

ЭЛЕКТРОННЫЙ ТРАНСПОРТ В ХЛОРОПЛАСТАХ: РЕГУЛЯЦИЯ И АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

Обзор

© 2023 А.Н. Тихонов

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
физический факультет, кафедра биофизики,
119991 Москва, Россия; электронная почта: an_tikhonov@mail.ru

Поступила в редакцию 21.06.2023

После доработки 09.07.2023

Принята к публикации 10.07.2023

Работа посвящена обзору механизмов регуляции электронного транспорта в хлоропластах в контексте структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата растений. Основное внимание уделено окислению пластохинола цитохромным b_6f -комплексом – лимитирующей стадии переноса электронов между фотосистемами 2 и 1. Кратко описаны процессы электронного транспорта по цепям нециклического, циклического и псевдоциклического транспорта электронов, их связь с созданием *транс*-тилакоидной разности электрохимических потенциалов ионов водорода в хлоропластах, обсуждаются механизмы pH-зависимой регуляции функционирования цитохромного b_6f -комплекса. Рассмотрены процессы электронного переноса, связанные с участием альтернативных редокс-медиаторов – молекулярного кислорода (O_2) и аскорбата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фотосинтез, хлоропласты, электронный транспорт, регуляция.

DOI: 10.31857/S0320972523100032, **EDN:** OSOXVT

ВВЕДЕНИЕ

Оксигенный фотосинтез – важнейший процесс в биосфере Земли, который обеспечивает выделение молекулярного кислорода (O_2) и фиксацию CO_2 за счет энергии солнечного света, поглощаемого светособирающими пигментами растений, водорослей и цианобактерий. Фотосинтетический аппарат этих организмов содержит две фотосистемы (ФС) – пигмент-белковые комплексы ФС1 и ФС2, цитохромный комплекс b_6f и АТФ-синтазный комплекс CF_0 – CF_1 , катализирующий образование АТФ из АДФ и ортофосфата P_i . Перенос двух электронов от водоокисляющего комплекса ФС2 к $NADP^+$ (терминальный акцептор электронов в ФС1) обеспечивает восстановление $NADP^+$ до $NADPH$. АТФ и $NADPH$ –

макроэргические продукты «световых стадий» фотосинтеза – используются в реакциях цикла Кальвина–Бенсона (ЦКБ) для фиксации CO_2 [1, 2].

Структурно-функциональная организация фотосинтетического аппарата растений хорошо изучена [3–21]. В то же время остаются нерешенными некоторые проблемы, связанные с регуляцией фотосинтетических процессов и акклимацией фотосинтетического аппарата к изменяющимся условиям среды. В настоящем обзоре кратко рассмотрены структурная организация фотосинтетического аппарата оксигенных организмов и основные механизмы регуляции электронного и протонного транспорта, обеспечивающие высокую эффективность преобразования световой энергии в хлоропластах. В первой части статьи описаны

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ФС1 и ФС2 – фотосистема 1 и фотосистема 2; ЦКБ – цикл Кальвина–Бенсона; ЦЭТ – циклический электронный транспорт; ЭПР – электронный парамагнитный резонанс; ЭТЦ – электрон-транспортная цепь; Asc, MDHA, DHA – три редокс-формы аскорбата (полностью восстановленная, семихинонная и полностью окисленная); ISP – железосерный белок, входящий в ФС1; Fd – ферредоксин; FNR – ферредоксин-NADP-редуктаза; NDH-1 – NAD(P)H-дегидрогеназа хлоропластов типа 1; P_{700} и P_{680} – первичные доноры электрона в ФС1 и ФС2; Pс – пластоцианин; PGR5 и PGRL1 – белки, участвующие в циклическом переносе электронов вокруг ФС1; PQ – пластохинон; QH_2 – пластохинол; PTOX – терминальная оксидаза хлоропластов.

процессы нециклического, циклического и псевдоциклического переноса электронов, их роль в создании *транс*-тилакоидной разности электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$), а также обсуждаются механизмы рН-зависимой регуляции функционирования цитохромного комплекса b_6f хлоропластов. Во второй части рассмотрены процессы, связанные с участием молекулярного кислорода (O_2) и аскорбата (Asc) в качестве медиаторов переноса электронов в хлоропластах.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ. ЦЕПЬ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА

У растений процессы светоиндуцированного транспорта электронов и трансмембранного переноса протонов протекают в хлоропластах — энергопреобразующих органеллах растительной клетки [18–21]. Хлоропласт отделен от цитоплазмы оболочкой, которая состоит из двух близлежащих мембран — наружной и внутренней. Под оболочкой, в строме, находятся мембраны ламелл. В нормальных физиологических условиях из ламелл формируются граны, представляющие собой стопки уплощенных и тесно прижатых друг к другу замкнутых везикул (тилакоидов), имеющих форму сплюснутых дисков диаметром ~350–600 нм. Продолжением отдельных тилакоидов гран являются обращенные в строму межгранные тилакоиды. Тилакоидные мембраны плотно заполнены белковыми комплексами, которые составляют ~70–80% от общей массы мембран. В тилакоидные мембраны встроены пигмент-белковые электрон-транспортные комплексы. В строме содержатся молекулы РНК, ДНК, рибосомы, крахмальные зерна, а также ферменты, которые обеспечивают усвоение CO_2 растениями в ЦКБ.

Схема, иллюстрирующая взаимодействие электрон-транспортных комплексов, показана на рис. 1. Энергия квантов света, поглощаемых пигментами светособирающих антенн ФС1 и ФС2, мигрирует к реакционным центрам, в которых происходит разделение зарядов и инициируется перенос электронов по фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) [6–17]. Согласованное функционирование ФС1 и ФС2 обеспечивает окисление воды в водоокисляющем комплексе ФС2 ($2H_2O \rightarrow O_2 + 4e^- + 4H^+$) и восстановление $NADP^+$ до NADPH за счет работы ФС1 ($NADP^+ + 2e^- + H^+ \rightarrow NADPH$). Цитохром-

ный b_6f -комплекс и мобильные переносчики электрона — пластохинол (PQH_2) и пластоцианин (Pc) — обеспечивают связь между встроенными в мембрану малоподвижными белковыми комплексами ФС2 и ФС1.

Перенос электронов сопряжен с генерацией *транс*-тилакоидной разности электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$). В результате разложения воды водоокисляющим комплексом ФС2 и за счет работы b_6f -комплекса происходит защелачивание стромы и накопление ионов водорода в люмене. Тилакоидные мембраны имеют сравнительно низкую проницаемость для ионов водорода и заряженных молекул. Они способны поддерживать $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$, благодаря чему встроенные в них АТР-синтазные комплексы (CF_0-CF_1) обеспечивают образование АТР из АДФ и ортофосфата P_i [3–5]. В хлоропластах основной вклад в генерацию $\Delta\tilde{\mu}_{H^+}$ вносит разность рН, $\Delta pH = pH_{out} - pH_{in}$, где pH_{out} и pH_{in} — значения рН стромы и люмена [22, 23].

Фотосистема 2 (ФС2) функционирует как оксидоредуктаза, окисляющая воду и восстанавливающая пластохинон (PQ) до пластохинола (PQH_2) [6, 7, 9–11]. В фотореакционных центрах ФС2 энергия от возбужденных светособирающих пигментов мигрирует к первичному донору электронов, который представляет собой ансамбль из четырех молекул хлорофилла *a* ($Chl_{D1}/P_{D1}/P_{D2}/Chl_{D2}$). Первичный донор электрона, известный как P_{680} , передает электрон феофитину (Phe) через хлорофилл Chl_{D1} , от которого он поступает к пластохинону PQ_A , прочно связанному с ФС2 ($P_{680}^* \rightarrow Chl_{D1} \rightarrow Phe_A \rightarrow PQ_A$). PQ_A^- восстанавливает вторую молекулу пластохинона PQ_B ($PQ_A PQ_B \rightarrow PQ_A PQ_B^-$). После присоединения к PQ_B^- второго электрона и протонирования PQ_B^{2-} за счет ионов водорода стромы ($PQ_B^{2-} + 2H_{out}^+ \rightarrow PQ_B H_2$) молекула PQH_2 диссоциирует в липидную фазу мембраны, а ее место занимает другая окисленная молекула PQ ($PQ_B H_2 + PQ \rightarrow PQ_B + PQH_2$). Дальнейший перенос электронов по ЭТЦ включает диффузию PQH_2 к цитохромному b_6f -комплексу (пластохинол-пластоцианин оксидоредуктаза). В этом комплексе происходит двухэлектронное (бифуркационное) окисление PQH_2 до PQ, приводящее к восстановлению Cyt *f*, восстанавливающего затем Pc, который служит донором электрона для ФС1. Два иона водорода, поглощенные из стромы при образовании PQH_2 ($PQ + 2e^- + 2H_{out}^+ \rightarrow PQH_2$), выделяются в люмен при окислении PQH_2 цитохромным комплексом b_6f .

Фотосистема 1 (ФС1). У растений ФС1 — это мономерный комплекс, включающий в себя

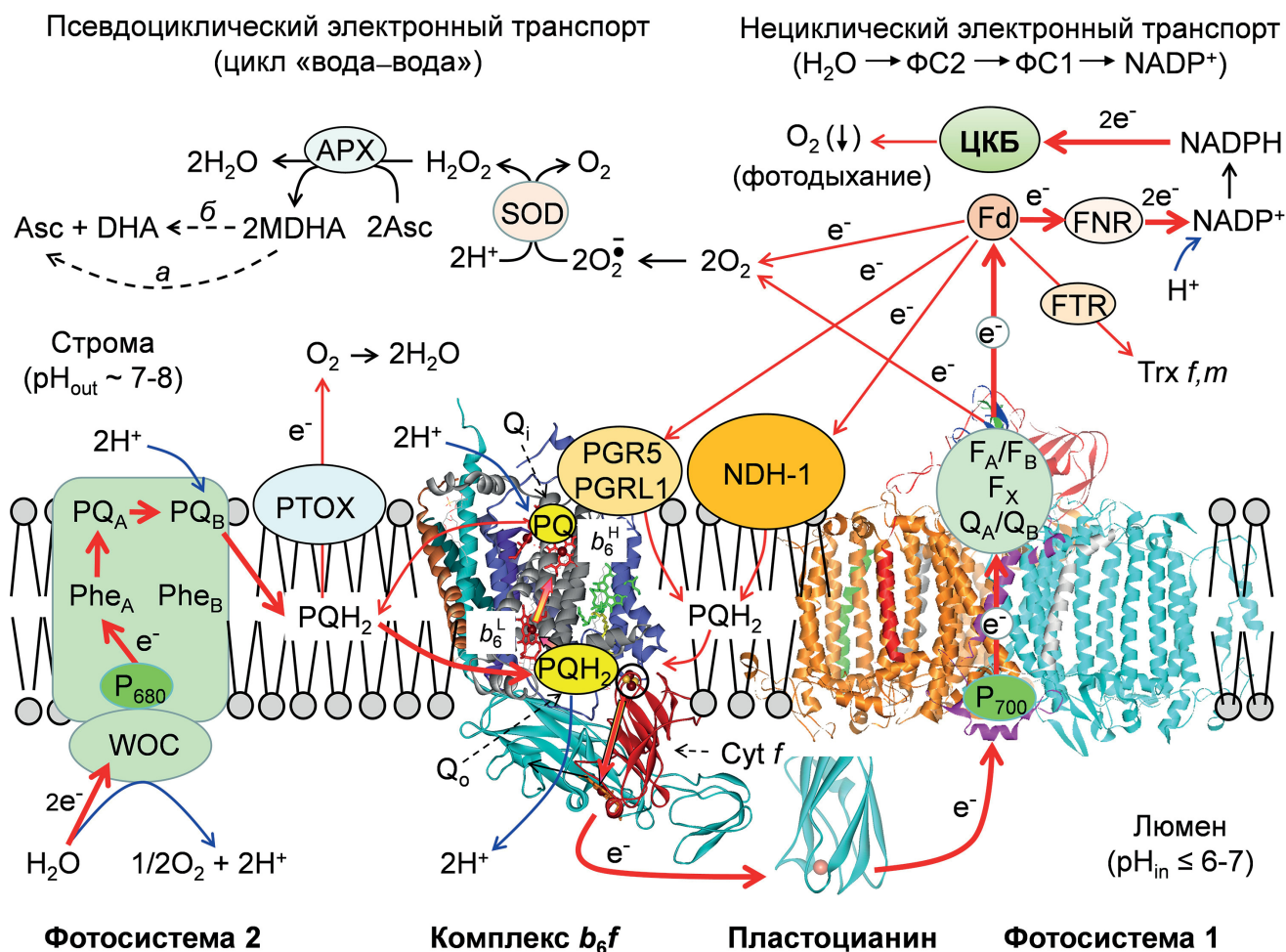


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая взаимодействие между электрон-транспортными комплексами (Фотосистема 1, Фотосистема 2 и цитохромный b_6f -комплекс), встроенными в тилакоидную мембрану, и подвижными электронными переносчиками (ферредоксин – Fd; пластохинон – PQ; пластохинол – PQH₂; пластоцианин – Pc). F_x, F_A и F_B – железосерные центры, входящие в состав ФС1; Q_A и Q_B – молекулы филохинона, связанные с ФС1; PQ_A и PQ_B – молекулы пластохинона, связанные с ФС2; APX – аскорбат пероксидаза; FNR – ферредоксин-NADP-редуктаза; FTR – ферредоксин-тиоредуктаза; NDH-1 – NAD(P)H-дегидрогеназа хлоропластов типа 1; PTOX – терминальная оксидаза хлоропластов; ЦКБ – цикл Кальвина–Бенсона; SOD – супероксиддисмутаза; Asc, MDHA и DHA – полностью восстановленная, семихинонная (монодегидроаскорбат) и окисленная (дегидроаскорбат) формы аскорбата соответственно; Trx *f,m* – изоформы *f* и *m* тиоредоксина. Расшифровка остальных обозначений и сокращений дана в основном тексте статьи. Красными стрелками показаны основные пути переноса электронов, голубые стрелки – перенос ионов водорода. Стрелками, обозначенными буквами *a* и *b*, отмечены два способа образования Asc из MDHA

