

## ОСОБЕННОСТИ ФОТОХИМИЧЕСКОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЭНЕРГИИ В ФОТОСИСТЕМЕ 1 ИЗ ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *Chlorella ohadii*

© 2024 Д.А. Черепанов<sup>1,2\*</sup>, А.А. Петрова<sup>2</sup>, М.С. Фадеева<sup>3</sup>, Ф.Е. Гостев<sup>1</sup>,  
И.В. Шелаев<sup>1</sup>, В.А. Надточенко<sup>1,4</sup>, А.Ю. Семенов<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН,  
119991 Москва, Россия; электронная почта: tscherepanov@gmail.com

<sup>2</sup> НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,  
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
119992 Москва, Россия; электронная почта: semenov@belozersky.msu.ru

<sup>3</sup> Тель-Авивский университет, Факультет естественных наук имени Джорджа С. Уайза,  
69978 Тель-Авив, Израиль

<sup>4</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,  
химический факультет, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 30.03.2024

После доработки 23.04.2024

Принята к публикации 24.04.2024

Первичные реакции переноса энергии возбуждения и разделения зарядов в фотосистеме 1 (ФС1) из пустынной зеленой водоросли *Chlorella ohadii*, выращенной при низкой освещенности, были исследованы методом широкополосной фемтосекундной спектроскопии «возбуждение-зондирование» в диапазоне от 400 до 850 нм во временном диапазоне 100 фс–500 пс. Фотохимические реакции инициировались с синего и красного края полосы поглощения Q<sub>y</sub> хлорофилла и сравнивались с аналогичными процессами в ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. При возбуждении ФС1 из *C. ohadii* на длине волны 660 нм во временном интервале до 25 пс наблюдались процессы перераспределения энергии в светособирающих субъединицах комплекса, в то время как формирование стабильной ион-радикальной пары P<sub>700</sub><sup>+</sup>A<sub>1</sub><sup>-</sup> в этих условиях было кинетически неоднородным с характерными временами 25 и 120 пс. При альтернативном варианте возбуждения в красный край полосы Q<sub>y</sub> на длине волны 715 нм в половине комплексов наблюдались первичные реакции разделения зарядов во временном диапазоне 7 пс, а в остальной части комплексов образование ион-радикальной пары P<sub>700</sub><sup>+</sup>A<sub>1</sub><sup>-</sup> лимитировалось переносом энергии и происходило с характерным временем 70 пс. Аналогичные фотохимические реакции в ФС1 из *Synechocystis* 6803 были существенно быстрее: при возбуждении на длине волны 680 нм примерно в 30% комплексов образование первичных ион-радикальных пар происходило со временем 3 пс. При возбуждении на 720 нм в половине комплексов наблюдалось кинетически неразрешимое сверхбыстрое первичное разделение зарядов, а последующее образование ион-радикальной пары P<sub>700</sub><sup>+</sup>A<sub>1</sub><sup>-</sup> наблюдалось со временем 25 пс. Фотодинамика ФС1 из *C. ohadii* имела заметное сходство с процессами переноса энергии возбуждения и разделения зарядов в ФС1 из микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, однако в динамике переноса энергии в ФС1 из *C. ohadii* наблюдались существенно более медленные компоненты.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** зеленая водоросль *Chlorella ohadii*, фемтосекундная лазерная спектроскопия, первичные фотохимические реакции, экситонная динамика, разделение зарядов.

DOI: 10.31857/S0320972524060129 EDN: XLBDRS

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время интерес многих исследователей в области первичных процессов фото-

синтеза привлечен к изучению фотосинтезирующих организмов, обитающих в экстремальных экологических условиях. Такие условия могут включать, в частности, низкую и высокую освещенность, температуру, влажность и спектральный состав света. Большой интерес представляет

\* Адресат для корреспонденции.

изучение структуры и функций пигмент-белковых комплексов фотосистемы 1 (ФС1) из организмов, живущих при исключительно высокой освещенности. Одним из таких организмов является зеленая водоросль *Chlorella ohadii*, обнаруженная в почве пустыни Неgev и способная к фотосинтезу в условиях чрезвычайно высокой освещенности (~2000 мкЭ) [1]. В недавней работе израильских и немецких ученых [2] была выделена и подробно охарактеризована ФС1 из *C. ohadii*. С помощью криоэлектронной микроскопии с разрешением 2,7 Å были получены структуры ФС1 из клеток, выращенных при низкой (40–100 мкЭ, ФС1<sub>LL</sub>) и при высокой (2500 мкЭ, ФС1<sub>HL</sub>) освещенности. Было показано, что ФС1<sub>LL</sub> состоит из 24 пигмент-белковых субъединиц, объединенных в четыре структурных компартмента: основной комплекс, включающий реакционный центр (РЦ) и внутреннюю (интегральную) светособирающую антенну (ССА); пару внешних светособирающих антенных комплексов I (LHCI), расположенных в виде двух опоясывающих колец вблизи донорного участка РЦ, и один димерный комплекс LHCI, локализованный вблизи от акцепторного участка РЦ. Наиболее заметные различия в структурах комплексов ФС1<sub>LL</sub> и ФС1<sub>HL</sub> касаются внешней ССА. LHCI<sub>HL</sub> содержит значительно меньше хлорофилла (Хл) *b*, чем LHCI<sub>LL</sub>: в большинстве субъединиц LHCI<sub>HL</sub> хотя бы одна молекула Хл *b* заменялась Хл *a*. Последовательности аминокислот в LHCI ФС1<sub>LL</sub> из *C. ohadii* были высоко гомологичны последовательностям LHCI из эталонной зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*. При этом расположение четырех субъединиц LHCI было идентично расположению в ФС1 растений, а оставшихся шести – расположению в зеленых водорослях *Chl. reinhardtii* и *Bryopsis corticulans* [3–6].

Для изучения механизма переноса энергии и первичного разделения зарядов в фотосинтетических комплексах ФС1 широко используются методы широкополосной фемтосекундной спектроскопии «возбуждение-зондирование» [7–9]. Изучение реакций разделения зарядов в ФС1 цианобактерий затруднено наличием внутренней (интегральной) ССА, которая содержит примерно 90 молекул Хл *a* [10, 11]. У водорослей и высших растений ССА ФС1 включает также дополнительные периферические субъединицы, поэтому стехиометрия пигментного состава в этих структурах составляет 200–250 молекул Хл *a* и Хл *b* на РЦ [12, 13]. В работах Holzwarth et al. [14–16] первичные фотохимические реакции ФС1 из водоросли *Chl. reinhardtii* изучались, в частности, методом широкополосной

фемтосекундной спектроскопии. Авторами было предположено, что в этом комплексе фотохимические реакции могут протекать по двум механизмам в зависимости от длины волны возбуждения. Возбуждение в красный край полосы Qu на длине волны 700 нм затрагивало непосредственно пигменты РЦ, что позволило авторам оценить характерное время первичной реакции разделения зарядов, которое по их интерпретации получилось равным 3–5 пс [15, 16].

Комплексы ФС1, выделенные из цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803 и *Thermosynechococcus elongatus*, не содержат периферических светособирающих субъединиц [10, 11]. При возбуждении этих комплексов в области 670–680 нм абсорбционные изменения на временном интервале до 10 пс обусловлены процессами миграции энергии во внутренней ССА, а разделение зарядов с образованием первичной ион-радикальной пары лимитировано переносом энергии в РЦ и происходит со временем 35–40 пс [7, 17, 18]. При возбуждении этих комплексов с красного края полосы Qu в области 720–760 нм наблюдалось сверхбыстрое разделение зарядов на временном интервале ≤ 0,2 пс [19–21], что существенно быстрее оценок скорости первичных реакций, полученных для ФС1 из *Chl. reinhardtii* [14–16].

Настоящая работа является первой из серии работ, посвященных исследованию сверхбыстрой кинетики переноса энергии и разделения зарядов ФС1<sub>LL</sub> из клеток *C. ohadii*, выращенных при низкой освещенности, с помощью лазерной фемтосекундной спектроскопии методом «возбуждение-зондирование». В работе проведено сравнение кинетики переходов спектральных интермедиагов ФС1<sub>LL</sub> из *C. ohadii* с переходами в эталонной ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803. В дальнейшем планируется сравнение первичных процессов в ФС1<sub>LL</sub> и ФС1<sub>HL</sub> из клеток *C. ohadii*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Выделение комплексов ФС1 из клеток *Chlorella ohadii*, выращенных в условиях низкой освещенности.** Комплексы ФС1 из *C. ohadii* были выделены, как описано в работе Caspy et al. [2]. Клетки выращивали при перемешивании и барботировании воздухом и CO<sub>2</sub> при 25 °C и освещении 50 мкЭ. Клетки осаждали центрифугированием при 5000 g, промывали буфером Tris-NaOH (30 mM, pH 8,0), содержащим 10 mM NaCl и 10% сахарозы, разрушали с помощью пресса Френча,

Принятые сокращения: РЦ – реакционный центр; ССА – светособирающая антенна; ФС1 – фотосистема 1; Хл – хлорофилл; EADS – эволюционно-ассоциированные дифференциальные спектры; LHCI – светособирающий антенный комплекс I.

