мембранах тилакоидов гран Кочубей С. М.	51
Триплетный хлорофилл, синглетный кислород и фотоокислительный стресс Красновский А. А.	52

Влияние фитохромной системы на стресс-устойчивость фотосинтетического аппарата высших растений <u>Креславский В. Д.</u> , Ширшикова Г. Н., Любимов В. Ю., Кособрюхов А. А.	53
Роль генов темнового (<i>brc-1</i> и <i>lts-3</i>) и светового (<i>brs-1</i> и <i>chl-1</i>) биосинтеза хлорофилла на структуру и функцию мембран в клетках мутантов <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <u>Ладыгин В. Г.</u> , Семенова Г. А., Кособрюхов А. А., Чекунова Е. М.	54
Мутанты <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> как суперпродуценты биологически ценных продуктов для фотобиотехнологии Ладыгин В. Г.	55
Получение стабильной бинарной культуры <i>Rhodobacter sphaeroides</i> и <i>Clostridium butyricum</i> , разлагающей полисахариды на свету <u>Лауринавичене Т.</u> , Шастик Е.	56
Исследование разделения зарядов в РЦ <i>Rba. sphaeroides</i> с повышенным потенциалом первичного донора электрона при комнатной температуре <u>Леонова М. М.</u> , Христин А. М., Шувалов В. А., Хмельницкий А. Ю.	57
Кадмий в хлоропластах: Поиск возможных мишеней, количественный подход <u>Лысенко Е. А.</u> , Клаус А. А., Карташов А. В., Кузнецов В. В.	58
Влияние трегалозной матрицы на кинетику рекомбинации зарядов в фотосистеме 1 при различной степени влажности Малферрари М., Мамедов М. Д., Милановский Г. Е., Вентуроли Дж., <u>Семенов А. Ю.</u> ...	59
Влияние вязкости среды на синтез АТФ хлоропластами и гидролиз АТФ сопрягающим фактором CF ₁ <u>Мальян А. Н.</u> , Опанасенко В. К., Карташов И. М.	60
Влияние дисахарида трегалозы на реакции переноса электрона и протона в комплексах фотосистемы 2 <u>Мамедов М. Д.</u> , Носикова Е. А., Семенов А. Ю.	61
Моделирование первичных процессов фотосинтеза методом Монте-Карло <u>Маслаков А.</u> , Антал Т. К., Ризниченко Г. Ю.	62
Эффективность фотосинтетического превращения энергии зелеными водорослями <i>Chlorella vulgaris</i> в присутствии наноаквахелатов селена <u>Михайленко Н. Ф.</u> , Шевченко Ю. В., Золотарева Е. К.	63
Состояние электрон-транспортной цепи клеток <i>Euglena gracilis</i> при миксотрофном культивировании Мокросноп В. М., Полищук А. В., <u>Золотарева Е. К.</u>	64
Накопление токоферолов в клетках <i>Euglena gracilis</i> при миксотрофном культивировании <u>Мокросноп В. М.</u> , Золотарева Е. К.	65
Фемтосекундная динамика первичных процессов разделения зарядов в фотосистеме 1 <u>Надточенко В. А.</u> , Шелаев И. В., Гостев Ф. Е., Мамедов М. Д., Семенов А. Ю., Шувалов В. А.	66