светособирающие пигменты и электронные переносчики; у цианобактерий ФС1, как правило, является тримерным суперкомплексом [6, 7]. Возбуждение P_{700} – первичного донора электрона в ФС1, приводит к разделению зарядов в ФС1 и образованию окисленной формы P_{700} (P_{700}^+), которая принимает электрон от восстановленного пластоцианина (Pc^-). От ФС1 электрон переносится к ферредоксину (Fd) [6–8]. На акцепторной стороне ФС1 переносчики электрона расположены в виде двух квази-симметричных ветвей. От P_{700} электрон поступает (через молекулы Chl *a* и филохинона) к железосерному акцептору F_x, а затем через редокс-центры F_A и F_B пере-

дается ферредоксину, находящемуся в строме ($F_x \rightarrow F_A \rightarrow F_B \rightarrow Fd$). Две молекулы восстановленного ферредоксина (Fd^-) обеспечивают восстановление NADP^+ до NADPH с помощью ферредоксин-NADP-редуктазы (FNR). Таким образом, за счет совместной работы ФС2 и ФС1 осуществляется нециклический перенос электронов от воды к NADP^+ , обеспечивающий образование молекул NADPH, потребляемых в основном в реакциях ЦКБ.

На уровне пула Fd может происходить разветвление электронных потоков. Кроме нециклического электронного транспорта (НЭТ) от ФС1 к NADP^+ , Fd участвует в переносе электронов вокруг ФС1 (циклический элек-

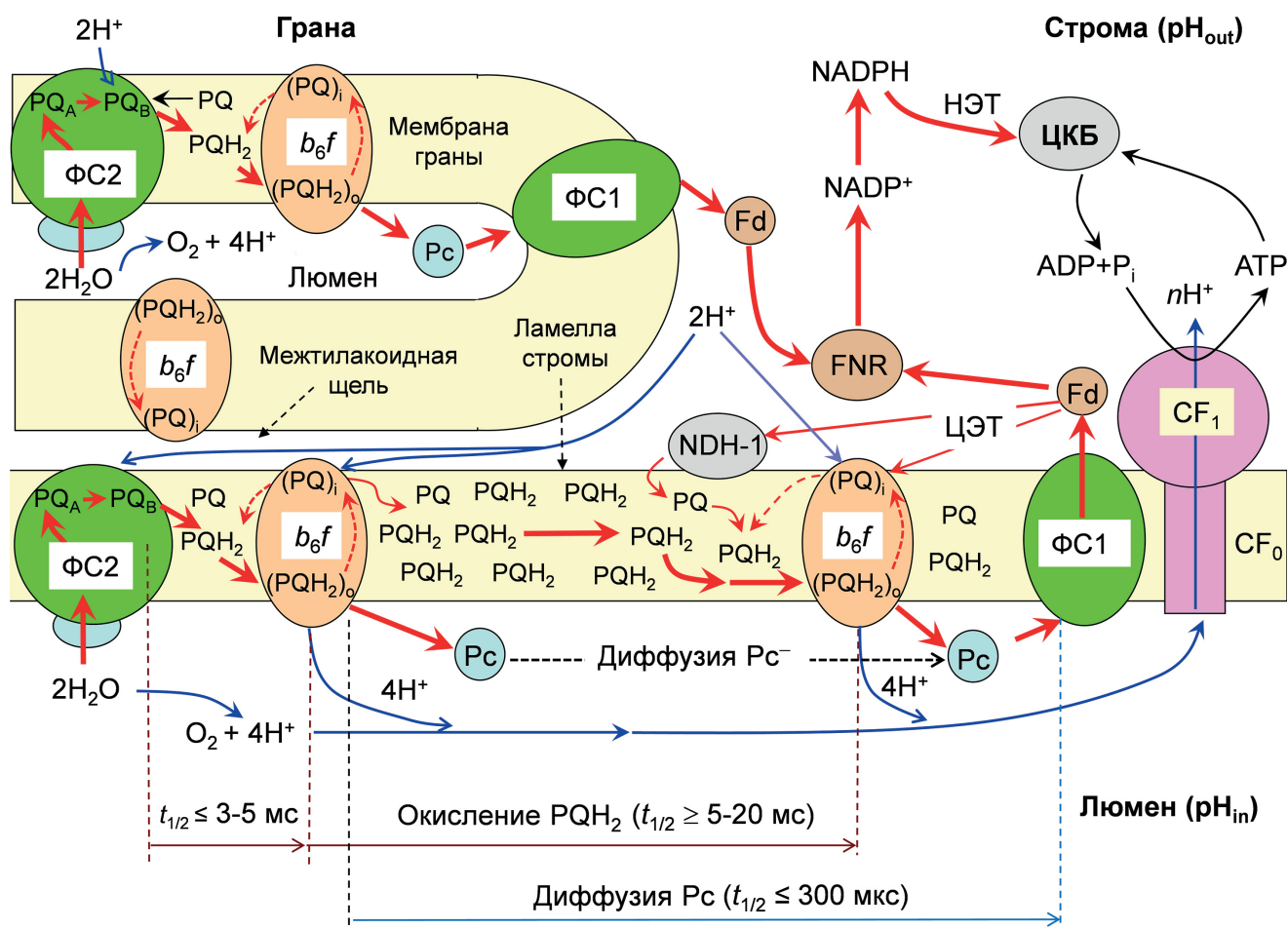


Рис. 2. Схема расположения электрон-транспортных комплексов в мембранах тилакоидов гран и межгранных тилакоидов, экспонированных в строму. Стрелками, обозначенными символами НЭТ, ЦЭТ-1 и ЦЭТ-2, показаны разные участки переноса электронов на акцепторной стороне ФЦ1. НЭТ означает нециклический перенос электронов, связанный с восстановлением NADP⁺. ЦЭТ-1 — путь циклического переноса электронов вокруг ФЦ1, предполагающий участие в этом процессе белков PGR5 и PGRL1, ассоциированных с цитохромным *b₆f*-комплексом. ЦЭТ-2 — циклический перенос электронов с помощью NADP-дегидрогеназного комплекса типа 1 (NDH-1)

тронный транспорт, ЦЭТ), когда электрон от Фд возвращается в пластохиноновый пул хлоропластов [24–31]. На рис. 2 показаны возможные пути ЦЭТ, по которым электроны с акцепторной стороны ФЦ1 возвращаются в пул молекул пластохинона. Один из них предполагает участие в ЦЭТ гипотетического белка FQR (ферредоксин-хинон редуктаза), существование которого было постулировано ранее [24]. В настоящее время имеются веские основания считать, что роль FQR выполняют белки PGR5 и PGRL1, ассоциированные с цитохромным *b₆f*-комплексом [28–30]. Кроме этого, возможен перенос электрона от восстановленного Фд к пластохиноновому пулу с участием минорного NADPH-дегидрогеназного комплекса типа 1 (NDH-1), образующего суперкомплекс с ФЦ1 [31–35].

Окисление пластохинола в цитохромном *b₆f*-комплексе. Q-цикл. Цитохромный ком-

плекс *b₆f* — связующее звено в цепи электронного транспорта, обеспечивающее взаимодействие между ФЦ2 и ФЦ1. Окисление RQH₂ комплексом *b₆f* — самая медленная стадия в цепи переноса электронов от ФЦ2 к ФЦ1 [36–41]. Лимитирующим звеном на этом участке ЭТЦ является оборот пластохинона (PQ → RQH₂ → → PQ), включающий в себя образование RQH₂ в ФЦ2 и взаимодействие RQH₂ с *b₆f*-комплексом. Экспериментально доказано, что в широком диапазоне условий (pH, температура) восстановление PQ до RQH₂ в ФЦ2 и его диффузия в мембране к *b₆f*-комплексу происходят быстрее, чем непосредственное окисление RQH₂ внутри цитохромного комплекса [37, 38, 40, 41].

Цитохромный *b₆f*-комплекс организован как димерный комплекс, состоящий из двух одинаковых белковых фрагментов [12–17, 42]. Окисление RQH₂ происходит в хинол-свя-

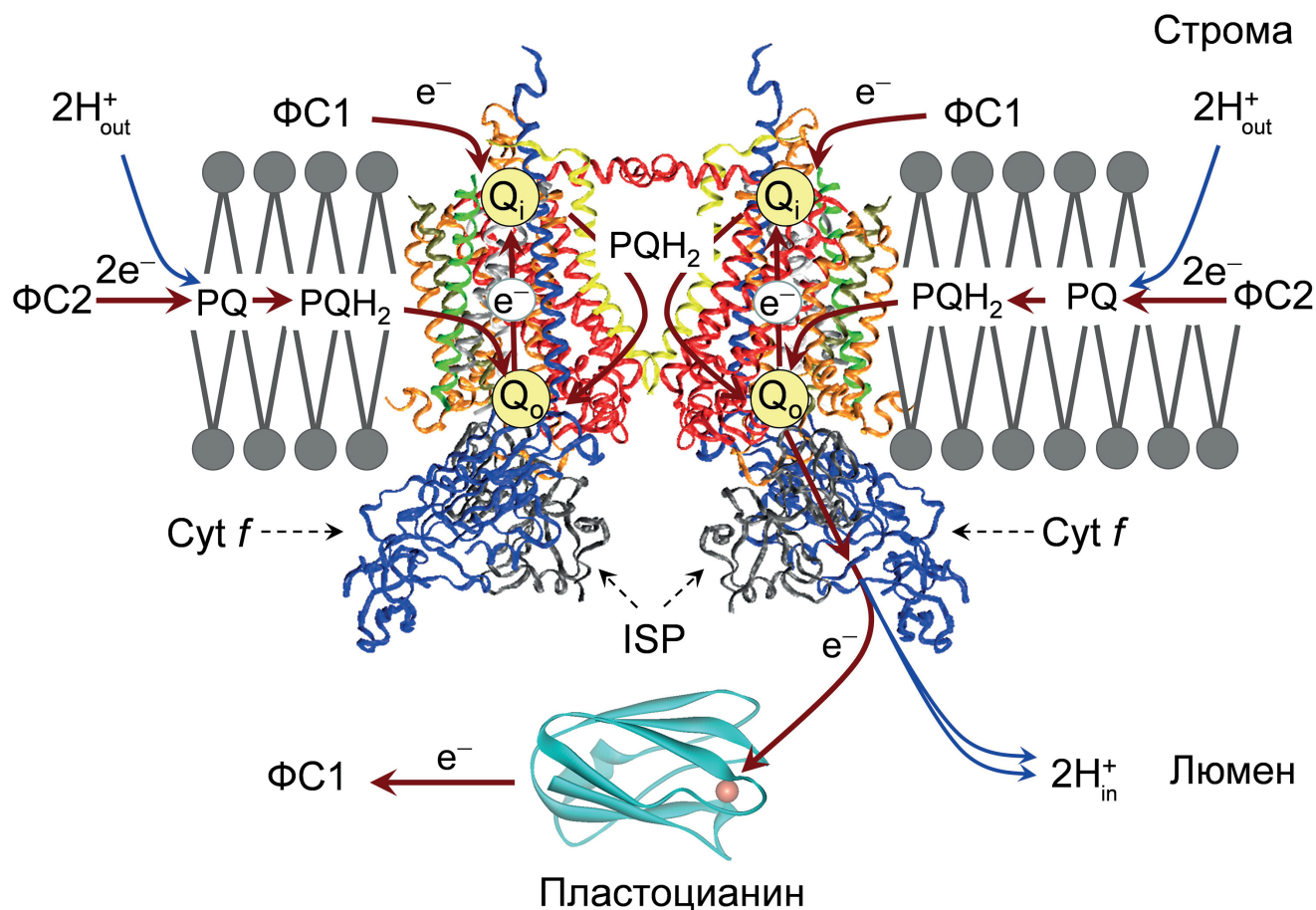


Рис. 3. Димерный цитохромный комплекс b_6f . Изображение построено с помощью программы Accelrys DV visualizer software package (<http://www.accelrys.com>) по данным PDB (код 1Q90)

зывающих центрах димерного комплекса (рис. 3, каталитические сайты Q_o). Каждый из Q_o -центров расположен около люменальной стороны тилакоидной мембраны, между низкопотенциальным гемом b_L^L и кластером Fe_2S_2 высокопотенциального белка (ISP), называемого часто белком Риск. Каталитические функции мономеров осуществляются за счет четырех окислительно-восстановительных центров: Fe_2S_2 -кластер ISP, двух гемов цитохрома b_6 (b_L^L и b_H^H) и цитохрома f . Согласно механизму Q-цикла Митчелла [42–46], окисление PQH_2 имеет бифуркационный характер; два электрона, донируемых молекулой PQH_2 , переносятся по разным цепям: один электрон поступает к окисленному Fe_2S_2 -кластеру ISP, второй электрон переносится на низкопотенциальный гем b_L^L . При этом два протона, переносимые молекулой PQH_2 , диссоциируют в люмен. В высокопотенциальной цепи переноса электрона ISP окисляется гемом f , от которого электрон поступает к пластоцианину и далее к окисленному центру P_{700}^+ ($ISP \rightarrow f \rightarrow Pc \rightarrow P_{700}^+$). Второй электрон, дони-

руемый PQH_2 , переносится по низкопотенциальной цепи b_6f -комплекса, включающей в себя два гема цитохрома b_6 и гем c_n . Этот электрон поступает к молекуле PQ, находящейся в центре Q_i ($b_L^L \rightarrow b_H^H \rightarrow PQ$). Согласно модели модифицированного Q-цикла, второй электрон поступает в центр Q_i от акцепторного участка ФС1. После 2-кратного восстановления PQ и присоединения двух протонов из стромы ($PQ + 2e^- + 2H_{out}^+ \rightarrow PQH_2$) восстановленная молекула PQH_2 диссоциирует из центра Q_i и возвращается в каталитический центр Q_o (см. подробнее [12–17, 42–45]). В итоге получается, что в расчете на один электрон, переносимый в ЦКБ от ФС1 ($ФС1 \rightarrow NADP^+$), внутрь тилакоида переносятся два протона ($H^+/e^- = 2$) [46].