затем получали мембранную фракцию и солюбилизовали, добавляя 1,5% (w/v) *n*-додецил- $\beta$ -D-мальтозида (ДДМ). Суперкомплекс ФС1 получали путем центрифугирования в градиенте плотности сахарозы (15–50% сахарозы, 20 мМ Tris-Tricin (pH 8,0), 300 мМ NaCl и 0,2% ДДМ) с использованием ротора SW-60 («Beckman», США) при 48 000 об/мин в течение 15 ч.

**Выделение комплексов ФС1 из клеток цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803.** Клетки выращивали в среде BG-11 и осаждали при 10 000 *g* в течение 15 мин. Разрушение клеток осуществляли с помощью Френч-пресса с последующим осаждением неразрушенных частиц при 3 000 *g* в течение 10 мин. Далее, супернатант (мембранные фрагменты) был инкубирован в присутствии 1% (w/v) ДДМ в течение 2 ч при 4 °C при концентрации хлорофилла 0,5 мг/мл. После центрифугирования при 14 000 *g* в течение 20 мин супернатант был нанесен на линейный градиент сахарозы (5–20% (w/v)) и далее был центрифугирован в течение 3 ч при 140 000 *g* на роторе VTi50 («Beckman») (закупленном с помощью Программы развития МГУ) в соответствии с процедурой, описанной ранее [22].

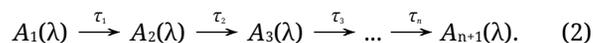
**Сверхбыстрые абсорбционные изменения**  $\Delta A(\lambda_i, t_m)$  регистрировались методом широкополосной фемтосекундной лазерной спектроскопии «возбуждение-зондирование» в оптическом диапазоне  $400 \leq \lambda \leq 850$  нм на временных задержках *t* от 100 фс до 500 пс. Экспериментальная установка и методика измерений были описаны ранее [19]. Возбуждение ФС1 осуществлялось фемтосекундными лазерными импульсами с максимумом на длинах волн 660 нм (длительность – 40 фс, энергия – 0,8 нДж) и 715 нм (длительность – 37 фс, энергия – 4 нДж). Зондирование обеспечивалось широкополосными импульсами суперконтинуума при угле поляризации 54,7 градусов относительно поляризации возбуждающего импульса. Разностные спектры поглощения в диапазоне 400–850 нм снимали с помощью ПЗС-камеры Newton («Andor», США), соединенной с полихроматором Acton SP-300 («Thermo Fisher Scientific», США). Эксперименты проводились при температуре 6 °C в проточной оптической ячейке с длиной оптического пути 0,5 мм; диаметр области возбуждения – 0,2 мм; оптическая плотность образца составляла 10 единиц при оптическом пути 1 см. Скорость циркуляции в проточной ячейке (9 мл/мин) была достаточно высокой, чтобы избежать многократного возбуждения одного и того же объема пробы. Спектры корректировались дисперсией групповой задержки, как описано ранее [23, 24]. Учет когерентного артефакта и деконволюции аппаратной функции в области  $t = 0$  проводился по методике, предложенной в работах Dobryakov et al. [23, 25] и Cherepanov et al. [26]. Экспериментальные данные

для дифференциального спектра Хл *a* в тетрагидрофуране взяты из работы Cherepanov et al. [27].

**Математический анализ абсорбционной динамики** включал разложение спектрально-временных матриц  $\Delta A(\lambda_i, t_m)$  на линейную комбинацию *n* дискретных экспоненциальных функций:

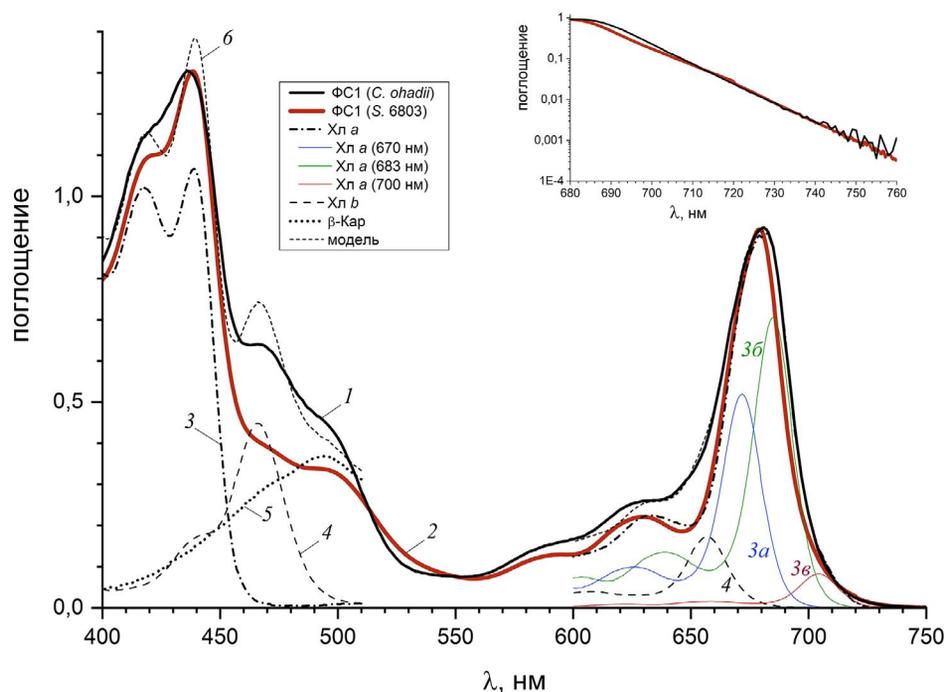
$$Q[\tau](\lambda, t) = \sum_{k=1}^n D_k(\lambda) \cdot \exp(-t/\tau_k) + D_{n+1}(\lambda) \quad (1)$$

в предположении, что характерные времена  $\{\tau_k\}$  не зависят от длины волны наблюдения  $\lambda$  и, следовательно, могут рассматриваться как «глобальные» параметры, определяемые нелинейной минимизацией суммы квадратов отклонений теоретической модели от экспериментальных данных. Зависящие от длины волны предэкспоненциальные амплитуды  $D_k(\lambda)$ , рассчитываемые стандартным методом линейной регрессии для каждой экспоненциальной функции *k*, определяют спектры, связанные с распадом (Decay-Associated Spectra, DAS), одновременно рассчитывается финальный спектр  $D_{n+1}(\lambda)$ . После определения характерных времен  $\{\tau_k\}$  в соответствии с методикой, предложенной Stokkum et al. [28], рассчитывались дифференциальные спектры последовательных кинетических интермедиатов – эволюционно-ассоциированные дифференциальные спектры (evolution-associated difference spectra, EADS), представляющие собой разностные спектры интермедиатов, возникающих в последовательной кинетической модели:

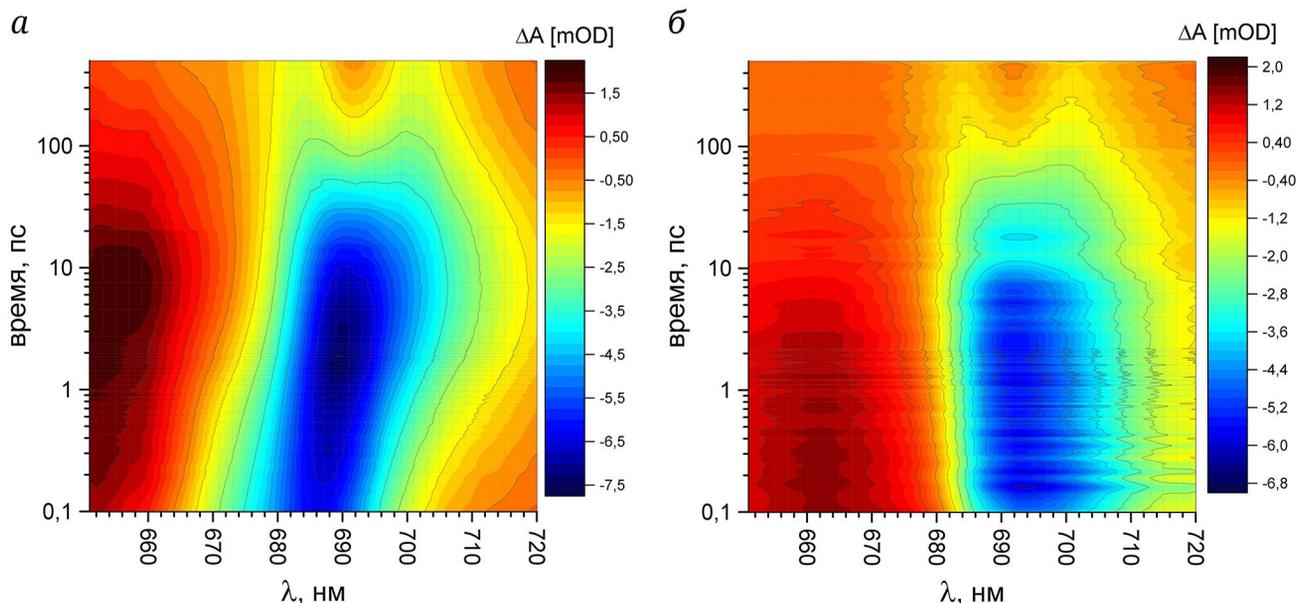


## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рис. 1 спектр поглощения комплексов ФС1 из микроводосли *C. ohadii* сравнивается со спектром ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* 6803. Пигментный комплекс ФС1 цианобактерии включает только внутреннюю (интегральную) ССА, ее пигменты окружают кофакторы электрон-транспортной цепи. Мономер ФС1 из *Synechocystis* 6803 содержит 96 молекул Хл *a* и 20 молекул  $\beta$ -каротина, а также 3 молекулы кантаксантина и эхиненона [29]. Комплекс ФС1 из *C. ohadii*, помимо интегральной антенны, включает 10 периферических подвижных светособирающих субъединиц, в целом, на один РЦ этой ФС1 приходится 208 молекул Хл *a*, 47 молекул Хл *b*, 32 молекулы  $\beta$ -каротина, а также 30 молекул других каротиноидов (21 – лютеин, 4 – виолаксантин, 2 – астаксантин, 2 –  $\beta$ -криптоксантин, 1 – эхиненон), поглощающих в области 470–520 нм [2]. Поглощение ФС1 из *C. ohadii* в области полосы Qu обусловлено преимущественно Хл *a*.



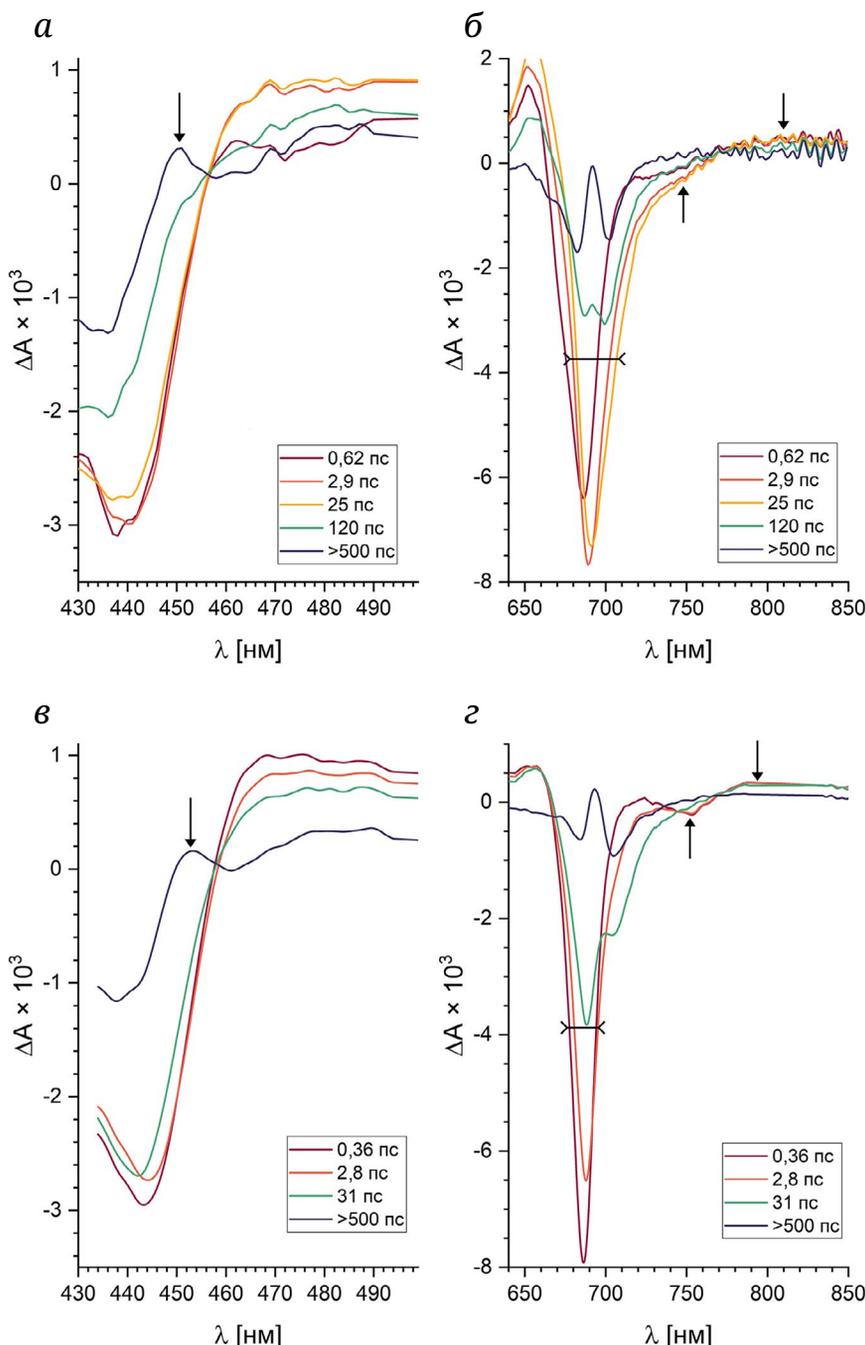
**Рис. 1.** Сравнение спектров поглощения ФС1 из водоросли *C. oshadii* (1) и цианобактерии *Synechocystis* 6803 (2). Спектр ФС1 из *C. oshadii* аппроксимирован суммой спектров Хл *a* (3), Хл *b* (4) и бета-каротина (5) по методике из работы Черепанов et al. [26]. Относительные вклады Хл *a* и Хл *b* в модельный спектр (6) составляют 90% и 10% соответственно. В области 600–750 нм представлены три фракции Хл *a* с максимумами в полосе Qy на 671 нм (3а – 40%), 685 нм (3б – 54%) и 705 нм (3в – 6%). На вставке показан красный край спектров в логарифмическом масштабе



**Рис. 2.** Спектральные изменения ФС1 из *C. oshadii* вблизи полосы Qy, инициированные возбуждением с максимумом на 660 нм (а) и 715 нм (б). Шкала амплитуд показана справа от цветковых карт

В спектре полосы Qy можно выделить фракции с максимумом около 671 нм (40%), 685 нм (54%) и 704 нм (6%), в то время как Хл *b* вносит лишь небольшой вклад в полосу поглощения Qy в области 650–660 нм (рис. 1). Примечательно, что модельный спектр Хл *a*, рассчитанный для ФС1 из

*C. oshadii* в области полосы Qy (штрих-пунктир), хорошо воспроизводит спектр поглощения ФС1 из *Synechocystis* 6803 (сплошная красная линия). Отличие двух спектров состоит в том, что длинноволновый край полосы Qy спектра ФС1 из *C. oshadii* сдвинут на ~5 нм в красную сторону относительно