Низкотемпературная фосфоресценция хлорофилла в изолированных препаратах реакционных центров ФС 2 <u>Неверов К. В.</u> , Красновский А. А., Забелин А. А., Шувалов В. А., Шкурпатов А. Я.	67
Температурная зависимость времени жизни флуоресценции триптофанилов в РЦ <i>Rb. sphaeroides</i> замороженных до 80К в темноте или на активирующем свете <u>Нокс П. П.</u> , Корватовский Б. Н., Гришанова Н. П., Сейфуллина Н. Х., Пашенко В. З., Рубин А. Б.	68
Сравнительное исследование эффективности фотохимического (Р680) и нефотохимического (Р680 ⁺) тушения флуоресценции в ФСII <u>Пашенко В. З.</u> , Горохов В. В., Гришанова Н. П., Максимов Е. Г., Мамедов М. Д.	69
Роль филлохинона в процессах переноса электрона в фотосистеме I <u>Петрова А. А.</u> , Босхомджиева Б. К., Трубицин Б. В., Тихонов А. Н., Мамедов М. Д., Семенов А. Ю.	70
Особенности экситонных состояний в трубчатых агрегатах хлоросом <u>Пищальников Р. Ю.</u> , Krzysztof Pawlak, Petar Lambrev, Michael Reus, Gyöző Garab, Yuliya Miloslavina, Alfred R. Holzwarth	71
Влияние кислотных дождей на ультраструктуру и функциональные характеристики фотосинтетического аппарата листьев гороха <u>Полищук А. В.</u> , Водка М. В., Белявская Н. А., Хомочкин А. П., Золотарева Е. К.	72
Регуляция активности фотосистемы 2 мутантов <i>Synechocystis</i> PCC 6803 с различным редокс состоянием пластохинонового пула <u>Проскурина О. В.</u> , Болычевцева Ю. В., Кузьминов Ф. И., Еланская И. В., Фадеев В. В. .	73
Перенос энергии возбуждения и деструктивные процессы в периферийных светособирающих комплексах пурпурных бактерий Проскуряков И. И.	74
О переносе энергии возбуждения от полосы Соре бактериохлорофилла к каротиноидам <u>Разживин А. П.</u> , Козловский В. С., Ашихмин А. А., Махнева З. К., Москаленко А. А., Компанец В. О., Чекалин С. В., Лукашев Е. П., Пашенко В. З.	75
Современные проблемы фотосинтеза Рубин А. Б.	76
Роль тилакоидной α -карбоангидразы 4 в метаболизме <i>Arabidopsis thaliana</i> <u>Руденко Н. Н.</u> , Федорчук Т. П., Игнатова Л. К., Журикова Е. М., Иванов Б. Н.	77
Ближне-инфракрасный однодоменный флуоресцентный белок на основе бактериального фитохрома <u>Румянцев К. А.</u> , Щербакова Д. М., Захарова Н. И., Верхуша В. В., Туроверов К. К.	78
Биохимическая характеристика IQD1 – кальмодулин-связывающего белка, регулирующего накопление глюкозинолатов в арабидопсисе <u>Савченко Т. В.</u> , Абель С.	79
Бактериофитохром-подобный комплекс фототрофной пурпурной бактерии <i>Rhodospseudomonas palustris</i> <u>Сердюк О. П.</u> , Смолыгина Л. Д.	80

Стимуляция экзогенным метанолом фотовыделения водорода культурой <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> <u>Степанов С. С.</u> , Полищук А. В., Подорванов В. В., Якимова О. В.	81
Влияние регуляторного гена <i>brc-1</i> Mg-хелатазы на формирование мембран в темноте и на свету в клетках мутанта <i>Brc-1 Chlamydomonas reinhardtii</i> Семенова Г. А., <u>Ладыгин В. Г.</u>	82
Фотосинтезирующие бактерии – продуценты антагонистов эндотоксинов <u>Серов Д. А.</u> , Радзюкевич Я. В., Прохоренко И. Р.	83
Свойства триплетных состояний синтетических и природных сенсibilizаторов <u>Соколова И. В.</u> , Брянцева Н. Г., Неволлина К. А., Чайковская О. Н.	84
Образование структурной субъединицы B820 при диссоциации ансамблей RC-LHI из пурпурной бактерии <i>Ectothiorhodospira haloalkaliphila</i> с различным составом каротиноидов <u>Соловьев А. А.</u> , Ашихмин А. А., Москаленко А. А.	85
Теоретические основы механизма нефотохимического тушения фикобилисом в пигментном аппарате цианобактерий <u>Стадничук И. Н.</u> , Зленко Д. В., Красильников П. М.	86
Структурные и функциональные особенности фотосинтетического аппарата хлорофиллосодержащих тканей виноградной лозы <u>Тихонов К. Г.</u> , Христин М. С., Сундырева М. А., Креславский В. Д., Савченко Т. В.	87
Электронный и протонный транспорт в хлоропластах высших растений. Структурно-функциональная организация цепи электронного транспорта и механизмы регуляции световых стадий фотосинтеза Тихонов А. Н.	88
Изменение состояния каротиноидов в клетках цианобактерий <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803 при холодовом стрессе <u>Тютяев Е. В.</u> , Максимов Е. Г., Миронов К. С., Лось Д. А., Максимов Г. В.	89
Структура и свойства реакционного центра <i>Rhodobacter sphaeroides</i> с аминокислотным замещением L(M196)H. <u>Фуфина Т. Ю.</u> , Васильева Л. Г., Габдулхаков А. Г., Шувалов В. А.	90
Участие молекулярного кислорода в фотоинактивации донорной стороны фотосистемы 2, лишённой марганца <u>Хоробрых А. А.</u> , Климов В. В.	91
Образование и экстракция прочно связанного хлорофилла в препаратах хлорофилл-белковых комплексов Христин М. С.	92
Фотобиотехнология и получение альтернативных энергоносителей Цыганков А. А.	93
Функционирование фотосинтетического аппарата микроводоросли <i>Haematococcus pluvialis</i> при переходе в состояние гематоцисты <u>Чеканов К. А.</u> , Соловченко А. Е., Лобакова Е. С.	94