Диффузия пластоцианина в люмене. Цитохромный комплекс восстанавливает молекулу Рс. Диффундируя внутри люмена, Pc^- переносит электрон к ФС1. Диффузия Pc^- и его окисление за счет ФС1 происходят быстрее (при комнатных температурах $\tau_{1/2} < 300$ мкс), чем диффузия PQH_2 от ФС2 к b_6f -комплексу и взаимодействие PQH_2 с b_6f -комплексом

($\tau_{1/2} \geq 4-20$ мс) [36–41]. При определенных условиях (например, в хлоропластах, адаптированных к темноте) стерические ограничения могут препятствовать перемещению молекул Pc^- внутри узкого ($\sim 4-5$ нм) просвета люмена [47]. Ширина просвета люмена может увеличиваться при освещении хлоропластов, поэтому латеральная диффузия Pc^- в люмене перестает лимитировать перенос электронов от b_6f -комплексов к $\Phi C1$ [47].

Наряду с описанными выше процессами в хлоропластах могут происходить альтернативные реакции электронного переноса, среди которых особая роль принадлежит так называемому псевдоциклическому переносу электронов, когда конечным акцептором электронов, донируемых $\Phi C1$, служит молекулярный кислород (реакция Мелера [48–51]). Восстановление O_2 до воды может также катализироваться терминальной оксидазой хлоропластов (РТОХ), окисляющей RQH_2 [52–56]. Следует отметить, что содержание РТОХ в зрелых тилакоидах очень низкое — всего лишь один комплекс на 100 $\Phi C2$ [57]. Содержание NDH-1 примерно в 3 раза меньше, чем содержание РТОХ [57, 58].

В метаболизме растительной клетки также особую роль играют редокс-реакции с участием аскорбата, которые обеспечивают детоксикацию активных форм кислорода (АФК) [59]. Альтернативные пути переноса электронов подробнее рассмотрены ниже.

ЛАТЕРАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАН И АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

Фотосинтетические белковые комплексы неравномерно распределены между тилакоидами гран и межгранными тилакоидами [18–21, 60–63]. Тилакоиды гран обогащены комплексами $\Phi C2$; большинство $\Phi C1$ и АТР-синтазных комплексов сосредоточено в межгранных тилакоидах, на краях и торцах гран, экспонированных в строму. Цитохромные комплексы распределены приблизительно равномерно вдоль ламеллярных мембран, из которых формируются тилакоиды гран и стромы [60–63]. Неоднородное распределение комплексов обусловлено стерическими ограничениями — АТР-синтазы и комплексы $\Phi C1$ имеют белковые фрагменты, значительно выступающие за пределы мембраны, что препятствует компактному расположению этих комплексов в тес-

но прижатых друг к другу тилакоидах гран. С латеральной гетерогенностью тилакоидных мембран можно связать структурно-функциональные свойства тилакоидов. Цитохромные комплексы, локализованные в гранальных и стромальных областях, могут участвовать в переносе электронов по разным путям: «гранальные» b_6f -комплексы функционируют в цепи нециклического («линейного») переноса электронов от $\Phi C2$ к $\Phi C1$ и далее к $NADP^+$ ($\Phi C2 \rightarrow PQ \rightarrow b_6f \rightarrow Pc \rightarrow \Phi C1 \rightarrow NADP^+$), «стромальные» комплексы могут быть включены в цепь циклического переноса электронов вокруг $\Phi C1$ ($\Phi C1 \rightarrow Fd \rightarrow PQ \rightarrow b_6f \rightarrow Pc \rightarrow \Phi C1$).

Взаимодействие между малоподвижными удаленными белковыми комплексами обеспечивается за счет диффузии подвижных электронных переносчиков — пластохинона и пластоцианина. Высокая плотность белковых комплексов в тилакоидной мембране ограничивает подвижность пластохинона, а также стерические ограничения, затрудняющие движение пластоцианина в узкой щели люмена, могут ограничивать скорости диффузионно-контролируемых стадий электронного переноса [64]. Отметим, что, несмотря на стерические ограничения, диффузия RQH_2 в тилакоидной мембране не лимитирует скорость переноса электронов между фотосистемами. Как уже было сказано выше, в широком диапазоне экспериментальных условий (рН, температура) образование RQH_2 в $\Phi C2$ и его диффузия происходят быстрее, чем непосредственное окисление RQH_2 после его проникновения в каталитический центр Q_o цитохромного b_6f -комплекса [37, 38]. Несмотря на то что многие комплексы $\Phi C2$ и $\Phi C1$ удалены друг от друга, значительная часть b_6f -комплексов, расположенных в гранах, находится вблизи от $\Phi C2$. Близкое расположение этих комплексов минимизирует среднее расстояние, которое проходят молекулы пула пластохинона, обеспечивая быстрый обмен между молекулами RQH_2 и PQ , образующимися в результате работы $\Phi C2$ (восстановленные молекулы RQH_2) и b_6f -комплекса (окисленные молекулы PQ). Таким образом, за счет высокой подвижности пластохинола в мембране и быстрой диффузии Pc в люмене [38, 40] обеспечивается эффективный перенос электронов от $\Phi C2$ к $\Phi C1$ и далее к $NADP^+$ (нециклический электронный транспорт).

Цитохромные b_6f -комплексы, находящиеся в межгранных тилакоидах рядом с комплексами $\Phi C1$, могут быть непосредственно включены в цепь циклического электронного транспорта вокруг $\Phi C1$. Эффективному функцио-

нированию ЦЭТ может способствовать образование суперкомплекса из электрон-транспортных комплексов b_6f и ФС1 [27]. Возможны различные пути ЦЭТ. В качестве медиаторов электронного переноса, участвующих в работе ЦЭТ, служат белки PGR5 и PGRL1, функционирующие совместно с b_6f -комплексом [28–30].

Другой путь ЦЭТ вокруг ФС1 реализуется с помощью минорного NAD(P)H-дегидрогеназного комплекса типа 1, являющегося аналогом подобного комплекса в митохондриях [31–33]. NDH-1 выполняет роль оксидоредуктазы, окисляющей ферредоксин и восстанавливающей пластохинон [34, 35]. Электронный транспорт по ЦЭТ вокруг ФС1 сопряжен с созданием $\Delta\tilde{\mu}_H^+$ и, соответственно, может обеспечивать синтез АТФ. При этом, однако, не происходит восстановления $NADP^+$. Сосуществование линейного и циклического потоков электронов позволяет поддерживать стехиометрию между молекулами АТФ и NADPH, необходимую для оптимального функционирования ЦКБ (АТФ/NADPH = 3/2) [1, 2].

Распределение b_6f -комплексов между тилакоидами гран и межгранными тилакоидами зависит от функционального состояния фотосинтетического аппарата. Изменения архитектуры хлоропластов может приводить к перераспределению электронных потоков между нециклическим и циклическим потоками. Латеральное перемещение части b_6f -комплексов из гран в стромальные области тилакоидных мембран должно способствовать увеличению относительного вклада ЦЭТ в работу хлоропластов. Предполагается, что такое перераспределение b_6f -комплексов может происходить, например, за счет светоиндуцированных изменений расстояния между прилегающими друг к другу соседними тилакоидами гран [65].

Две изоформы ферредоксина и альтернативные потоки электронов. С учетом локализации b_6f -комплексов в разных областях хлоропластов представляют интерес данные о существовании нескольких изоформ ферредоксина (как минимум двух фракций — минорной (Fd1) и основной (Fd2)), которые незначительно различаются по физико-химическим (например, по значениям стандартных редокс-потенциалов) и некоторым функциональным свойствам [66–70]. Белки Fd1 и Fd2 имеют близкие аминокислотные последовательности, но в хлоропластах СЗ-растений они присутствуют в разных количествах. Например, у арабидопсиса и гороха фракции Fd1 и Fd2 составляют соответственно 10% и 90% от общего пула молекул ферредоксина [66]. Соотношение между

фракциями зависит от условий акклимации растений: у растений, выращиваемых на слабом свете, практически не наблюдается экспрессии Fd1; в условиях, стимулирующих ЦЭТ (высокая интенсивность света, засуха), экспрессия Fd1 значительно возрастает [68, 69].

В качестве примера, иллюстрирующего различие в функционировании Fd1 и Fd2, рассмотрим результаты опытов с хлоропластами бобов класса Б (хлоропласты с нарушенной внешней мембраной, лишенные ферредоксина), воспроизведенные на рис. 4 с использованием кинетических данных работы Гинс и соавт. [70]. В этих хлоропластах сохранялась связанная с мембраной ферредоксин-NADP-редуктаза, но терялись находившиеся в строме молекулы ферредоксина. Добавление $NADP^+$ — физиологического акцептора электронов — не сказывалось на кинетике электронного переноса, оцениваемой по светоиндуцированным изменениям сигнала электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) от окисленных центров P_{700}^+ [70]. Обе формы ферредоксина, Fd1 и Fd2, проявляли активность в качестве медиаторов переноса электронов. В обоих случаях дальний красный свет ($\lambda_{\text{макс}} = 707$ нм), возбуждающий преимущественно ФС1, вызывал заметное окисление P_{700} . Однако при действии белого света (БС), возбуждающего обе фотосистемы, добавление Fd1 или Fd2, взаимодействующих с FNR, влияло на кинетику редокс-превращений P_{700} разным образом. Fd2 более эффективно катализировал «линейный» перенос электрона от ФС1 к FNR и далее к $NADP^+$. Об этом свидетельствует тот факт, что в присутствии Fd2 белый свет вызывал более сильный рост сигнала ЭПР от P_{700}^+ (рис. 4, параметр В), чем в случае добавления Fd1. Fd1 проявлял заметную активность в качестве электронного переносчика в цепи ЦЭТ вокруг ФС1. В присутствии Fd1 интенсивность сигнала от P_{700}^+ при действии белого света была меньше, чем в случае Fd2. Такое различие могло быть обусловлено ускорением оттока электронов от ФС1 к $NADP^+$ за счет Fd2, а также тем, что Fd1 катализирует циклический перенос электронов вокруг ФС1, возвращая электроны к ФС1, тем самым уменьшая концентрацию P_{700}^+ . Было также показано, что добавление антимицина — ингибитора ЦЭТ — ускоряло фотоокисление P_{700} . Эффект антимицина заметнее проявлялся в случае Fd1, чем Fd2. Это указывает на более высокую активность Fd1 в качестве медиатора ЦЭТ вокруг ФС1. В литературе высказывалось предположение, что варьирование экспрессии разных изоформ Fd