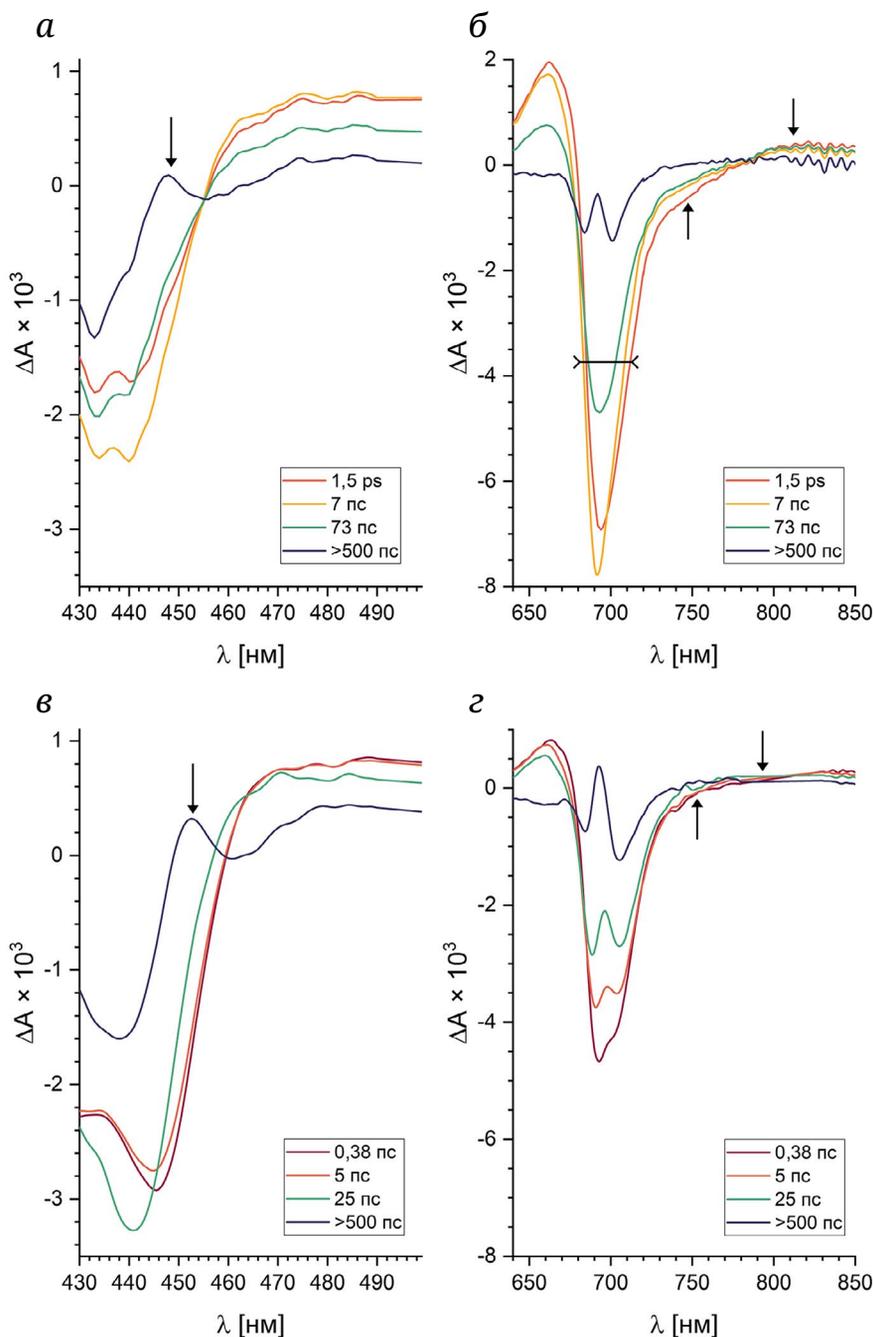


**Рис. 3.** Дифференциальные спектры последовательных кинетических интермедиатов (EADS) ФС1 из *C. ohadii* (а, б) и *Synechocystis* 6803 (в, г) в области Соре (а, в) и вблизи полосы Qy (б, г). Возбуждение на длинах волн 660 нм (*C. ohadii*) и 680 нм (*Synechocystis* 6803). Характерные времена переходов  $\tau_i$  и соответствующие им спектры  $A_i(\lambda)$  получены с помощью нелинейной многоэкспоненциальной деконволюции

спектра ФС1 из *Synechocystis* 6803. Однако при этом асимптотический спад спектра ФС1 из *C. ohadii* в области 710–760 нм, построенный в полулогарифмических координатах, совпадает с поглощением ФС1 из *Synechocystis* 6803 (вставка на рис. 1).

Фотоиндуцированные изменения поглощения ФС1 из *C. ohadii*, вызванные возбуждением с синего и красного краев полосы Qy на длинах волн 660 и 715 нм, представлены на рис. 2, а и б соответственно.

Возбуждение на 660 нм затрагивало преимущественно фракции Хл а антенны с максимумом около 670 нм (синяя кривая на рис. 1), а последующий перенос возбуждения в область основной полосы 685 нм происходил на временной шкале 0,1–1 пс (сдвиг полосы выцветания Qy представлен на рис. 2, а синим цветом). Установление равновесия с длинноволновыми формами Хл антенны, поглощающими в области 700 нм, происходило на временном интервале 3–10 пс, что видно по



**Рис. 4.** Спектры EADS ФС1 из *C. oshadii* (а, б) и *Synechocystis* 6803 (в, г) в области Core (а, в) и вблизи полосы Qy (б, г). Возбуждение на длинах волн 715 нм (*C. oshadii*) и 720 нм (*Synechocystis* 6803). Характерные времена переходов  $\tau_i$  и соответствующие им спектры  $A_i(\lambda)$  получены с помощью нелинейной многоэкспоненциальной деконволюции

уширению области выцветания в этом временном диапазоне. Наконец, перенос энергии в РЦ и разделение зарядов с образованием ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  происходило на временной шкале 40–100 пс. Спектральным маркером катиона  $P_{700}^+$  является появление двух полос выцветания с локальными минимумами около 686 и 700 нм, тогда как образование аниона филлохинона  $A_1^-$  не вызывает заметных изменений поглощения в области полосы Qy [30].

Возбуждение ФС1 из *C. oshadii* с красного края полосы Qy с центром на длине волны 715 нм затрагивало преимущественно длинноволновую фракцию Хл *a* антенны с максимумом около 705 нм (красная кривая на рис. 1). В этих условиях установление равновесия в светособирающих комплексах происходило на временной шкале 1–3 пс, что видно по сдвигу полосы выцветания на рис. 2, б в область коротких длин волн. Образование ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  в этих усло-

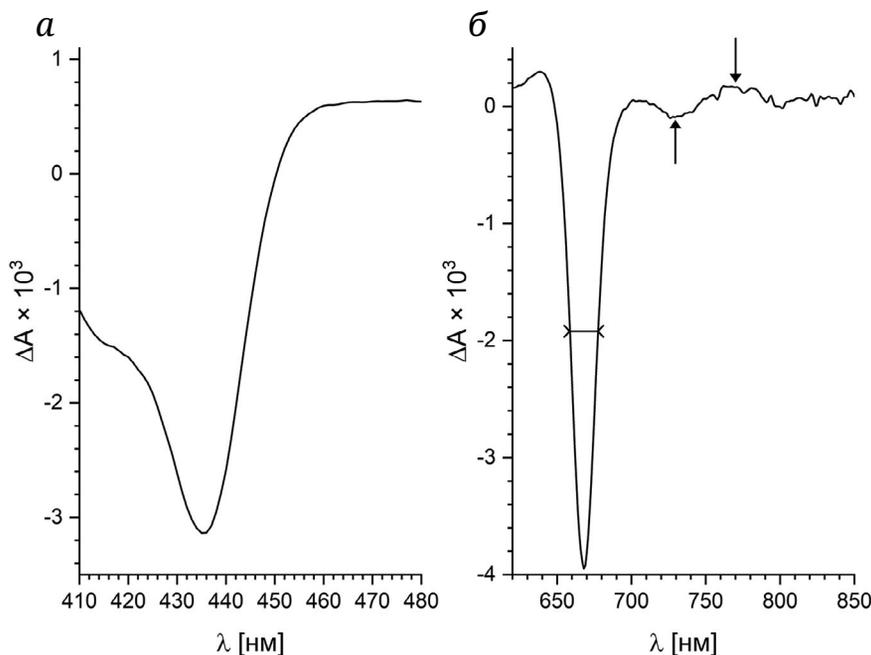


Рис. 5. Дифференциальный спектр возбужденного состояния мономера Хл а в растворе тетрагидрофурана

виях возбуждения происходило заметно быстрее – во временном диапазоне 20–50 пс.

**Количественный анализ спектральной динамики** был проведен методом глобального разложения на экспоненциальные компоненты (1) с помощью последовательной кинетической модели (2). Последовательная модель позволяет качественно описать установление равновесия между различными фракциями Хл в антенне и лимитированное переносом энергии разделение зарядов в РЦ. На рис. 3 приведены спектры EADS комплексов из *C. ohadii* и *Synechocystis* 6803, полученные при возбуждении ФС1 в синий край полосы Qu на длинах волн 660 и 680 нм соответственно.