Выращивание микроводорослей с повышенным содержанием липидов: подходы к оценке энергоэффективности

Чернова Н. И., Киселева С. В. 95

Первичное разделение зарядов в фотосистеме 2 зеленых растений

Шувалов В. А. 96

Кислородвыделяющий комплекс мембран хлоропластов: принципы организации и функционирования – ключ к технологии

Шутилова Н. И. 97

Взаимодействие молекулярного кислорода с компонентами донорной стороны фотосистемы 2 с повреждённым водоокисляющим комплексом

Яныкин Д. В., Хоробрых А. А., Хоробрых С. А., Климов В. В. 98

Сопоставление дендрограмм для компонентов цепей переноса электрона с общей филогией прокариот как подход к проблеме происхождения и эволюции фотосинтеза и дыхания

Янюшин М. Ф. 99

Авторский указатель 107

Авторский указатель

- | | |
|--|-----------------------------------|
| Akimoto, Seiji – 19 | Гавришева А. И. – 31 |
| Allakhverdiev Suleyman I. – 17, 18, 19 | Гвоздев Д. А. – 32 |
| Bruce, Barry D. – 16 | Головки Т. К. – 34 |
| Chen, Min – 19 | Горохов В. В. – 69 |
| Garab, Gyöző – 71 | Гостев Ф.Е. – 66 |
| Hołyńska, Małgorzata – 17, 18 | Грин М. А. – 33 |
| Holzwarth, Alfred R. – 71 | Гришанова Н. П. – 68, 69 |
| Hosseini, Seyedeh Maedeh – 17 | Гурьев И. Д. – 26 |
| Jajoo, Anjana – 15 | Дымова О. В. – 34 |
| Lambrev, Petar – 71 | Еланская И. В. – 41, 73 |
| Miloslavina, Yuliya – 71 | Ельцова З. А. – 35 |
| Najafpour, Mohammad Mahdi – 17, 18 | Жармухамедов С. К. – 29 |
| Pawlak, Krzysztof – 71 | Жигалова Т. В. – 50 |
| Reus, Michael – 71 | Журикова Е. М. – 38, 77 |
| Salimi, Saeideh – 18 | Забелин А. А. – 67 |
| Shinoda, Toshiyuki – 19 | Захарова Н. И. – 78 |
| Tomo, Tatsuya – 17, 18, 19 | Захожий И. Г. – 34 |
| Абель С. – 79 | Заядан Б. К. – 30 |
| Аверчева О. В. – 50 | Зленко Д. В. – 36, 86 |
| Алисова И. В. – 20 | Золотарева Е. К. – 63, 64, 65, 72 |
| Аллахвердиев С. И. – 29 | Иваницких А. С. – 37 |
| Антал Т. К. – 28, 62 | Иванов Б. Н. – 24, 38, 77 |
| Ашихмин А. А. – 21, 23, 45, 75, 85 | Игнатова Л. К. – 38, 77 |
| Балахнина Т. И. – 22 | Карпулевич А. А. – 39 |
| Бассарская Е. М. – 50 | Карташов А. В. – 58 |
| Бедбенов В. С. – 29 | Карташов И. М. – 40, 60 |
| Белявская Н. А. – 72 | Киселева С. В. – 95 |
| Беляева О. Б. – 50 | Клаус А. А. – 58 |
| Болычевцева Ю. В. – 73 | Клементьев К. Е. – 41 |
| Большаков М. А. – 21, 23 | Кленина И. Б. – 42 |
| Борисова-Мубаракшина М. М. – 24 | Климов В. В. – 43, 91, 98 |
| Босхомджиева Б. К. – 70 | Козлов А. С. – 44 |
| Брянцева Н. Г. – 84 | Козловский В. С. – 45, 75 |
| Булаткин Г. А. – 25, 26 | Козулева М. А. – 24, 46 |
| Булычев А. А. – 48 | Колотилова Н. Н. – 47 |
| Васильева Л. Г. – 27, 90 | Комарова А. В. – 48 |
| Вентуроли Дж. – 59 | Компанец В. О. – 45, 75 |
| Верхуша В. В. – 78 | Корватовский Б. Н. – 68 |
| Ветошкина Д. В. – 24 | Кособрюхов А. А. – 49, 53, 54 |
| Водка М. В. – 72 | Кочетова Г. В. – 50 |
| Волгушева А. А. – 28 | Кочубей С. М. – 51 |
| Волошин Р. А. – 29 | Красильников П. М. – 36, 86 |
| Габбасова Д. Т. – 30 | Красновский А. А. – 44, 52, 67 |
| Габдулхаков А. Г. – 27, 90 | Кренделева Т. Е. – 28 |