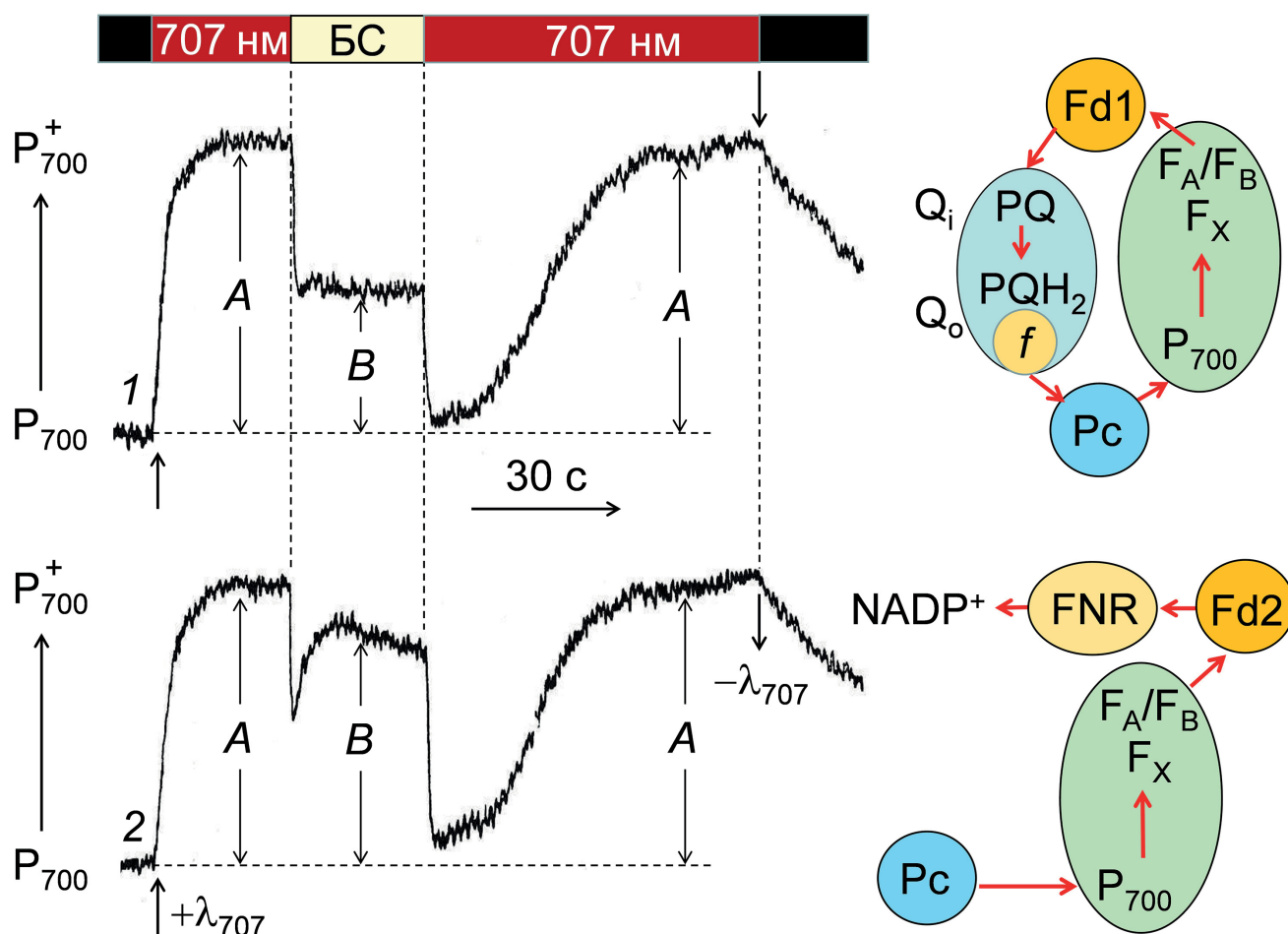


Рис. 4. Влияние двух изоформ ферредоксина гороха, Fd1 и Fd2, на кинетику изменений величины сигнала ЭПР от P_{700}^+ в изолированных хлоропластах бобов (*Vicia faba*) класса Б, индуцированных действием дальнего красного ($\lambda_{\text{макс}} = 707 \text{ нм}$) и белого света (БС) в присутствии 2 мМ NADP^+ . Добавки ферредоксина: 1 – 60 мкМ Fd1, 2 – 60 мкМ Fd2. Рисунок построен с использованием кинетических кривых, приведенных в работе [70]

позволяет растениям оптимизировать использование солнечной энергии и избегать избыточного восстановления переносчиков цепи электронного транспорта при неблагоприятных условиях внешней среды [68, 69].

РЕГУЛЯЦИЯ ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА НА УРОВНЕ b_6f -КОМПЛЕКСА

Стадия окисления PQH_2 , лимитирующая перенос электронов между ФС2 и ФС1. Имеются доказательства, что в широком диапазоне экспериментальных условий (рН, температура) лимитирующей стадией переноса электронов между ФС2 и ФС1 является не диффузия PQH_2 от ФС2 к b_6f -комплексу, а перенос электрона от PQH_2 к Fe_2S_2 -кластеру белка Риске, происходящий после образования комплекса между PQH_2 и ISP. Этот вывод, сделанный ранее на основании исследования кинетики редокс-

превращений P_{700} в хлоропластах шпината и бобов [37, 38], недавно получил дополнительное подтверждение в опытах на мутантах арабидопсиса, у которых диаметр гран варьировал в широких пределах (от 370 до 1600 нм). В работе Hühner et al. [40] было показано, что во всех случаях характерное время образования PQH_2 в ФС2 и его диффузии к b_6f -комплексу составляло $\sim 3,2 \div 3,6 \text{ мс}$. Это время существенно меньше общего времени окисления PQH_2 , независимо от диаметра гран. Данные результаты убедительно доказывают, что именно окисление PQH_2 в каталитическом центре Q_o , а не диффузия PQH_2 в тилакоидной мембране, является стадией, лимитирующей перенос электронов от ФС2 к b_6f -комплексу [37, 38].

После восстановления ISP его подвижный домен, содержащий Fe_2S_2 -кластер, смещается к цитохрому f и передает электрон гему f . От цитохрома f электрон переносится к Рс. После окисления ISP его мобильный домен

возвращается в исходное положение. Движение мобильного домена не лимитирует общую скорость переноса электрона: значительные смещения редокс-центра ISP происходят быстро по сравнению со скоростью окисления PQH_2 кластером Fe_2S_2 . При комнатных температурах перенос электронов от ISP_{red} к $\text{Cyt } f$ протекает с характерным временем $\approx 2\text{--}4$ мс [71, 72], которое меньше времени полуокисления PQH_2 и восстановления цитохрома f ($\tau_{1/2} \geq 5\text{--}20$ мс [36–41]). Это означает, что скорость окисления PQH_2 определяется в основном стадией переноса электрона от PQH_2 к окисленному Fe_2S_2 -кластеру после образования субстрат-ферментного комплекса $\text{PQH}_2\text{--ISP}_{\text{ox}}$.

pH-Зависимая регуляция электронного переноса в хлоропластах. Известны два основных механизма pH-зависимого торможения электронного переноса между ФС2 и ФС1, обусловленные уменьшением pH люмена (pH_{in}): 1) замедление окисления PQH_2 цитохромным b_6f -комплексом [12–15, 73–76] и 2) ослабление фотохимической активности ФС2 за счет явления, известного как нефотохимическое тушение (НФТ) возбуждения хлорофилла [77–79]. Влияние pH_{in} на скорость окисления PQH_2 происходит по механизму отрицательной обратной связи: окисление PQH_2 сопровождается выделением протонов в люмен, закисление люмена ($\text{pH}_{\text{in}} \downarrow$) тормозит окисление PQH_2 . Согласно модели «proton-gated» [80, 81], депротонирование PQH_2 стимулирует перенос электрона на окисленный белок Риске (ISP_{ox}); замедление депротонирования PQH_2 при понижении pH_{in} должно тормозить окисление PQH_2 . Имеются все основания считать, что от PQH_2 протон переносится к гистидиновому остатку ISP, являющегося лигандом для одного из ионов Fe кластера Fe_2S_2 , и это происходит одновременно с переносом электрона к Fe_2S_2 -кластеру ISP (см. подробнее [12–16, 42, 44]). Величина pK_a протонируемой группы ISP зависит от редокс-состояния Fe_2S_2 -кластера [82]. Два процесса — депротонирование PQH_2 (перенос протона к гистидиновому остатку ISP) и перенос электрона к Fe_2S_2 -кластеру ISP можно рассматривать как сопряженные процессы, которые взаимосвязаны и происходят практически одновременно [83–87]. Депротонированное состояние ISP — необходимое условие для того, чтобы перенос протона от PQH_2 к ISP мог осуществиться. Депротонирование ISP связано с выходом протона в люмен; вероятность этого процесса зависит от pH_{in} . Протонирование/депротонирование ISP зависит от эффективного значения pK_a

протонируемой группы ISP и контролируется величиной pH_{in} [12, 14]. Окисление ISP после переноса электрона к гемму f сопровождается уменьшением pK_a , что должно стимулировать депротонирование ISP [82] и, соответственно, способствовать окислению PQH_2 . Однако при достаточно сильном закислении люмена ($\text{pH}_{\text{in}} \leq \text{pK}_a$) депротонирование ISP будет затрудняться, а потому поток электронов через цитохромный b_6f -комплекс будет ослабевать. Простая математическая модель, основанная на том, что перенос электронов через цитохромный комплекс контролируется процессами протонирования/депротонирования ISP, хорошо описывает pH-зависимость электронного переноса через b_6f -комплекс [12, 14]. Альтернативная гипотеза об участии молекулы воды в качестве первичного акцептора протона при окислении убихинола в цитохромном комплексе bc_1 была выдвинута в работе Postila et al. [88].

Явление фотосинтетического контроля. pH-зависимая регуляция электронного транспорта лежит в основе явления, называемого «фотосинтетическим контролем» [89–92]. Суть этого явления заключается в том, что поток электронов между ФС2 и ФС1 коррелирует с величиной «фосфатного потенциала», $P = [\text{ATP}] / ([\text{ADP}] \times [\text{P}_i])$, где $[\text{ATP}]$, $[\text{ADP}]$ и $[\text{P}_i]$ — концентрации АТФ, АДП и P_i . Отношение АТФ/АДП может изменяться в зависимости от физиологического состояния растительной клетки и взаимодействия фотосинтетического аппарата с митохондриями и другими метаболическими системами [93–96]. В состоянии «фотосинтетического контроля» («состояние 4» по терминологии Chance и Williams [89]), когда пулы молекул АДП и/или P_i исчерпаны, синтез АТФ и трансмембранный поток протонов через АТФ-синтазу (комплекс $\text{CF}_0\text{--CF}_1$) ослабевают, при этом pH люмена снижается достаточно сильно ($\text{pH}_{\text{in}} < 6$), что замедляет работу цитохромного комплекса. В «состоянии 3», когда происходит интенсивный синтез АТФ, выход протонов из люмена в строму ускоряется и потому не происходит столь сильного закисления люмена ($\text{pH}_{\text{in}} \geq 6\text{--}6,5$), которое могло бы существенно замедлить перенос электронов. При этом обеспечивается эффективный синтез АТФ и одновременно поддерживается высокая скорость электронного транспорта [74–76, 90–92].

Увеличение pH стромы (pH_{out}), обусловленное переносом протонов из стромы в люмен, также может влиять на скорость работы фотосинтетической ЭТЦ. Повышение pH_{out} до уровня $\text{pH}_{\text{out}} \approx 7,8\text{--}8,0$ способствует активации

реакций ЦКБ [1]. Это должно приводить к ускорению потребления NADPH и, соответственно, к более быстрому оттоку электронов от ФС1. Опыты с инфильтрацией в листья протонофоров (разобшителей), выравнивающих pH внутри (люмен, pH_{in}) и снаружи (строма, pH_{out}) тилакоидов, подтверждают сказанное выше о pH-зависимой регуляции электронного транспорта в хлоропластах [97, 98].

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ В ХЛОРОПЛАСТАХ

Наряду с рассмотренными выше электрон-транспортными процессами, связанными с восстановлением NADP⁺ и ЦЭТ вокруг ФС1, в хлоропластах протекают другие редокс-реакции, среди которых важнейшую роль в функционировании фотосинтетического аппарата играют молекулярный кислород и аскорбат.

Взаимодействие O₂ с хлоропластами. Молекулярный кислород (O₂) — активный участник метаболических процессов в растительной клетке. Молекулы O₂ служат акцепторами электрона, взаимодействующими с ЭТЦ хлоропластов. При этом могут возникать активные формы кислорода: супероксидные радикалы (O₂^{•−}), пероксид водорода (H₂O₂) и очень токсичный радикал OH[•] [51]. У растений образование O₂^{•−} происходит в результате одно-электронного восстановления O₂ за счет его взаимодействия с фотосинтетической ЭТЦ. Основным источником электронов для образования АФК служит акцепторный участок ФС1, которой содержит входящие в ФС1 низкопотенциальные медиаторы электронного переноса. Такими донорами электронов могут быть филлохинон PhQ и низкопотенциальные железосерные центры F_A, F_B, F_X, а также ферредоксин [99–102]. От ФС1 электрон переносится на молекулу O₂, которая восстанавливается до супероксидного радикала (O₂ + e[−] → O₂^{•−}, реакция Мелера [48–49]). Супероксидный радикал (O₂^{•−}) превращается затем в пероксид водорода и O₂ за счет супероксид-дисмутазной реакции (2O₂^{•−} + 2H⁺ → H₂O₂ + O₂) [51]. Численные оценки вклада реакции Мелера в образование АФК неоднозначны. Большинство авторов считает, что вклад реакции Мелера невелик, он составляет не более ~10%; по другим сообщениям поток электронов к O₂ достигает 40% от суммарного потока электронов, донируемый ФС2 (см. обзоры [49–51] и цитированную в них литературу). Тем не менее даже сравнительно слабый поток электронов от ФС1 к O₂ может оказаться суще-

ственным для поддержания оптимального энергетического баланса в хлоропластах и защите фотосинтетического аппарата растений от окислительного стресса. В качестве примеров, иллюстрирующих влияние оттока электронов от ФС1 к O₂, служат результаты опытов с инфильтрацией в лист метилвиолена — искусственного медиатора электронного транспорта, который заметно ускоряет фото-окисление P₇₀₀, увеличивая стационарный уровень P₇₀₀⁺, а также опыты по варьированию содержания O₂ в среде, окружающей лист, или в суспензии клеток цианобактерий [103–106].