Аналогичные спектры, полученные при возбуждении ФС1 с красного края полосы Qu на длине волны 715–720 нм приведены на рис. 4.

Для интерпретации наблюдаемых спектральных интермедиатов важную информацию предоставляет разностный спектр возбужденного состояния  $S_1$  мономера Хл а в растворе тетрагидрофурана (рис. 5), помогающий выделить в спектрах EADS маркеры возбужденного состояния молекул Хл. К числу особенностей разностного спектра  $S_1$  можно отнести следующие:

(i) полоса выцветания Qu с минимумом на 668 нм, обусловленная исчезновением основного состояния и появлением стимулированного излучения, имеет полуширину 20 нм (горизонтальная отметка на рис. 5) и амплитуду, примерно равную амплитуде выцветания полосы Core в области 435–450 нм;

(ii) в области 730 нм наблюдается дополнительная отрицательная полоса стимулированного излучения (отмечена направленной вверх стрелкой), обусловленная сопряжением перехода  $S_1 \rightarrow S_0$  с возбуждением вибронных колебаний макроцикла Хл;

(iii) в области 770 нм наблюдается положительная полоса поглощения возбужденного состояния (отмечена направленной вниз стрелкой), обусловленная переходом  $S_1 \rightarrow S_n$  на более высокий электронный уровень возбужденного Хл;

(iv) в области 460–500 нм спектр поглощения возбужденного состояния Хл представляет собой широкую полосу, не имеющую выраженной структуры; используя указанные маркеры, можно проводить интерпретацию наблюдаемых спектров EADS.

Как следует из рис. 3, а и б, при возбуждении ФС1 из *C. ohadii* на длине волны 660 нм переходные спектры на временных задержках до 25 пс (представлены темно-красной, красной и оранжевой линиями) соответствуют спектру возбужденного Хл а: его характерными маркерами являются выцветание вибронной полосы в области 740–750 нм и появление широкой положительной полосы в области 780–840 нм (вертикальные стрелки на рис. 3, б). Эволюция спектров в этом интервале отражает миграцию энергии к длинноволновым формам Хл антенны. Наиболее значимые абсорбционные изменения, обусловленные образованием ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_{1}^-$ , могут быть описаны двумя экспоненциальными переходами с характерными временами 25 и 120 пс.

По всей видимости, различные компартменты ССА передают энергию в РЦ с различной скоростью, поэтому результирующая кинетика не является моноэкспоненциальной. Уменьшение общей амплитуды выцветания в области полосы Core (440 нм) и полосы Qu (690 нм) коррелирует с исчезновением маркеров возбужденного состояния (полосы стимулированного излучения на 740–750 нм и положительной полосы поглощения на 780–840 нм), а также характеризуется появлением маркера поглощения катиона  $P_{700}^+$  на 450 нм (вертикальная стрелка на рис. 3, а). Наиболее вероятная интерпретация последней особенности – электрохромный сдвиг полос Core молекул Хл РЦ под действием электрического поля ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$ .

На рис. 3, в и г приведены аналогичные спектры EADS для ФС1 из *Synechocystis* 6803 после возбуждении на длине волны 680 нм. На временных задержках до 2 пс переходные спектры, в целом, соответствуют спектру возбужденного Хл и близки к аналогичным спектрам ФС1 из *C. oshadii*. Переходный спектр  $A_3(\lambda)$ , образующийся с характерным временем  $\tau_2 = 2,8$  пс (зеленая линия), характеризуется следующими особенностями: появляется длинноволновая полоса выцветания с минимумом на 705 нм; амплитуда основной полосы выцветания на 688 нм уменьшается вдвое; примерно вдвое уменьшается амплитуда выцветания вибронной сателлитной полосы на 750 нм; полоса поглощения возбужденного состояния в области 780–840 нм не меняется; полоса выцветания в области Core (440–445 нм) практически не меняется, в то время как поглощение возбужденного состояния в области 460–500 нм уменьшается. В совокупности эти изменения могут быть объяснены возникновением в РЦ переходных состояний, в которых возбужденные экситон-сопряженные молекулы Хл РЦ ( $P_{700}A_0$ )\* смешаны с состояниями разделенных зарядов  $P_{700}^+A_0^-$  [20, 31]. Перенос электрона на хинонный акцептор и образование стабильной ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  в ФС1 из *Synechocystis* 6803 происходит с характерным временем 31 пс.

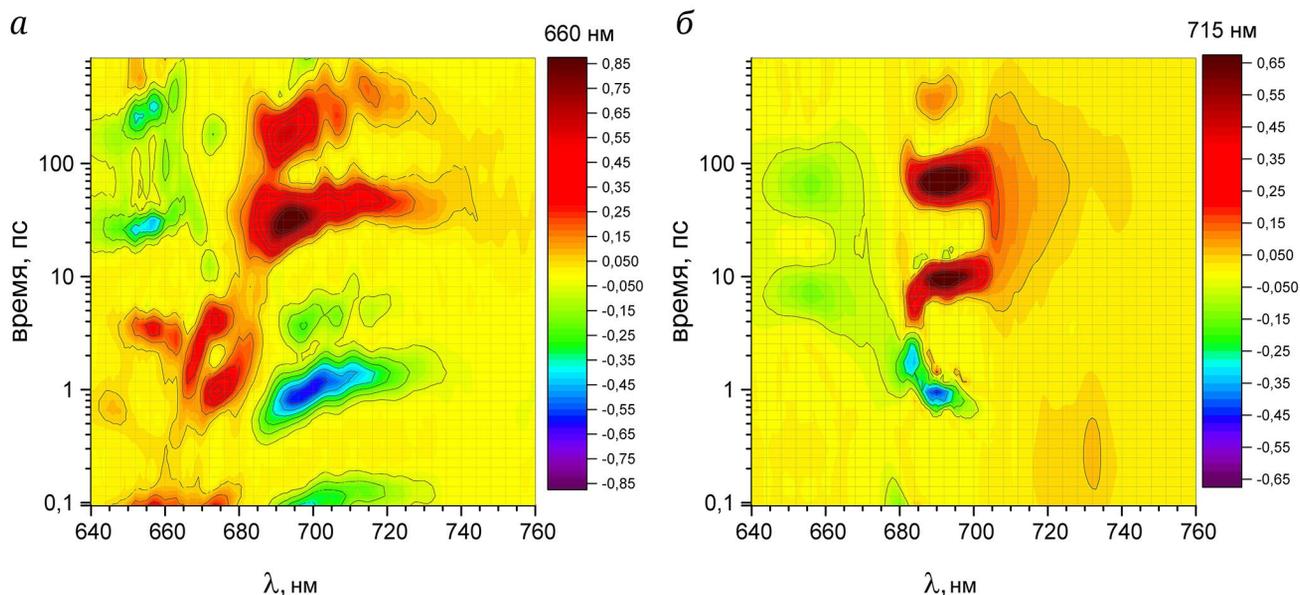
На рис. 4, а и б приведены спектры EADS для ФС1 из *C. oshadii* после возбуждения с красного края полосы Qu в области 715 нм. На временных задержках до 7 пс спектральные изменения могут быть приписаны установлению равновесия с участием коротковолновых форм Хл антенны. Переходный спектр  $A_3(\lambda)$ , образующийся с характерным временем  $\tau_2 = 7$  пс (зеленая линия), имеет признаки образования ион-радикальных состояний: уменьшаются амплитуды полосы выцветания на 690 нм и сателлитной полосы на 750 нм, а также полосы в области Core 440 нм. Кроме того, увеличивается поглощение в области 455 нм,

что является признаком появления катиона  $P_{700}^+$ . Процесс разделения зарядов в этом варианте возбуждения ФС1 завершается переходом с характерным временем  $\tau_3 = 73$  пс.