Креславский В. Д. – 29, 53, 87
 Кузнецов В. В. – 58
 Кузьминов Ф. И. – 73
 Кукарских Г. П. – 28
 Лаврухина О. Г. – 28
 Ладыгин В. Г. – 54, 55, 82
 Лауринавичене Т. – 56
 Леонова М. М. – 27, 57
 Лобакова Е. С. – 94
 Лось Д. А. – 89
 Лукашев Е. П. – 45, 75
 Лысенко Е. А. – 58
 Любимов В. Ю. – 24, 53
 Максимов Г. В. – 89
 Максимов Е. Г. – 32, 39, 41, 69, 89
 Малфerrари М. – 59
 Мальян А. Н. – 40, 60
 Мамедов М. Д. – 59, 61, 66, 69, 70
 Маслаков А. – 62
 Махнева З. К. – 21, 23, 45, 75
 Милановский Г. Е. – 59
 Миронов А. Ф. – 33
 Миронов К. С. – 89
 Митенко Г. В. – 25
 Михайленко Н. Ф. – 63
 Мокросноп В. М. – 64, 65
 Москаленко А. А. – 21, 23, 45, 75, 85
 Надточено В. А. – 66
 Найдов И. А. – 24
 Неверов К. В. – 67
 Неволлина К. А. – 84
 Нокс П. П. – 68
 Носикова Е. А. – 61
 Опанасенко В. К. – 40, 60
 Пащенко В. З. – 32, 39, 41, 45, 68, 69, 75
 Петрова А. А. – 70
 Пищальников Р. Ю. – 71
 Подорванов В. В. – 81
 Полищук А. В. – 64, 72, 81
 Проскурина О. В. – 73
 Проскуряков И. И. – 20, 42, 74
 Протопопов Ф. Ф. – 30
 Прохоренко И. Р. – 83
 Радзюкевич Я. В. – 83
 Разживин А. П. – 45, 75
 Реддинг К. – 46

Ризниченко Г. Ю. – 62
 Рубин А. Б. – 68, 76
 Руденко Н. Н. – 24, 77
 Румянцев К. А. – 78
 Савченко Т. В. – 79, 87
 Сейфуллина Н. Х. – 68
 Семенова Г. А. – 54, 82
 Семенов А. Ю. – 59, 61, 66, 70
 Семина В. И. – 31
 Сердюк О. П. – 80
 Серов Д. А. – 83
 Случанко Н. Н. – 39
 Смолыгина Л. Д. – 80
 Соколова И. В. – 84
 Соловченко А. Е. – 94
 Соловьев А. А. – 85
 Спасский А. В. – 41
 Стадничук И. Н. – 36, 86
 Степанов С. С. – 81
 Страховская М. Г. – 32
 Сундырева М. А. – 87
 Тараканов И. Г. – 37
 Тихонов А. Н. – 70, 88
 Тихонов К. Г. – 87
 Трубицин Б. В. – 70
 Туроверов К. К. – 78
 Тютяев Е. В. – 89
 Фадеев В. В. – 73
 Федорчук Т. П. – 24, 77
 Флорес М. – 46
 Фомина И. Р. – 22
 Фуфина Т. Ю. – 90
 Фуфина Ф. Ю. – 27
 Хатыпов Р. А. – 27
 Хмельницкий А. Ю. – 57
 Хомочкин А. П. – 72
 Хоробрых А. А. – 91, 98
 Хоробрых С. А. – 98
 Христина А. М. – 57
 Христина М. С. – 34, 87, 92
 Цораев Г. В. – 41
 Цыганков А. А. – 31, 35, 93
 Чайковская О. Н. – 84
 Чекалин С. В. – 45, 75
 Чеканов К. А. – 94
 Чекунова Е. М. – 54