Наряду с потоком электронов к O₂ от низкопотенциальных акцепторов, входящих в состав ФС1 [99–101], определенный вклад в образование АФК вносят восстановленный ферредоксин [51, 102], цитохромный b₆f-комплекс и редокс-активные молекулы пласто-семихинона и пластохинона внутри тилакоидной мембраны [51, 107–109]. Вклад ФС2 в восстановление O₂ невелик. Сравнивая цитохромные комплексы b₆f и bc₁, следует отметить, что b₆f-комплекс проявляет заметно более высокую (на порядок) скорость восстановления O₂, чем bc₁-комплекс [107]. Предполагается, что это может быть объяснено присутствием молекулы хлорофилла *a* вблизи от места локализации PQH₂ в каталитическом центре Q_o. Фитильный хвост хлорофилла может создавать стерические затруднения, препятствующие смещению в сторону гема b₆ молекулы пласто-семихинона, образующейся после реакции переноса электрона от PQH₂ к белку Риске. Тем самым увеличивается время жизни редокс-активного радикала (пласто-семихинон) и возрастает эффективность восстановления O₂.

Восстановление O₂ в аэробных условиях за счет электронов, донируемых переносчиками ЭТЦ на участке между ФС2 и ФС1, получившее название «хлорореспирации» (*chlororespiration*), хорошо известно [52–56]. При этом происходит окисление пула PQH₂, о чем можно судить, например, по измерениям индукции флуоресценции хлорофилла *a* в ходе адаптации листьев растений к темноте [103, 104]. Этот процесс происходит с участием терминальной оксидазы хлоропластов, которая окисляет PQH₂ и обеспечивает перенос электрона к молекуле O₂. Относительный вклад этого пути восстановления O₂ мал по сравнению с вкладом светоиндуцируемой реакции Мелера [51, 57, 58]. Однако хлорореспирация проявляется, например, когда мы оцениваем изменение редокс-статуса ЭТЦ хлоропластов при адаптации растений к темноте. Этим каналом оттока электронов к O₂ объясняется

сравнительно медленное (минуты-десятки минут) окисление пула пластохинона в темноте. Наконец, хорошо известно, что в интактных хлоропластах может происходить поглощение кислорода на уровне Рубиско за счет явления, называемого *фотодыханием* (см. [1, 51] и цитируемую в них литературу).

Другой механизм восстановления O_2 за счет пластохинола был предложен в работах Бориса Николаевича Иванова и соавт. (см. обзор этих работ в статье Иванова и соавт. [51]). Результаты их исследований позволяют предположить, что донорами электрона для восстановления O_2 являются редокс-активные молекулы пластосемихинона (предпочтительно, депротонированная форма $PQ^{\cdot-}$), которые могут образовываться в результате реакции «компропорционирования» ($PQH_2 + PQ \leftrightarrow 2PQH^{\cdot} \leftrightarrow 2PQ^{\cdot-} + 2H^+$). Реакционноспособные радикалы $PQ^{\cdot-}$ окисляются за счет их взаимодействия с O_2 . Этим также можно объяснить тот факт, что в темноте в аэробных условиях содержание PQH_2 в хлоропластах постепенно уменьшается [103, 104]. В работах Иванова и соавт. [51, 108, 109] также развивается и обосновывается идея о том, что, помимо восстановления молекул O_2 в пуле пластохинона молекулами пластосемихинона, может быть, более важную роль играет восстановление молекулами пластогидрохинона супероксидных анион-радикалов, образующихся как в этом пуле, так и в ФС1. По мнению авторов, этот процесс участвует как в детоксикации $O_2^{\cdot-}$, так, и что важнее, в продукции сигнальных молекул пероксида водорода, которые, образовавшись именно таким путем, являются мессенджерами, передающими информацию другим системам хлоропласта и клетки о состоянии ЭТЦ — чувствительном датчике состояния окружающей среды.

Проницаемость тилакоидных мембран для O_2 .

Не останавливаясь на том, как изменение концентрации O_2 внутри растительной клетки может влиять на функционирование других метаболических систем [94–96], отметим некоторые свойства мембран хлоропластов, важные для понимания особенностей их взаимодействия с O_2 . Установлено, что у растений происходит сравнительно быстрое выравнивание концентраций кислорода внутри листа и в окружающей атмосфере. Это было показано методом ЭПР с использованием твердых кислород-чувствительных парамагнитных частиц, которые вводили внутрь листа с помощью микрошприца [110]. Такие образцы листьев сохраняют способность выделять O_2 на свету за счет работы ФС2 и поглощать O_2 в темно-

те за счет дыхания. При этом концентрация O_2 внутри листьев, находящихся в контакте с воздухом, практически не меняется в ответ на включение и выключение света [110].

Отметим также, что скорость диффузии O_2 через тилакоидные мембраны, определенная путем зондирования мембран с помощью липидо-растворимых спиновых зондов, является высокой [111]. Проницаемость липидного бислоя тилакоидных мембран хлоропластов шпината для O_2 , измеренная при 20 °C, составляет $39,5 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$, что на 20% выше коэффициента проницаемости слоя воды той же толщины, что у липидной мембраны. Высокая проницаемость мембран для O_2 может способствовать выравниванию концентраций O_2 в разных компартментах растительной клетки. Согласно оценкам, приведенным в работе Ligeza et al. [110], *транс*-тилакоидная разность концентраций O_2 невелика, она не превышает 1 мкМ. Хорошая «вентиляция» внутреннего интерьера листьев растений указывает на то, что значительного накопления O_2 внутри растительных клеток, которое могло бы возникать за счет окисления воды в ФС2, не происходит, что должно ограничивать генерацию АФК.

Хорошая аэрация растительной клетки должна способствовать тому, что фотосинтетический аппарат хлоропластов будет эффективно взаимодействовать с другими метаболическими системами растительной клетки. Показательным является тот факт, что при удалении O_2 путем обдувания листьев инертным газом (N_2 или Ar) резко падает концентрация окисленных центров P_{700}^+ при освещении листьев светом, возбуждающим обе фотосистемы [103–105]. Одно из объяснений этого явления — ограничение оттока электронов от ФС1 к O_2 , препятствующее окислению P_{700} . Избыточное восстановление переносчиков на акцепторной стороне ФС1, не способных принимать электроны от P_{700} , будет ускорять рекомбинацию зарядов в ФС1, препятствуя фотоокислению P_{700} . При этом может образоваться синглетный кислород, весьма опасная форма АФК [112]. Можно также предположить, что при дефиците O_2 замедляется работа дыхательной цепи митохондрий растительной клетки и/или нарушается функционирование других метаболических систем, что могло бы ослаблять потребление NADPH — конечного акцептора электронов в ФС1, и тем самым препятствовать окислению P_{700} .

Взаимодействие аскорбата с хлоропластами.

В метаболизме растений особую роль играют окислительно-восстановительные процессы

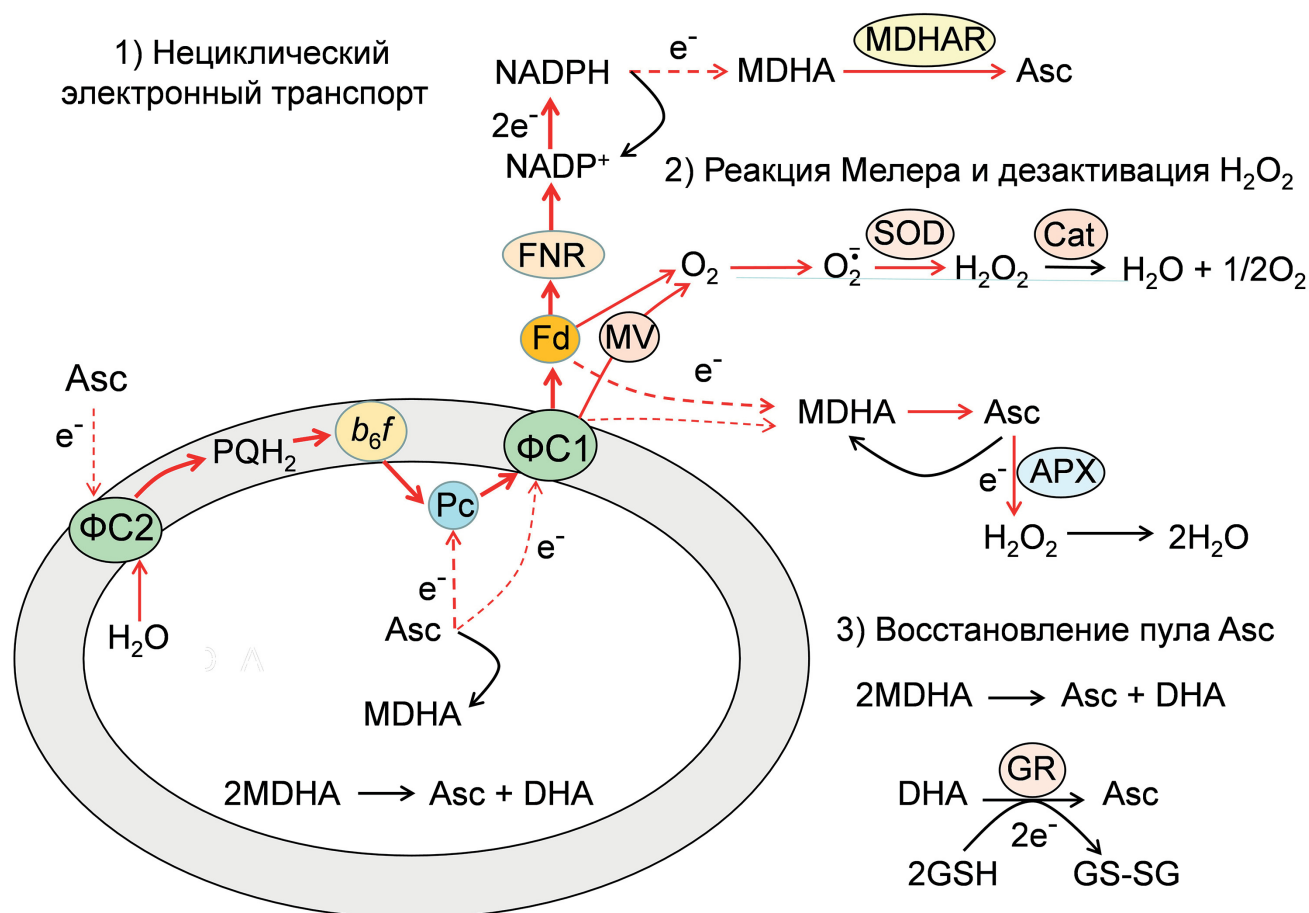


Рис. 5. Схема, иллюстрирующая взаимодействие различных форм аскорбата (Asc, MDHA, DHA) с хлоропластами. Сокращения: APX – аскорбат пероксидаза; GR – глутатион-редуктаза; GSH и GS-SG – восстановленная и окисленная формы глутатиона; Cat – каталаза; MV – метилвиологен; MDHAR – MDHA-редуктаза; SOD – супероксиддисмутаза

с участием аскорбата, способного взаимодействовать с ЭТЦ хлоропластов и нейтрализовать АФК [59]. Содержание аскорбата в тканях растений бывает высоким, у некоторых видов растений его концентрация составляет 20–50 мМ, в зависимости от вида и условий культивирования растений [113–116]. Физиологическая роль реакций с участием аскорбата связана с установлением окислительно-восстановительного гомеостаза в растительной клетке и с защитой фотосинтетического аппарата от повреждений, вызываемых АФК. Аскорбат вместе с глутатионом выполняют роль редокс-буферов, когда изменения внешних условий (например, флуктуации интенсивности и спектрального состава света) могут нарушать редокс-состояние растительной клетки [59]. Аскорбат препятствует ингибированию фотосинтетических процессов в условиях стресса (избыток света, недостаток влаги и др.). В хлоропластах имеется сложная многоступенчатая система биохимических реакций, препятствующих накоплению H_2O_2 [51, 59].

Аскорбат является эффективным антиоксидантом, он служит ловушкой АФК, участвуя в ферментативном восстановлении H_2O_2 и супероксидных радикалов. Например, ферментативное окисление Asc до MDHA в результате аскорбат-пероксидазной реакции, катализирующей превращение H_2O_2 в H_2O . Аскорбат является донором электронов для виолаксантин-деэпоксидазной реакции (виолаксантин $\rightarrow$ зеаксантин), в результате которой в светособирающей антенне ФЦ2 усиливается тепловая диссипация энергии (нефотохимическое тушение возбуждения хлорофилла) [117–119].

Аскорбат и его окисленные формы (мондегидроаскорбат, MDHA, и дегидроаскорбат, DHA) взаимодействуют с хлоропластами на различных участках ЭТЦ. Средноточечный редокс-потенциал (E_m') пары Asc/DHA равен ~ 60 – 90 мВ [120]. Это означает, что аскорбат (полностью восстановленная форма) может взаимодействовать с ЭТЦ хлоропластов в качестве донора электронов на участке между

ФС2 и ФС1; в то время как окисленные формы аскорбата служат акцепторами электронов, донируемыми ФС1. Благодаря этому аскорбат способствует поддержанию оптимального редокс-статуса растительной клетки. На рис. 5 приведена схема, показывающая, как восстановленные и окисленные формы взаимодействуют с ЭТЦ хлоропластов. Полностью восстановленная форма аскорбата (Asc) может служить донором электронов на донорной стороне ФС2 и на пластоцианиновом участке ЭТЦ между ФС2 и ФС1 [121, 122]. Аскорбат, проникающий внутрь тилакоидов, способен восстанавливать Рс, который, в свою очередь, служит эффективным донором электронов для ФС1. Поток электронов от Asc к ФС1 может достигать ~50–70% от нециклического электронного транспорта [121]. При одноэлектронном окислении Asc он превращается в радикал MDHA, который дает характерный дублетный сигнал ЭПР. Отметим, что Asc может непосредственно восстанавливать окисленные центры P_{700}^{+} , что наглядно доказывается опытами с изолированными комплексами ФС1 [122]. Однако в этом случае скорость восстановления P_{700}^{+} низкая; характерное время восстановления P_{700}^{+} составляет ~20–30 с, что существенно медленнее по сравнению с восстановлением P_{700}^{+} за счет Рс⁻.