На рис. 4, в и г приведены спектры EADS для ФС1 из *Synechocystis* 6803 после возбуждения с красного края полосы Qu в области 720 нм. В этих условиях возбуждения начальный переходный спектр  $A_1(\lambda)$  на временных задержках до 0,38 пс (темно-красная линия) близок по форме к спектру  $A_3(\lambda)$ , образующемуся со временем  $\tau_2 = 2,8$  пс после возбуждения ФС1 из *Synechocystis* 6803 на 680 нм (рис. 3, в и г; зеленая линия). Переходный спектр  $A_1(\lambda)$  в области полосы Qu характеризуется двумя минимумами (при 690 и 704 нм) с амплитудой вдвое меньшей амплитуды начальной полосы выцветания при возбуждении на 680 нм (рис. 3, г; темно-красная линия). При этом выцветание вибронной полосы на 750 нм и поглощение возбужденного состояния в области 780–840 нм незначительно. Спектр выцветания полосы Core и поглощения возбужденного состояния в области 460–500 нм хорошо соответствует переходному спектру  $A_3(\lambda)$ , образующемуся с характерным временем  $\tau_2 = 2,8$  пс при возбуждении на 680 нм (рис. 3, в и г; зеленая линия). Таким образом, данные результаты подтверждают сделанный ранее вывод о непосредственном возбуждении реакционного центра ФС1 и образовании в нем смешанных состояний с разделенными зарядами  $P_{700}^+A_0^-$  при возбуждении в области 720 нм [19, 20]. Образование стабильной ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  в ФС1 из *Synechocystis* 6803 в этих условиях происходит с характерным временем 25 пс.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе спектральные изменения ФС1 из микроводоросли *C. oshadii*, индуцированные возбуждением с синего и красного края полосы поглощения Qu, сравниваются с аналогичными изменениями ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* 6803. При возбуждении ФС1 из *C. oshadii* на длине волны 660 нм спектральная динамика во временном интервале до 25 пс отражает перераспределение энергии в светособирающих субъединицах комплекса; образование стабильной ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  в этих условиях лимитируется переносом энергии в РЦ из двух пулов антенных комплексов с характерными временами 25 и 120 пс соответственно. В аналогичных условиях перенос энергии в РЦ ФС1 из *Synechocystis* 6803 происходит существенно быстрее: в ~30% комплексов энергия попадает в РЦ со временем 3 пс, что вызывает образование первичных ион-радикальных пар; в остальной части комплексов возбуждение РЦ



**Рис. 6.** Карты континуального распределения времен жизни переходной кинетики поглощения ФС1 из *C. ohadii*, построенные обратным преобразованием Лапласа с помощью программы CONTIN [33] по данным, представленным на рис. 2. Возбуждение на 660 нм (а) и 715 нм (б). Области уменьшения и увеличения поглощения отмечены синим и красным цветом в соответствии со шкалой, размещенной справа от карты

и формирование состояния  $P_{700}^+A_1^-$  происходит со временем 31 пс. Сходные фотохимические реакции в ФС1 из *Synechocystis* 6803 наблюдались ранее [7, 17, 18].

При альтернативном варианте возбуждения ФС1 из *C. ohadii* в красный край полосы Qy на длине волны 715 нм в 50% комплексов наблюдается разделение зарядов с характерным временем 7 пс, в остальных 50% – разделение зарядов и образование стабильной ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  контролируется переносом энергии с характерным временем около 70 пс. В аналогичных условиях в ФС1 из *Synechocystis* 6803 в половине комплексов наблюдается сверхбыстрое (кинетически неразрешимое) разделение зарядов, последующая стабилизация и образование ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  происходит со временем 25 пс [19].

Наблюдаемые различия в скорости образования ион-радикальных пар между комплексами ФС1 из двух организмов, по-видимому, связаны с различиями в их структуре. Центральная часть комплекса имеет единый план строения у всех кислород-выделяющих организмов, однако комплексы ФС1 хлоропластного типа, характерные для зеленых водорослей и высших растений, окружены внешней антенной из 8–10 пигмент-белковых комплексов LHС1. Поэтому в ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* 6803 на один реакционный центр приходится 90 молекул Хл *a* ССА, а в зеленой водоросли *C. ohadii* – 202 молекулы Хл *a* и 47 молекул Хл *b*. В связи с этим возникает вопрос, типично ли такое медленное разделение зарядов для всех комплексов ФС1 хлоропластного типа.

Первичные фотохимические процессы были ранее исследованы в работах Holzwarth et al. [14–16] в ФС1 из зеленой водоросли *Chl. reinhardtii*. Для корректного сопоставления спектральной динамики ФС1 из *C. ohadii* с картами плотности континуального распределения характерных времен, опубликованными ранее [14–16], аналогичные карты распределения характерных времен были рассчитаны методом обратного преобразования Лапласа [32] с помощью программы CONTIN [33]. На рис. 6 приведены результаты континуального разложения фотодинамики в области полосы Qy, представленной на рис. 2.

Главными особенностями распределения положительных и отрицательных областей на карте плотности характерных времен для динамики ФС1 из *Chl. reinhardtii* при возбуждении на 670 нм является перенос возбуждения в длинноволновую сторону во временных диапазонах 0,1, 0,6 и 5 пс, а также увеличение поглощения в области полосы выпцветания 685 нм со временем 25 пс (см. рис. 3, А в работе Müller et al. [14]). Близкие кинетические компоненты наблюдаются и в динамике ФС1 из *C. ohadii* при возбуждении на 660 нм: перенос возбуждения в длинноволновую сторону происходит с характерными временами 0,1, 0,8 и 5 пс, а увеличение поглощения в области полосы 690 нм происходит с характерным временем 30 пс (рис. 6, а). Однако, в отличие от *Chl. reinhardtii*, в динамике ФС1 из *C. ohadii* наблюдается также фракция комплексов, в которых перенос энергии в реакционный центр и сопряженное с этим увеличение поглощения полосы 690 нм происходит со временем ~150 пс.

Основные переходы на картах континуального разложения в четырех временных диапазонах: 0,8 пс, 5 пс, 30 пс и 150 пс (рис. 6, а) хорошо совпадают с результатами дискретного разложения (рис. 3, а и б).

При возбуждении ФС1 из *Chl. reinhardtii* на длине волны 700 нм наблюдались кинетические компоненты переноса энергии в коротковолновую сторону с характерными временами 0,2 и 1 пс, а также увеличение поглощения в области полосы выцветания 685 нм, обусловленное образованием ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  (см. рис. 3, В в работе Müller et al. [14] и аналогичные карты распределения в работах Holzwarth et al. [15, 16]). Кроме того, небольшую по амплитуде компоненту с характерным временем 7 пс авторы интерпретировали как первичную реакцию разделения зарядов [14–16].

В фотодинамике ФС1 из *C. ohadii* при возбуждении на 715 нм перенос возбуждения в коротковолновую сторону происходит со временем 1–2 пс (рис. 4, б и 6, б), что несколько медленнее по сравнению с ФС1 из *Chl. reinhardtii*. Это отличие может быть связано с более длинноволновым характером возбуждения в данной работе. На карте плотности во временном диапазоне 7–11 пс наблюдается увеличение поглощения в области полосы выцветания 690 нм (рис. 6, б), которое коррелирует с увеличением поглощения в области 750 нм, увеличением поглощения в области Core (430–450 нм) и уменьшением поглощения в области 460–500 нм на спектрах EADS (рис. 4, а и б). Все вместе позволяет отнести наблюдаемые изменения к реакции разделения зарядов, что согласуется с интерпретацией компоненты 7 пс, предложенной ранее [14–16]. Однако в фотодинамике ФС1 из *C. ohadii* при возбуждении на 715 нм не наблюдается компонент в диапазоне 25–30 пс, но присутствует более медленная компонента со временем 70 пс (рис. 6, б), которая отсутствует как в карте распределения ФС1 из *Chl. reinhardtii* (рис. 3, В в работе Müller et al. [14]), так и в динамике поглощения ФС1 из *Synechocystis* 6803 (рис. 4, г). Однако спектр EADS компоненты 7 пс на рис. 4, б не содержит локального минимума в области 705 нм, характерного для первичной ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_0^-$  (см. рис. 4, г и работы Shelaev et al. [19] и Cherepanov et al. [20]), поэтому механизм разделения зарядов с характерным временем 7 пс в ФС1 из *C. ohadii* требует дальнейшего изучения.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе спектральные изменения ФС1 из микроводоросли *C. ohadii*, индуцированные

возбуждением с синего и красного края полосы поглощения Qu, сравниваются с аналогичными изменениями ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* 6803. При возбуждении ФС1 из *C. ohadii* на длине волны 660 нм спектральная динамика во временном интервале до 25 пс отражает перераспределение энергии в светособирающих субъединицах комплекса; образование стабильной ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  в этих условиях лимитируется переносом энергии в РЦ из двух пулов антенных комплексов с характерными временами 25 и 120 пс соответственно. В аналогичных условиях перенос энергии в РЦ ФС1 из *Synechocystis* 6803 происходит существенно быстрее: в ~30% комплексов энергия попадает в РЦ со временем 3 пс, что вызывает образование первичных ион-радикальных пар; в остальной части комплексов возбуждение РЦ и формирование состояния  $P_{700}^+A_1^-$  происходит со временем 31 пс.