Чернова Н. И. – 95
 Шастик Е. – 56
 Шевченко Ю. В. – 63
 Шелаев И. В. – 66
 Ширшикова Г. Н. – 53
 Шкуропатов А. Я. – 67

Шувалов В. А. – 27, 57, 66, 67, 90, 96
 Шутилова Н. И. – 97
 Щербакова Д. М. – 78
 Якимова О. В. – 81
 Яныкин Д. В. – 98
 Янюшин М. Ф. – 99



Компания **СПЕЦЛАБПРОЕКТ** занимается поставками аналитических приборов, лабораторного оборудования и расходных материалов.

Основной партнер компании **СПЕЦЛАБПРОЕКТ** – немецкая компания **Heinz Walz GmbH**.

Компания **Heinz Walz GmbH** – ведущий мировой производитель научных измерительных приборов для изучения фотосинтетической активности и газообмена растений.

Компания **СПЕЦЛАБПРОЕКТ** является официальным эксклюзивным представителем компании **Walz** в Российской Федерации.

Компания **Walz** предлагает широкий выбор импульсных флуориметров для измерения флуоресценции хлорофилла, которая является высокоинформативной характеристикой фотосинтетической активности растений, а также системы измерения газообмена растений, регистраторы освещенности, датчики освещенности и другое оборудование – для работы в полевых и лабораторных условиях.

Приборы **Walz** создаются в тесном сотрудничестве с известными учеными, что позволяет компании **Walz** уверенно удерживать мировое лидерство, воплощая в своих приборах самые последние научные идеи и инженерные разработки.

Компания **СПЕЦЛАБПРОЕКТ** обеспечивает полный комплекс услуг, связанных с поставками и обслуживанием лабораторного оборудования:

- консультации по выбору и комплектации оборудования;
- оформление всех необходимых документов;
- участие в конкурсах, котировках и аукционах;
- доставка оборудования по адресу Заказчика;
- сборка оборудования и его ввод в эксплуатацию;
- гарантийное, сервисное и послегарантийное обслуживание.

ООО «СПЕЦЛАБПРОЕКТ» – клиентоориентированная компания, наша главная задача – чтобы все потребности клиентов были удовлетворены максимально качественно и в кратчайшие сроки.

ООО «СПЕЦЛАБПРОЕКТ»

Тел. +7 (499) 391-7042

walz@spezlab.ru

www.spezlab.ru

www.heinzwalz.ru



**ПУЩИНСКИЕ
ЛАБОРАТОРИИ**

КОМПЛЕКСНОЕ ОСНАЩЕНИЕ ЛАБОРАТОРИЙ

Компания “Пущинские лаборатории” уверенно завоевала свою нишу среди сообщества поставщиков, сфера деятельности которых - снабжение учреждений лабораторной продукцией. Головной офис и складские помещения расположены в городе Пущино Московской области.

Основная цель нашей работы - обеспечить потребительский рынок лучшими по стоимости и функциональным свойствам товарами в области лабораторной техники, мебели, реактивов, пластика и расходных материалов. Для этого мы напрямую работаем с производителями, находимся в постоянном поиске новой продукции и оптимальных решений для наших клиентов.

Высококвалифицированные менеджеры нашей компании осуществляют индивидуальный подход к каждому клиенту и готовы предложить подходящее соотношение хорошего качества товара и минимальной цены. Наличие своего склада продукции, хорошо выстроенная система логистики обеспечивает максимально короткие сроки доставки заказанного товара.

Познакомится с каталогом продукции, узнать больше о фирмах производителей, увидеть спецпредложения можно в интернет магазине www.laboratorii.com, также на сайте компании можно получить он-лайн консультацию от наших менеджеров по любому интересующему Вас вопросу, либо заказать обратный звонок.



(499) 391-8-319, (4967) 733-111

МО, г. Пущино, мкр-н “Д”, д.23, пом. 7

info@laboratorii.com, www.laboratorii.com

**XXI Пущинские чтения по фотосинтезу
Всероссийская конференция
«Фотосинтез и фотобиотехнология. Фундаментальные и
прикладные аспекты»**

**1 – 6 июня 2015
г. Пущино**

**Программа конференции
Тезисы докладов**

Компьютерная верстка: И.А. Найдов

ISBN 978-5-9905822-1-7



9 785990 582217