Окисление Asc — обратимый процесс. Восстановление семихиноновой формы MDHA до полностью восстановленной формы Asc происходит разными путями. MDHA может получать электрон непосредственно от ФС1 [51, 123]. Характерная скорость переноса электрона от ФС1 к MDHA, приводящая к образованию полностью восстановленной формы Asc, сопоставима со скоростью переноса электронов между фотосистемами. Молекулы MDHA могут также принимать электроны от Fd⁻ и NADPH [51, 124]. Скорость восстановления MDHA зависит от концентрации Fd⁻ и в определенных условиях может многократно превышать скорость светоиндуцированного восстановления NADP⁺ от FNR.

Другой канал образования восстановленной формы Asc — это реакция диспропорционирования радикалов MDHA ($2MDHA \leftrightarrow Asc + DHA$) [122]. Образующаяся при этом полностью окисленная форма DHA может затем восстанавливаться до Asc. Важную роль в этом играет глутатион-оксидазная реакция, в которой донором электронов служит восстановленный глутатион [59].

Таким образом, подобно тому, как псевдоциклический транспорт электронов (цикл «вода—вода») и циклический перенос элек-

тронов вокруг ФС1 предохраняют фотосинтетический аппарат от избыточной энергии света, реакции с участием аскорбата обеспечивают защиту фотосинтетического аппарата от повреждений при избыточном освещении, способствуя диссипации энергии в тепло и антиоксидантной защите растительной клетки. Аскорбат может служить альтернативным медиатором электронного переноса в хлоропластах: стимулируя отток электронов от ФС1 и Fd⁻, MDHA предотвращает избыточное восстановление переносчиков на акцепторном участке ФС1. С другой стороны, восстановленные молекулы аскорбата могут компенсировать ослабление фотохимической активности ФС2, вызванное неблагоприятными факторами среды и служить донорами электронов на участке цепи между ФС2 и ФС1 [125–127].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оптимальное функционирование фотосинтетического транспорта электронов в хлоропластах достигается в первую очередь за счет регуляции электронного переноса на двух участках цепи электронного переноса: от ФС2 к цитохромному b_6f -комплексу и на стадии оттока электронов от ФС1 в ЦКБ. Важную роль в этих процессах играют структурно-функциональные перестройки фотосинтетического аппарата, которые определяют лабильность хлоропластов и их способность быстро реагировать на изменения внешних условий, а также альтернативные редокс-медиаторы (O_2 и аскорбат), обеспечивающие редокс-гомеостаз растительной клетки и стабильность работы ЭТЦ.

Благодарности. Данная статья посвящена памяти Л.А. Драчева — одного из крупнейших отечественных биофизиков-экспериментаторов, чьи научно-технические разработки и пионерские исследования в области фотосинтеза способствовали глубокому пониманию процессов разделения и переноса зарядов в реакционных центрах фотосинтезирующих систем.

Автор признателен Э.К. Рууге, Г.Б. Хомутову и Л.Ю. Устынюк, совместно с которыми ранее были получены основные результаты по экспериментальному и теоретическому изучению регуляции электронного транспорта в хлоропластах, на которые автор ссылается в настоящем обзоре. Автор благодарит анонимных рецензентов за полезные замечания и рекомендации.

Финансирование. Работа проводилась в рамках темы научно-исследовательских работ физического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Физические основы строения, функционирования и регуляции биологических систем» (Госрегистрация № 012004 085 35) и при частичной финансовой поддержке Российского

фонда фундаментальных исследований (грант № 21-04-20047).

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Edwards, G., and Walker, D. (1983) *C₃, C₄: Mechanisms, and Cellular and Environmental Regulation of Photosynthesis*, Univ. of California Press, Berkeley.
2. Gurrieri, L., Fermani, S., Zaffagnini, M., Sparla, F., and Trost, P. (2021) Calvin–Benson cycle regulation is getting complex, *Trends Plant Sci.*, **26**, 898–912, doi: 10.1016/j.tplants.2021.03.008
3. Boyer, P. D. (1997) The ATP synthase – a splendid molecular machine, *Annu. Rev. Biochem.*, **66**, 717–749, doi: 10.1146/annurev.biochem.66.1.717.
4. Junge, W., and Nelson, N. (2015) ATP synthase, *Annu. Rev. Biochem.*, **83**, 631–657, doi: 10.1146/annurev-biochem.060614-034124.
5. Romanovsky, Y. M., and Tikhonov, A. N. (2010) Molecular energy transducers of the living cell. Proton ATP synthase: a rotating molecular motor, *Physics Usp.*, **53**, 893–914, doi: 10.3367/UFNe.0180.201009b.0931.
6. Nelson, N., and Yocum, C. F. (2006) Structure and function of photosystems I and II, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 521–565, doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105350.
7. Mamedov, M., Govindjee, Nadtochenko, V., and Semenov, A. Yu. (2015) Primary electron transfer processes in photosynthetic reaction centers from oxygenic organisms, *Photosynth. Res.*, **125**, 51–63, doi: 10.1007/s11120-015-0088-y.
8. Brettel, K. (1997) Electron transfer and arrangement of the redox cofactors in photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta*, **1318**, 322–373, doi: 10.1016/S0005-2728(96)00112-0.
9. Allakhverdiev, S. I. (2011) Recent progress in the studies of structure and function of photosystem II, *J. Photochem. Photobiol. B*, **104**, 1–8, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2011.03.010.
10. Müh, F., Glöckner, C., Hellmich, J., and Zouni, A. (2012) Light-induced quinone reduction in photosystem II, *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 44–65, doi: 10.1016/j.bbabo.2011.05.021.
11. Shevela, D., Kern, J. F., Govindjee, G., and Messinger, J. (2023) Solar energy conversion by photosystem II: principles and structures, *Photosynth. Res.*, **156**, 279–307, doi: 10.1007/s11120-022-00991-y.
12. Tikhonov, A. N. (2014) The cytochrome *b₆f* complex at the crossroad of photosynthetic electron transport pathways, *Plant Physiol. Biochem.*, **81**, 163–183, doi: 10.1016/j.plaphy.2013.12.011.
13. Cramer, W. A., and Hasan, S. S. (2016) Structure-function of the cytochrome *b₆f* lipoprotein complex, in *Cytochrome Complexes: Evolution, Structures, Energy Transduction, and Signaling* (Cramer, W. A., and Kallas, T., eds) Springer, Dordrecht, pp. 177–207, doi: 10.1007/978-94-017-7481-9_9.
14. Tikhonov, A. N. (2018) The cytochrome *b₆f* complex: biophysical aspects of its functioning in chloroplasts, in *Membrane Protein Complexes: Structure and Function, Subcellular Biochemistry* (Harris, J. R., Boekema, E. J., eds), **87**, Springer Nature, Singapore Pte Ltd., pp. 287–328, doi: 10.1007/978-981-10-7757-9_10.
15. Malone, L. A., Proctor, M. S., Hitchcock, A., Hunter, C. N., and Johnson, M. P. (2021) Cytochrome *b₆f* – Orchestrator of photosynthetic electron transfer, *Biochim. Biophys. Acta*, **1862**, 148380, doi: 10.1016/j.bbabo.2021.148380.
16. Sarewicz, M., Pintscher, S., Pietras, R., Borek, A., Bujnowicz, Ł., Hanke, G., Cramer, W. A., Finazzi, G., and Osyczka, A. (2021) Catalytic reactions and energy conservation in the cytochrome *bc₁* and *b₆f* complexes of energy-transducing membranes, *Chem. Rev.*, **121**, 2020–2108, doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00712.
17. Sarewicz, M., Szwałec, M., Pintscher, S., Indyka, P., Rawski, M., Pietras, R., Mielecki, B., Koziej, Ł., Jaciuk, M., Glatt, S., and Osyczka, A. (2023) High-resolution cryo-EM structures of plant cytochrome *b₆f* at work, *Sci. Adv.*, **9**, 1–12, doi: 10.1126/sciadv.add9688.
18. Staehelin, L. A. (2003) Chloroplast structure: from chlorophyll granules to supramolecular architecture of thylakoid membranes, *Photosynth. Res.*, **76**, 185–196, doi: 10.1023/A:1024994525586.
19. Albertsson, P.-Å. (2001) A quantitative model of the domain structure of the photosynthetic membrane, *Trends Plant Sci.*, **6**, 349–354, doi: 10.1016/S1360-1385(01)00201-0.
20. Dekker, J. P., and Boekema, E. J. (2005) Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants, *Biochim. Biophys. Acta*, **1706**, 12–39, doi: 10.1016/j.bbabo.2004.09.009.

21. Pribil, M., Labs, M., and Leister, D. (2014) Structure and dynamics of thylakoids in land plants, *Environ. Bot.*, **65**, 1955-1972, doi: 10.1093/jxb/eru090.
22. Kramer, D. M., Avenson, T. J., and Edwards, G. E. (2004) Dynamic flexibility in the light reactions of photosynthesis governed by both electron and proton transfer reactions, *Trends Plant. Sci.*, **9**, 349-357, doi: 10.1016/j.tplants.2004.05.001.
23. Johnson, M. P., and Ruban, A. V. (2014) Rethinking the existence of a steady-state $\Delta\psi$ component of the proton motive force across plant thylakoid membranes, *Photosynth. Res.*, **119**, 233-242, doi: 10.1007/s11120-013-9817-2.
24. Bendall, D. S., and Manasse, R. S. (1995) Cyclic photophosphorylation and electron transport, *Biochim. Biophys. Acta*, **1229**, 23-38, doi: 10.1016/0005-2728(94)00195-B.
25. Joliot, P., and Joliot, A. (2006) Cyclic electron flow in C3 plants, *Biochim. Biophys. Acta*, **1757**, 362-368, doi: 10.1016/j.bbabo.2006.02.018.
26. Joliot, P., Sellés, J., Wollman, F.-A., and Verméglio, A. (2022) High efficient cyclic electron flow and functional supercomplexes in *Chlamydomonas* cells, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1863**, 148909, doi: 10.1016/j.bbabo.2022.148909.
27. Iwai, M., Takizawa, K., Tokutsu, R., Okamuro, A., Takahashi, Y., and Minagawa, J. (2010) Isolation of the elusive supercomplex that drives cyclic electron flow in photosynthesis, *Nature*, **464**, 1210-1213, doi: 10.1038/nature08885.
28. Munekage, Y., Hojo, M., Meurer, J., Endo, T., Tasaka, M., and Shikanai, T. (2002) PGR5 is involved in cyclic electron flow around photosystem I and is essential for photoprotection in *Arabidopsis*, *Cell*, **110**, 361-371, doi: 10.1016/S0092-8674(02)00867-X.
29. DalCorso, G., Pesaresi, P., Masiero, S., Aseeva, E., Schünemann, D., Finazzi, G., Joliot, P., Barbato, R., and Leister, D. (2008) A complex containing PGRL1 and PGR5 is involved in the switch between linear and cyclic electron flow in *Arabidopsis*, *Cell*, **132**, 273-285, doi: 10.1016/j.cell.2007.12.028.
30. Buchert, F., Mosebach, L., Gäbelein, P., and Hippler, M. (2020) PGR5 is required for efficient Q cycle in the cytochrome *b₆f* complex during cyclic electron flow, *Biochem. J.*, **477**, 1631-1650, doi: 10.1042/BCJ20190914.
31. Strand, D. D., Fisher, N., and Kramer, D. M. (2016) Distinct energetics and regulatory functions of the two major cyclic electron flow pathways in chloroplasts, in *Chloroplasts: Current Research and Future Trends* (Kirchhoff Helmut, ed.) Norfolk: UK, Caister Academic Press, pp. 89-100.
32. Shikanai, T. (2016) Chloroplast NDH: A different enzyme with a structure similar to that of respiratory NADH dehydrogenase, *Biochim. Biophys. Acta*, **1857**, 1015-1022, doi: 10.1016/j.bbabo.2015.10.013.
33. Laughlin, T. G., Bayne, A. N., Trempe, J. F., Savage, D. F., and Davies, K. M. (2019) Structure of the complex I-like molecule NDH of oxygenic photosynthesis, *Nature*, **566**, 411-414, doi: 10.1038/s41586-019-0921-0.
34. Schuller, J. M., Birrell, J. A., Tanaka, H., Konuma, T., Wulfhorst, H., Cox, N., Schuller, S. K., Thiemann, J., Lubitz, W., Sétif, P., Ikegami, T., Engel, B. D., Kurisu, G., and Nowaczyk, M. M. (2019) Structural adaptations of photosynthetic complex I enable ferredoxin-dependent electron transfer, *Science*, **363**, 257-260, doi: 10.1126/science.aau3613.
35. Zhang, C., Shuai, J., Ran, Z., Zhao, J., Wu, Z., Liao, R., Wu, J., Ma, W., and Lei, M. (2020) Structural insights into NDH-1 mediated cyclic electron transfer, *Nat. Commun.*, **11**, 888, doi: 10.1038/s41467-020-14732-z.
36. Stiehl, H. H., and Witt, H. T. (1969) Quantitative treatment of the function of plastoquinone in photosynthesis, *Z. Naturforsch. B*, **24**, 1588-1598, doi: 10.1515/znb-1969-1219.
37. Haehnel, W. (1976) The reduction kinetics chlorophyll *a₁* as indicator for proton uptake between the light reactions in chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **440**, 506-521, doi: 10.1016/0005-2728(76)90038-4.
38. Tikhonov, A. N., Khomutov, G. B., and Ruuge, E. K. (1984) Electron transport control in chloroplasts. Effects of magnesium ions on the electron flow between two photosystems, *Photobiophys. Photobiophys.*, **8**, 261-269.
39. Haehnel, W. (1984) Photosynthetic electron transport in higher plants, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 659-693, doi: 10.1146/annurev.pp.35.060184.003303.
40. Höhner, R., Pribil, M., Herbstová, M., Lopez, L. S., Kunz, H.-H., Li, M., Wood, M., Svoboda, M., Puthiyaveetil, S., Leister, L., and Kirchhoff, H. (2020) Plastocyanin is the long-range electron carrier between photosystem II and photosystem I in plants, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 15354-15362, doi: 10.1073/pnas.2005832117.
41. Tikhonov, A. N. (2013) pH-Dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts, *Photosynth. Res.*, **116**, 511-534, doi: 10.1007/s11120-013-9845-y.
42. Berry, E. A., Guergova-Kuras, M., Huang, L. S., and Crofts, A. R. (2000) Structure and function of cytochrome *bc* complexes, *Annu. Rev. Biochem.*, **69**, 1005-1075, doi: 10.1146/annurev.biochem.69.1.1005.
43. Mitchell, P. (1976) Possible molecular mechanisms of the protonmotive function of cytochrome systems, *J. Theor. Biol.*, **62**, 327-367, doi: 10.1016/0022-5193(76)90124-7.
44. Cramer, W. A., Hasan, S. S., and Yamashita, E. (2011) The Q cycle of cytochrome *bc* complexes: a structure perspective, *Biochim. Biophys. Acta*, **1807**, 788-802, doi: 10.1016/j.bbabo.2011.02.006.