При альтернативном варианте возбуждения ФС1 из *C. ohadii* в красный край полосы Qu на длине волны 715 нм в 50% комплексов наблюдается разделение зарядов с характерным временем 7 пс, в остальных 50% комплексов разделение зарядов и образование стабильной ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  контролируется переносом энергии с характерным временем около 70 пс. Сходная фотодинамика ФС1 из *Synechocystis* 6803 при возбуждении на длине волны 720 нм описана ранее [19].

Сравнение кинетики переноса энергии возбуждения и переноса зарядов в ФС1 из микроводорослей *C. ohadii* и *Chl. reinhardtii* демонстрирует их заметное сходство. Однако в кинетике переноса энергии в ФС1 из *C. ohadii* имеются более медленные компоненты, вероятно, обусловленные различием в структуре этих комплексов. В целом, полученные данные свидетельствуют, что реакции разделения зарядов в ФС1 всех анализируемых организмов при возбуждении ССА лимитированы переносом возбуждения в РЦ, при этом скорость переноса энергии и образование ион-радикальной пары  $P_{700}^+A_1^-$  замедляется в ряду *Synechocystis* 6803 → *Chl. reinhardtii* → *C. ohadii*. При непосредственном возбуждении ФС1 цианобактерии *Synechocystis* 6803 в красный край полосы Qu наблюдаются сверхбыстрые процессы разделения зарядов в экситонно-сопряженной системе кофакторов РЦ. Сравнение ФС1 из цианобактерий и зеленых водорослей показывает, что размер антенны существенно ограничивает скорость образования ион-радикальной пары. Несмотря на сходный общий размер и близкую структуру ФС1 из *C. ohadii* и *Chl. reinhardtii*, ССА из *C. ohadii* включает длинноволновую фракцию Хл а, перенос энергии возбуждения от которой в РЦ происходит во временном диапазоне 150 пс.

**Вклад авторов.** Д.А. Черепанов – анализ результатов спектральных измерений, написание текста; М.С. Фадеева – выращивание культуры клеток *C. ohadii*, выделение из них комплексов ФС1; А.А. Петрова – характеристика препаратов ФС1; Ф.Е. Гостев, И.В. Шелаев – проведение фемтосекундных измерений; В.А. Надточенко – концепция работы; А.Ю. Семенов – написание и редактирование текста, руководство работой.

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

**Благодарности.** В работе использовано оборудование (фемтосекундная установка) Центра коллективного пользования ФИЦ ХФ РАН «Анализ химических, биологических систем и природных материалов: масс-спектральная микроскопия и фемтосекундная лазерная микроскопия-спектроскопия» (рег. номер: 506694).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют 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. Treves, H., Raanan, H., Finkel, O. M., Berkowicz, S. M., Keren, N., Shotland, Y., and Kaplan, A. (2013) A newly isolated *Chlorella* sp. from desert sand crusts exhibits a unique resistance to excess light intensity, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **86**, 373-380, <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12162>.
2. Caspy, I., Neumann, E., Fadeeva, M., Liveanu, V., Savitsky, A., Frank, A., Kalisman, Y. L., Shkolnisky, Y., Murik, O., Treves, H., Hartmann, V., Nowaczyk, M. M., Schuhmann, W., Rögner, M., Willner, I., Kaplan, A., Schuster, G., Nelson, N., Lubitz, W., and Nechushtai, R. (2021) Cryo-EM photosystem I structure reveals adaptation mechanisms to extreme high light in *Chlorella ohadii*, *Nat. Plants*, **7**, 1314-1322, <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00983-1>.
3. Mazor, Y., Borovikova, A., and Nelson, N. (2017) The structure of plant photosystem I super-complex at 2.8 Å resolution, *Nat. Plants*, **3**, 17014, <https://doi.org/10.7554/eLife.07433>.
4. Qin, X., Pi, X., Wang, W., Han, G., Zhu, L., Liu, M., Cheng, L., Shen, J. R., Kuang, T., and Sui, S. F. (2019) Structure of a green algal photosystem I in complex with a large number of light-harvesting complex I subunits, *Nat. Plants*, **5**, 263-272, <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0379-y>.
5. Su, X., Ma, J., Pan, X., Zhao, X., Chang, W., Liu, Z., Zhang, X., and Li, M. (2019) Antenna arrangement and energy transfer pathways of a green algal photosystem-I-LHCI supercomplex, *Nat. Plants*, **5**, 273-281, <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0380-5>.
6. Suga, M., Ozawa, S. I., Yoshida-Motomura, K., Akita, F., Miyazaki, N., and Takahashi, Y. (2019) Structure of the green algal photosystem I supercomplex with a decameric light-harvesting complex I, *Nat. Plants*, **5**, 626-636, <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0438-4>.
7. Semenov, A. Y., Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Mamedov, M. D., Shuvalov, V. A., Sarkisov, O. M., and Nadtochenko, V. A. (2012) Primary steps of electron and energy transfer in photosystem I: effect of excitation pulse wavelength., *Biochemistry*, **77**, 1011-1020, <https://doi.org/10.1134/S0006297912090088>.
8. Cherepanov, D. A., Semenov, A. Y., Mamedov, M. D., Aybush, A. V., Gostev, F. E., Shelaev, I. V., Shuvalov, V. A., and Nadtochenko, V. A. (2022) Current state of the primary charge separation mechanism in photosystem I of cyanobacteria, *Biophys. Rev.*, **14**, 805-820, <https://doi.org/10.1007/s12551-022-00983-1>.
9. Savikhin, S., and Jankowiak, R. (2014) Mechanism of primary charge separation in photosynthetic reaction centers, in *The Biophysics of Photosynthesis* (Golbeck, J., and van der Est, A., eds) Springer New York, NY, pp. 193-240, [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1148-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1148-6_7).
10. Fromme, P., Jordan, P., and Krauß, N. (2001) Structure of photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1507**, 5-31, [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(01\)00195-5](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(01)00195-5).
11. Mazor, Y., Nataf, D., Toporik, H., and Nelson, N. (2014) Crystal structures of virus-like photosystem I complexes from the mesophilic cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803, *Elife*, **3**, e01496, <https://doi.org/10.7554/elife.01496>.
12. Suga, M., and Shen, J. R. (2020) Structural variations of photosystem I-antenna supercomplex in response to adaptations to different light environments, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **63**, 10-17, <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.02.005>.
13. Bai, T., Guo, L., Xu, M., and Tian, L. (2021) Structural diversity of photosystem I and its light-harvesting system in eukaryotic algae and plants, *Front. Plant Sci.*, **12**, 781035, <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.781035>.
14. Müller, M. G., Niklas, J., Lubitz, W., and Holzwarth, A. R. (2003) Ultrafast transient absorption studies on photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas reinhardtii*. 1. A new interpretation of the energy trapping and early electron transfer steps in photosystem I, *Biophys. J.*, **85**, 3899-3922, [https://doi.org/10.1016/s0006-3495\(03\)74804-8](https://doi.org/10.1016/s0006-3495(03)74804-8).
15. Holzwarth, A. R., Müller, M. G., Niklas, J., and Lubitz, W. (2006) Ultrafast transient absorption studies on photosystem I reaction centers from *Chlamydomonas reinhardtii*. 2: mutations near the P700 reaction center