45. Chow, W. S., and Hope, A. B. (2004) Kinetics of reactions around the cytochrome *b_f* complex studied in intact leaf disks, *Photosynth. Res.*, **81**, 153-163, doi: 10.1023/B:PRES.0000035027.02655.8c.
46. Ivanov, B. (1993) Stoichiometry of proton uptake by thylakoids during electron transport in chloroplasts, in *Photosynthesis: Photoreactions to Plant Productivity*, Springer, Dordrecht, (Abrol, Y. P., Mohanty, P., and Govindjee, G., eds) pp. 108-128, doi: 10.1007/978-94-011-2708-0_4.
47. Kirchhoff, H., Hall, C., Wood, M., Herbstová, M., Tsabari, O., Nevo, R., Charuvi, D., Shimoni, E., and Reich, Z. (2011) Dynamic control of protein diffusion within the granal thylakoid lumen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 20248-20253, doi: 10.1073/pnas.1104141109.
48. Mehler, A. H. (1951) Studies on reactions of illuminated chloroplasts: I. Mechanism of the reduction of oxygen and other hill reagents, *Arch. Biochem. Biophys.*, **33**, 65-77, doi: 10.1016/0003-9861(51)90082-3.
49. Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **50**, 601-639, doi: 10.1146/annurev.arplant.50.1.601.
50. Heber, U. (2002) Irrungen, Wirrungen? The Mehler reaction in relation to cyclic electron transport in C3 plants, *Photosynth. Res.*, **73**, 223-231.
51. Иванов Б., Хоробрых С., Козулева М., Борисова-Мубаракшина М. (2014) Роль кислорода и его активных форм в фотосинтезе, *Современные Проблемы Фотосинтеза* (под ред. Аллахвердиева С.И., Рубина А.Б., Шувалова В.А.), Ижевский Институт Компьютерных Исследований, Ижевск-Москва, **1**, 407-460.
52. Nixon, P. J. (2000) Chlororespiration. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.*, **355**, 1541-1547, doi: 10.1098/rstb.2000.0714.
53. Peltier, G., and Cournac, L. (2002) Chlororespiration, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **53**, 523-550, doi: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.13524.
54. Joët, T., Genty, B., Josse, E.-M., Kuntz, M., Cournac, L., and Peltier, G. (2002) Involvement of a plastid terminal oxidase in plastoquinone oxidation as evidenced by expression of the *Arabidopsis thaliana* enzyme in tobacco, *J. Biol. Chem.*, **277**, 31623-31630, doi: 10.1074/jbc.M203538200.
55. McDonald, A. E., Ivanov, A. G., Bode, R., Maxwell, D. P., Rodermeier, S. R., and Huner, N. P. A. (2011) Flexibility in photosynthetic electron transport: The physiological role of plastoquinol terminal oxidase (PTOX), *Biochim. Biophys. Acta*, **1807**, 954-967, doi: 10.1016/j.bbabi.2010.10.024.
56. Nawrocki, W. J., Tourasse, N. J., Taly, A., Rappaport, F., and Wollman, F.-A. (2015) The plastid terminal oxidase: its elusive function points to multiple contributions to plastid physiology, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **66**, 49-74, doi: 10.1146/annurev-arplant-043014-114744.
57. Lennon, A. M., Prommeenate, P., and Nixon, P. J. (2003) Location, expression and orientation of the putative chlororespiratory enzymes, Ndh and IMMUTANS, in higher-plant plastids, *Planta*, **218**, 254-260, doi: 10.1007/s00425-003-1111-7.
58. Ifuku, K., Endo, T., Shikanai, T., and Aro, E.-M. (2011) Structure of the chloroplast NADH dehydrogenase-like complex: nomenclature for nuclear-encoded subunits, *Plant Cell Physiol.*, **52**, 1560-1568, doi: 10.1093/pcp/pcr098.
59. Foyer, C. H., and Noctor, G. (2011) Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub, *Plant Physiol.*, **155**, 2-18, doi: 10.1104/pp.110.167569.
60. Anderson, J. M. (1982) Distribution of the cytochromes of spinach chloroplasts between the appressed membranes of grana stacks and stroma-exposed thylakoid regions, *FEBS Lett.*, **138**, 62-66, doi: 10.1016/0014-5793(82)80395-5.
61. Vallon, O., Bulte, L., Dainese, P., Olive, J., Bassi, R., and Wollman, F.-A. (1991) Lateral redistribution of cytochrome *b₆/f* complexes along thylakoid membranes upon state transitions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 8262-8266, doi: 10.1073/pnas.88.18.8262.
62. Dumas, L., Chazaux, M., Peltier, G., Johnson, X., and Alric, J. (2016) Cytochrome *b₆f* function and localization, phosphorylation state of thylakoid membrane proteins and consequences on cyclic electron flow, *Photosynth. Res.*, **129**, 307-320, doi: 10.1007/s1120-016-0298-y.
63. Kirchhoff, H., Li, M., and Puthiyaveetil, S. (2017) Sublocalization of cytochrome *b₆f* complexes in photosynthetic membranes, *Trends Plant. Sci.*, **22**, 574-582, doi: 10.1016/j.tplants.2017.04.004.
64. Kirchhoff, H., Horstmann, S., and Weis, E. (2000) Control of the photosynthetic electron transport by PQ diffusion in microdomains in thylakoids of higher plants, *Biochim. Biophys. Acta*, **1459**, 148-168, doi: 10.1016/S0005-2728(00)00143-2.
65. Wood, W. H. J., MacGregor-Chatwin, C., Barnett, S. F. H., Mayneord, G. E., Huang, X., Hobbs, J. K., Hunter, C. N., and Johnson, M. P. (2018) Dynamic thylakoid stacking regulates the balance between linear and cyclic photosynthetic electron transfer, *Nat. Plants*, **4**, 116-127, doi: 10.1038/s41477-017-0092-7.
66. Hanke, G. T., Kimata-Arigo, Y., Taniguchi, I., and Hase, T. (2004) A post genomic characterization of *Arabidopsis* ferredoxins, *Plant Physiol.*, **134**, 255-264, doi: 10.1104/pp.103.032755.
67. Hanke, G. T., and Hase, T. (2008) Variable photosynthetic roles of two leaf-type ferredoxins in *Arabidopsis*, as revealed by RNA interference, *Photochem. Photobiol.*, **84**, 1302-1309, doi: 10.1111/j.1751-1097.2008.00411.x.
68. Blanco, N., Ceccoli, R., Dalla Via, M. V., Voss, I., Segretin, M. E., Bravo-Almonacid, F. F., Melzer, M., Hajirezaei, M.-R., Scheibe, R., and Hanke, G. T.

- (2013) Expression of the minor isoform pea ferredoxin in tobacco alters photosynthetic electron partitioning and enhances cyclic electron flow, *Plant Physiol.*, **161**, 866-879, doi: 10.1104/pp.112.211078.
69. Lehtimäki, N., Lintala, M., Allahverdiyeva, Y., Aro, E. M., and Mulo, P. (2010) Drought stress-induced upregulation of components involved in ferredoxin-dependent cyclic electron transfer, *J. Plant Physiol.*, **167**, 1018-1022, doi: 10.1016/j.jplph.2010.02.006.
 70. Гинс В. К., Тихонов А. Н., Мухин Е. Н., Рууге Э. К. (1982) Особенности функционирования двух молекулярных форм ферредоксина гороха в цепи электронного транспорта хлоропластов, *Биохимия*, **47**, 1859-1866.
 71. Gong, X.-S., Chung, S., and Fernandez-Velasco, J. G. (2001) Electron transfer and stability of the cytochrome *b₆f* complex in a small domain deletion mutant of cytochrome *f*, *J. Biol. Chem.*, **276**, 24365-24371, doi: 10.1074/jbc.M010721200.
 72. Yan, J., and Cramer, W. A. (2003) Functional insensitivity of the cytochrome *b₆f* complex to structure changes in the hinge region of the Rieske iron-sulfur protein, *J. Biol. Chem.*, **278**, 20925-20933, doi: 10.1074/jbc.M212616200.
 73. Rumberg, B., and Siggel, U. (1969) pH changes in the inner phase of the thylakoids during photosynthesis, *Naturwissenschaften*, **56**, 130-132, doi: 10.1007/BF00601025.
 74. Tikhonov, A. N., Khomutov, G. B., Ruuge, E. K., and Blumenfeld, L. A. (1981) Electron transport control in chloroplasts. Effects of photosynthetic control monitored by the intrathylakoid pH, *Biochim. Biophys. Acta*, **637**, 321-333, doi: 10.1016/0005-2728(81)90171-7.
 75. Kramer, D. M., Sacksteder, C. A., and Cruz, J. A. (1999) How acidic is the lumen? *Photosynth. Res.*, **60**, 151-163, doi: 10.1023/A:1006212014787.
 76. Тихонов А. Н. (2012) Энергетическая и регуляторная роль протонного потенциала в хлоропластах, *Биохимия*, **77**, 1155-1176.
 77. Li, Z., Wakao, S., Fischer, B. B., and Niyogi, K. K. (2009) Sensing and responding to excess light, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **60**, 239-260, doi: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103844.
 78. Demmig-Adams, B., Cohu, C. M., Muller, O., and Adams, W. W. (2012) Modulation of photosynthetic energy conversion efficiency in nature: from seconds to seasons, *Photosynth. Res.*, **113**, 75-88, doi: 10.1007/s11120-012-9761-6.
 79. Horton, P. (2012) Optimization of light harvesting and photoprotection: molecular mechanisms and physiological consequences, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **367**, 3455-3465, doi: 10.1098/rstb.2012.0069.
 80. Brandt, U. (1996) Bifurcated ubihydroquinone oxidation in the cytochrome *bc₁* complex by proton-gated charge transfer, *FEBS Lett.*, **387**, 1-6, doi: 10.1016/S0014-5793(96)00436-X.
 81. Link, T. A. (1997) The role of the "Rieske" iron sulfur protein in the hydroquinone oxidation (*Q_p*) site of the cytochrome *bc₁* complex: the "proton-gated affinity change" mechanism, *FEBS Lett.*, **412**, 257-264, doi: 10.1016/S0014-5793(97)00772-2.
 82. Zu, Y., Manon, M.-J., Couture, M. M.-J., Kolling, D. R. J., Crofts, A. R., Eltis, L. D., Fee, J. A., and Hirst, J. (2003) The reduction potentials of Rieske clusters: the importance of the coupling between coupling between oxidation state and histidine protonation state, *Biochemistry*, **42**, 12400-12408, doi: 10.1021/bi0350957.
 83. Crofts, A. R., Guergova-Kuras, M., Kuras, R., Ugulava, N., Li, J., and Hong, S. (2000) Proton-coupled electron transfer at the *Q_o* site: What type of mechanism can account for the high activation barrier? *Biochim. Biophys. Acta*, **1459**, 456-466, doi: 10.1016/S0005-2728(00)00184-5.
 84. Zhu, J., Egawa, T., Yeh, S.-R., Yu, L., and Yu, C.-A. (2007) Simultaneous reduction of iron-sulfur protein and cytochrome *b^L* during ubiquinol oxidation in cytochrome *bc₁* complex, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 4864-4869, doi: 10.1073/pnas.0607812104.
 85. Osyczka, A., Moser, C. C., and Dutton P. L. (2005) Fixing the Q cycle, *Trends. Biochem. Sci.*, **30**, 176-182, doi: 10.1016/j.tibs.2005.02.001.
 86. Ustynyuk, L. Yu., and Tikhonov, A. N. (2018) The cytochrome *b₆f* complex: DFT modeling of the first step of plastoquinol oxidation by the iron-sulfur protein, *J. Organomet. Chem.*, **867**, 290-299, doi: 10.1016/j.jorganchem.2018.01.023.
 87. Ustynyuk, L. Yu., and Tikhonov, A. N. (2022) Plastoquinol oxidation: rate-limiting stage in the electron transport chain of chloroplasts, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1084-1097, doi: 10.1134/S0006297922100029.
 88. Postila, P.A., Kaszuba, K., Sarewicz, M., Osyczka, A., Vattulainen, I., and Róg, T. (2013) Key role of water in proton transfer at the *Q_o*-site of the cytochrome *bc₁* complex predicted by atomistic molecular dynamics simulations, *Biochim. Biophys. Acta*, **1827**, 761-768, doi: 10.1016/j.bbabbio.2013.02.005.
 89. Chance, B., and Williams, G. R. (1956) The respiratory chain and oxidative phosphorylation, *Adv. Enzymol.*, **17**, 65-134, doi: 10.1002/9780470122624.ch2.
 90. Foyer, C. H., Neukermans, J., Queval, G., Noctor, G., and Harbinson, J. (2012) Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression, *J. Exp. Bot.*, **63**, 1637-1661, doi: 10.1093/jxb/ers013.
 91. Tikhonov, A. N., Agafonov, R. V., Grigor'ev, I. A., Kirilyuk, I. A., Ptushenko, V. V., and Trubitsin, B. V. (2008) Spin-probes designed for measuring the intrathylakoid pH in chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **1777**, 285-294, doi: 10.1016/j.bbabbio.2007.12.002.
 92. Vershubskii, A. V., Trubitsin, B. V., Priklonskii, V. I., and Tikhonov, A. N. (2017) Lateral heterogeneity of the proton potential along the thylakoid membranes

- of chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **1859**, 388-401, doi: 10.1016/j.bbamem.2016.11.016.
93. Buchanan, B. B. (1984) The ferredoxin/thioredoxin system: a key element in the regulatory function of light in photosynthesis, *Bioscience*, **34**, 378-383, doi: 10.2307/1309730.
 94. Dietz, K. J. (2003) Redox control, redox signaling and redox homeostasis in plant cells, *Int. Rev. Cytol.*, **228**, 141-193, doi: 10.1016/S0074-7696(03)28004-9.
 95. Selinski, J., and Scheibe, R. (2019) Malate valves: old shuttles with new perspectives, *Plant Biol.*, **21** (Suppl. 1), 21-30, doi: 10.1111/plb12869.
 96. Scheibe, R. (2019) Maintaining homeostasis by controlled alternatives for energy distribution in plant cells under changing conditions of supply and demand, *Photosynth. Res.*, **139**, 81-91, doi: 10.1007/s11120-018-0583-z.
 97. Tikhonov, A. N. (2015) Induction events and short-term regulation of electron transport in chloroplasts: An overview, *Photosynth. Res.*, **125**, 65-94, doi: 10.1007/s11120-015-0094-0.
 98. Trubitsin, B. V., Vershubskii, A. V., Priklonskii, V. I., and Tikhonov, A. N. (2015) Short-term regulation and alternative pathways of photosynthetic electron transport in *Hibiscus rosa-sinensis* leaves, *J. Photochem. Photobiol. B*, **152**, 400-415, doi: 10.1016/j.jphotochem.2015.07.015.
 99. Kozuleva, M. A., Petrova, A. A., Mamedov, M. D., Semenov, A. Y., and Ivanov, B. N. (2014) O₂ reduction by photosystem I involves phyloquinone under steady-state illumination, *FEBS Lett.*, **588**, 4364-4368, doi: 10.1016/j.febslet.2014.10.003.
 100. Kozuleva, M. A., and Ivanov, B. N. (2016) The mechanisms of oxygen reduction in the terminal reducing segment of the chloroplast photosynthetic electron transport chain, *Plant Cell Physiol.*, **57**, 1397-1404, doi: 10.1093/pcp/pcw035.
 101. Cherepanov, D. A., Milanovsky, G. E., Petrova, A. A., Tikhonov, A. N., Semenov, A. Yu. (2017) Electron transfer through the acceptor side of Photosystem I: Interaction with exogenous acceptors and molecular oxygen, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 1249-1268, doi: 10.1134/S0006297917110037.
 102. Kozuleva, M. A., and Ivanov, B. N. (2010) Evaluation of the participation of ferredoxin in oxygen reduction in the photosynthetic electron transport chain of isolated pea thylakoids, *Photosynth. Res.*, **105**, 51-61, doi: 10.1007/s11120-010-9565-5.
 103. Кувыкин И. В., Вершубский А. В., Птушенко В. В., Тихонов А. Н. (2008) Кислород как альтернативный акцептор в фотосинтетической цепи электронного транспорта C₃-растений, *Биохимия*, **73**, 1329-1343.
 104. Kuvykin, I. V., Ptushenko, V. V., Vershubskii, A. V., and Tikhonov, A. N. (2011) Regulation of electron transport in C₃ plant chloroplasts *in situ* and *in silico*. Short-term effects of atmospheric CO₂ and O₂, *Biochim. Biophys. Acta*, **1807**, 336-347, doi: 10.1016/j.bbambio.2010.12.012.
 105. Tikhonov, A. N., and Subczynski, W. K. (2019) Oxygenic photosynthesis: EPR study of photosynthetic electron transport and oxygen-exchange, an overview, *Cell Biochem. Biophys.*, **77**, 47-59, doi: 10.1007/s12013-018-0861-6.
 106. Trubitsin, B. V., Ptushenko, V. V., Koksharova, O. A., Mamedov, M. D., Vitukhnovskaya, L. A., Grigor'ev, I. A., Semenov, A. Yu., and Tikhonov, A. N. (2005) EPR study of electron transport in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803: Oxygen-dependent interrelations between photosynthetic and respiratory electron transport chains, *Biochim. Biophys. Acta*, **1708**, 238-249, doi: 10.1016/j.bbambio.2005.03.004.
 107. Baniulis, D., Hasan, S. S., Stofleth, J. T., and Cramer, W. A. (2013) Mechanism of enhanced superoxide production in the cytochrome *b₆f* complex of oxygenic photosynthesis, *Biochemistry*, **52**, 8975-8983, doi: 10.1021/bi4013534.
 108. Иванов Б. Н. (2008) Кооперация Фотосистемы I и пула пластохинона в восстановлении кислорода в хлоропластах высших растений, *Биохимия*, **73**, 137-144.
 109. Ivanov, B., Borisova-Mubarakshina, M., Vilyanen, D., Vetoshkina, D., Kozuleva, M. (2022) Cooperative pathway of O₂ reduction to H₂O₂ in chloroplast thylakoid membrane: new insight into the Mehler reaction, *Biophys. Rev.*, **14**, 857-869, doi: 10.1007/s12551-022-00980-4.
 110. Ligeza, A., Tikhonov, A. N., Hyde, J. S., and Subczynski, W. K. (1998) Oxygen permeability of thylakoid membranes: electron paramagnetic resonance spin labeling study, *Biochim. Biophys. Acta*, **1365**, 453-463, doi: 10.1016/S0005-2728(98)00098-X.
 111. Ligeza, A., Tikhonov, A. N., and Subczynski, W. K. (1997) *In situ* measurements of oxygen production and consumption using paramagnetic fusinite particles injected into a bean leaf, *Biochim. Biophys. Acta*, **1319**, 133-137, doi: 10.1016/S0005-2728(96)00122-3.
 112. Rutherford, A. W., Osyczka, A., and Rappaport, F. (2012) Back-reactions, short-circuits, leaks and other energy wasteful reactions in biological electron transfer: Redox tuning to survive life in O₂, *FEBS Lett.*, **586**, 603-616, doi: 10.1016/j.febslet.2011.12.039.
 113. Foyer, C., Rowell, J., and Walker, D. (1983) Measurement of the ascorbate content of spinach leaves protoplasts and chloroplasts during illumination, *Planta*, **157**, 239-244, doi: 10.1007/BF00405188.
 114. Law, M. Y., Charles, S. A., and Halliwell, B. (1983) Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of hydrogen peroxide and of paraquat, *Biochem. J.*, **210**, 899-903, doi: 10.1042/bj2100899.
 115. Smirnoff, N. (1996) The function and metabolism of ascorbic acid in plants, *Ann. Bot.*, **78**, 661-669, doi: 10.1006/anbo.1996.0175.

116. Gest, N., Gautier, H., and Stevens, R. (2013) Ascorbate as seen through plant evolution: the rise of a successful molecule? *J. Exp. Bot.*, **64**, 33-53, doi: 10.1093/jxb/ers297.
117. Eskling, M., Arvidsson, P.-O., and Akerlund, H.-E. (1997) The xanthophylls cycle, its regulation and components, *Physiol. Plant.*, **100**, 806-816, doi: 10.1034/j.1399-3054.1997.1000407.x.
118. Eskling, M., and Akerlund, H.-E. (1998) Changes in the quantities of violaxanthin deepoxidase, xanthophylls and ascorbate in spinach upon shift from low to high light, *Photosynth. Res.*, **57**, 41-50, doi: 10.1023/A:1006015630167.
119. Müller-Moulé, P., Conclin, P. L., and Niyogy, K. K. (2002) Ascorbate deficiency can limit violaxanthin de-epoxidase activity *in vivo*, *Plant Physiol.*, **128**, 970-977, doi: 10.1104/pp.010924.
120. Iyanagi, T., Yamazaki, I., and Anan, K. (1985) One-electron oxidation-reduction properties of ascorbic acid, *Biochim. Biophys. Acta*, **806**, 255-261, doi: 10.1016/0005-2728(85)90103-3.
121. Mano, J., Hideg, E., and Asada, K. (2004) Ascorbate in thylakoid lumen functions as an alternative electron donor to photosystem II and photosystem I, *Arch. Biochim. Biophys.*, **429**, 71-80, doi: 10.1016/j.abb.2004.05.022.
122. Trubitsin, B. V., Mamedov, M. D., Semenov, A. Yu., and Tikhonov, A. N. (2014) Interaction of ascorbate with photosystem I, *Photosynth. Res.*, **122**, 215-231, doi: 10.1007/s11120-014-0023-7.
123. Forti, G., and Ehrenheim, A. M. (1993) The role of ascorbic acid in photosynthetic electron transport, *Biochim. Biophys. Acta*, **1183**, 408-412, doi: 10.1016/0005-2728(93)90246-C.
124. Miyake, C., and Asada, K. (1994) Ferredoxin-dependent photoreduction of monodehydroascorbate radicals in spinach thylakoids, *Plant Cell Physiol.*, **35**, 539-549, doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078628.
125. Mano, J., Ushimaru, T., and Asada, K. (1997) Ascorbate in thylakoids lumen as an endogenous electron donor to photosystem II: protection of thylakoids from photoinhibition and regeneration of ascorbate in stroma by dehydroascorbate reductase, *Photosynth. Res.*, **53**, 197-204.
126. Tóth, S. Z., Puthur, J. T., Nagi, V., and Garab, G. (2009) Experimental evidence for ascorbate-dependent electron transport in leaves with inactive oxygen evolving complexes, *Plant Physiol.*, **149**, 1568-1578, doi: 10.1104/pp.108.132621.
127. Tóth, S. Z., Nagi, V., Puthur, J. T., Kovács, L., and Garab, G. (2011) The physiological role of ascorbate as photosystem II electron donor: protection against photoinactivation in heat-stressed leaves, *Plant Physiol.*, **156**, 382-392, doi: 10.1104/pp.110.171918.

ELECTRON TRANSPORT IN CHLOROPLASTS: REGULATION AND ALTERNATIVE PATHWAYS OF ELECTRON TRANSFER

Review

A. N. Tikhonov

*Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University,
119991 Moscow, Russia; e-mail: an_tikhonov@mail.ru*

This work represents an overview of electron transport regulation in chloroplasts as considered in the context of structure-function organization of photosynthetic apparatus in plants. A basic focus of the article is concentrated on a bifurcated oxidation of plastoquinol by the cytochrome *b₆f* complex, which represents the rate-limiting step of electron transfer between photosystems 2 and 1. Electron transport along the chains of the noncyclic, cyclic and pseudocyclic electron flow, their relationships to generation of the trans-thylakoid difference in electrochemical potentials of protons in chloroplasts, and the pH-dependent mechanisms of regulation of the cytochrome *b₆f* complex, are considered. Redox reactions with the participation of molecular oxygen and ascorbate, the alternative mediators of electron transport in chloroplasts, have also been discussed.

Keywords: photosynthesis, chloroplasts, electron transport, regulation