- chlorophylls provide new insight into the nature of the primary electron donor, *Biophys. J.*, **90**, 552-565, <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.059824>.
16. Müller, M. G., Slavov, C., Luthra, R., Redding, K. E., and Holzwarth, A. R. (2010) Independent initiation of primary electron transfer in the two branches of the photosystem I reaction center, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 4123-4128, <https://doi.org/10.1073/pnas.0905407107>.
  17. Cherepanov, D. A., Shelaev, I. V., Gostev, F.E., Aybush, A. V., Mamedov, M. D., Shuvalov, V. A., Semenov, A. Y., and Nadtochenko, V. A. (2020) Generation of ion-radical chlorophyll states in the light-harvesting antenna and the reaction center of cyanobacterial photosystem I, *Photosynth. Res.*, 1-19, <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00731-0>.
  18. Savikhin, S., Xu, W., Chitnis, P. R., and Struve, W. S. (2000) Ultrafast primary processes in PS I from *Synechocystis* sp. PCC 6803: roles of P700 and A0, *Biophys. J.*, **79**, 1573-1586, [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76408-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76408-3).
  19. Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Mamedov, M. D., Sarkisov, O. M., Nadtochenko, V. A., Shuvalov, V. A., and Semenov, A. Y. (2010) Femtosecond primary charge separation in *Synechocystis* sp. PCC 6803 photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1797**, 1410-1420, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.02.026>.
  20. Cherepanov, D. A., Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Mamedov, M. D., Petrova, A. A., Aybush, A. V., Shuvalov, V. A., Semenov, A. Y., and Nadtochenko, V. A. (2017) Mechanism of adiabatic primary electron transfer in photosystem I: Femtosecond spectroscopy upon excitation of reaction center in the far-red edge of the Q<sub>y</sub> band, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1858**, 895-905, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2017.08.008>.
  21. Cherepanov, D. A., Brady, N. G., Shelaev, I. V., Nguyen, J., Gostev, F. E., Mamedov, M. D., Nadtochenko, V. A., and Bruce, B. D. (2020) PSI-SMALP, a detergent-free cyanobacterial photosystem I, reveals faster femtosecond photochemistry, *Biophys. J.*, **118**, 337-351, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.11.3391>.
  22. Shen, G., Antonkine, M. L., van der Est, A., Vassiliev, I. R., Brettel, K., Bittl, R., Zech, S. G., Zhao, J., Stehlik, D., Bryant, D. A., and Golbeck, J. H. (2002) Assembly of photosystem I. II. Rubredoxin is required for the *in vivo* assembly of F(X) in *Synechococcus* sp. PCC 7002 as shown by optical and EPR spectroscopy, *J. Biol. Chem.*, **277**, 20355-20366, <https://doi.org/10.1074/jbc.M201104200>.
  23. Dobryakov, A. L., Pérez Lustres, J. L., Kovalenko, S. A., and Ernstring, N. P. (2008) Femtosecond transient absorption with chirped pump and supercontinuum probe: Perturbative calculation of transient spectra with general lineshape functions, and simplifications, *Chem. Phys.*, **347**, 127-138, <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2007.11.003>.
  24. Golubeva, E. N., Zubanova, E. M., Melnikov, M. Y., Gostev, F. E., Shelaev, I. V., and Nadtochenko, V. A. (2014) Femtosecond spectroscopy and TD-DFT calculations of CuCl<sub>4</sub><sup>2-</sup> excited states, *Dalt. Trans.*, **43**, 17820-17827, <https://doi.org/10.1039/C4DT01409J>.
  25. Dobryakov, A. L., Kovalenko, S. A., Weigel, A., Pérez-Lustres, J. L., Lange, J., Müller, A., and Ernstring, N. P. (2010) Femtosecond pump/supercontinuum-probe spectroscopy: optimized setup and signal analysis for single-shot spectral referencing, *Rev. Sci. Instrum.*, **81** <https://doi.org/10.1063/1.3492897>.
  26. Cherepanov, D. A., Neverov, K. V., Obukhov, Y.N., Maleeva, Y. V., Gostev, F. E., Shelaev, I. V., Aybush, A. V., Kritsky, M. S., and Nadtochenko, V. A. (2023) Femtosecond dynamics of excited states of chlorophyll tetramer in water-soluble chlorophyll-binding protein BoWSCP, *Biochemistry*, **88**, 1580-1595, <https://doi.org/10.1134/S0006297923100139>.
  27. Cherepanov, D. A., Petrova, A. A., Mamedov, M. D., Vishnevskaya, A. I., Gostev, F. E., Shelaev, I. V., Aybush, A. V., and Nadtochenko, V. A. (2022) Comparative absorption dynamics of the singlet excited states of chlorophylls *a* and *d*, *Biochem.*, **87**, 1179-1186, <https://doi.org/10.1134/S000629792210011X>.
  28. Stokkum, I. H. M. Van, Larsen, D. S., and van Grondelle, R. (2004) Global and target analysis of time-resolved spectra, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1657**, 82-104, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.04.011>.
  29. Malavath, T., Caspy, I., Netzer-El, S. Y., Klaiman, D., and Nelson, N. (2018) Structure and function of wild-type and subunit-depleted photosystem I in *Synechocystis*, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1859**, 645-654, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.02.002>.
  30. Witt, H., Bordignon, E., Carbonera, D., Dekker, J. P., Karapetyan, N., Teutloff, C., Webber, A., Lubitz, W., and Schlodder, E. (2003) Species-specific differences of the spectroscopic properties of P700: analysis of the influence of non-conserved amino acid residues by site-directed mutagenesis of photosystem I from *Chlamydomonas reinhardtii*, *J. Biol. Chem.*, **278**, 46760-46771, <https://doi.org/10.1074/jbc.M304776200>.
  31. Cherepanov, D. A., Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Petrova, A., Aybush, A. V., Nadtochenko, V. A., Xu, W., Golbeck, J. H., and Semenov, A. Y. (2021) Primary charge separation within the structurally symmetric tetrameric Chl<sub>2A</sub>P<sub>A</sub>P<sub>B</sub>Chl<sub>2B</sub> chlorophyll exciplex in photosystem I, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, **217**, 112154, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112154>.
  32. Petrova, A. A., Casazza, A. P., Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Aybush, A. V., Nadtochenko, V. A., Semenov, A. Y., Santabarbara, S., and Cherepanov, D. A. (2023) Role of pheophytin a in the primary charge separation of pho-

- tosystem I from *Acaryochloris marina*: femtosecond optical studies of excitation energy and electron transfer reactions, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1864**, 148984, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2023.148984>.
33. Provencher, S. W. (1982) CONTIN: A general purpose constrained regularization program for inverting noisy linear algebraic and integral equations, *Comput. Phys. Commun.*, **27**, 229-242, [https://doi.org/10.1016/0010-4655\(82\)90174-6](https://doi.org/10.1016/0010-4655(82)90174-6).

## SPECIFICITY OF PHOTOCHEMICAL ENERGY CONVERSION IN PHOTOSYSTEM I FROM THE GREEN MICROALGA *Chlorella ohadii*

D. A. Cherepanov<sup>1,2\*</sup>, A. A. Petrova<sup>2</sup>, M. S. Fadeeva<sup>3</sup>, F. E. Gostev<sup>1</sup>, I. V. Shelaev<sup>1</sup>,  
V. A. Nadtochenko<sup>1,4</sup>, and A. Yu. Semenov<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> N. N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics Russian Academy of Sciences,  
119991 Moscow, Russia; e-mail: [tscherepanov@gmail.com](mailto:tscherepanov@gmail.com)

<sup>2</sup> A. N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University,  
119992 Moscow, Russia; e-mail: [semenov@belozersky.msu.ru](mailto:semenov@belozersky.msu.ru)

<sup>3</sup> The George S. Wise Faculty of Life Sciences, 69978 Tel Aviv, Israel

<sup>4</sup> Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

Primary excitation energy transfer and charge separation reactions in photosystem I (PSI) from the extremophile desert green alga *Chlorella ohadii*, grown in low light, were studied using broadband femtosecond pump-probe spectroscopy in the spectral range from 400 to 850 nm and in the time range of 50 fs–500 ps. Photochemical reactions were induced by the excitation into the blue and red edges of the chlorophyll Qy absorption band, and compared with similar processes in PSI from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. When PSI from *C. ohadii* was excited at a wavelength of 660 nm, the processes of energy redistribution in the light-harvesting antenna of the complex were observed in a time interval of up to 25 ps, while the formation of a stable ion-radical pair  $P_{700}^+A_1^-$  was kinetically heterogeneous with characteristic times of 25 and 120 ps. With an alternative variant of excitation into the red edge of the Qy band at a wavelength of 715 nm, in half of the complexes, primary charge separation reactions were observed in the time range of 7 ps. In the rest of the complexes, the formation of the ion-radical pair  $P_{700}^+A_1^-$  was limited by energy transfer and occurred with a characteristic time of 70 ps. Similar photochemical reactions in PSI from *Synechocystis* 6803 were significantly faster: upon excitation at a wavelength of 680 nm, in ~30% of the complexes, the formation of primary ion-radical pairs occurred with a time of 3 ps. Upon excitation at 720 nm, kinetically unresolvable ultrafast primary charge separation was observed in half of the complexes, and the subsequent formation of a  $P_{700}^+A_1^-$  ion-radical pair was observed at 25 ps. The photodynamics of PSI from *C. ohadii* had a noticeable similarity with the processes of excitation energy transfer and charge separation in PSI from the microalga *Chlamydomonas reinhardtii*; however, in the PSI from *C. ohadii* slower components in the energy transfer dynamics were also observed.

**Keywords:** green alga *Chlorella ohadii*, femtosecond laser spectroscopy, primary photochemical reactions, excitonic dynamics, charge separation