

ГЕНЕРАЦИЯ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ

Обзор

© 2023 М.А. Козулева*, Б.Н. Иванов

Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук», Институт фундаментальных проблем биологии РАН,
142290 Пушкино, Московская обл., Россия; электронная почта: kozuleva@gmail.com

Поступила в редакцию: 09.05.2023

После доработки 16.06.2023

Принята к публикации 18.06.2023

В обзоре проанализированы имеющиеся в литературе данные о скоростях, характеристиках и механизмах восстановления молекул O_2 до супероксидного анион-радикала на участках фотосинтетической электрон-транспортной цепи, на которых это восстановление было установлено. С использованием термодинамических расчетов и результатов недавних работ критически рассмотрены имеющиеся предположения о роли компонентов этих участков в данном процессе. Детально описан процесс восстановления молекул O_2 на акцепторной стороне фотосистемы 1, считающейся основным местом этого процесса в фотосинтетической цепи. Рассмотрены аспекты эволюции фотосинтетического аппарата в контексте контроля утечки электронов к молекуле O_2 . Обсуждены причины, ограничивающие применение результатов, полученных с использованием фрагментов тилакоидных мембран, содержащих отдельные участки фотосинтетической цепи, для оценки скорости восстановления молекул O_2 на этих участках в интактной тилакоидной мембране.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фотосинтез, фотосинтетическая электрон-транспортная цепь, восстановление кислорода, супероксидный радикал.

DOI: 10.31857/S0320972523080018, EDN: INTJLQ

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярный O_2 — побочный продукт окисления воды в фотосинтезирующих организмах, использующих ее в качестве источника электронов для образования восстановителя, необходимого в реакциях углеродного метаболизма. В то же время компоненты фотосинтетического аппарата аэробных организмов могут вступать в реакции с молекулами O_2 . В 1951 году Алан Мелер обнаружил, что при освещении тилакоидов образуется пероксид водорода, H_2O_2 , и сделал вывод, что молекулярный O_2 может служить непосредственным акцептором электронов от восстановленных компонентов фотосинтетической электрон-

транспортной цепи (ФЭТЦ) [1]. Перенос электронов от компонентов ФЭТЦ к молекулам O_2 , сопровождаемый восстановлением этих молекул, получил название реакция Мелера. Основная функция ФЭТЦ — восстанавливать $NADP^+$, и было проведено громадное количество исследований, чтобы оценить долю «непроизводительной» реакции Мелера в общем переносе электронов по ФЭТЦ в различных условиях ее функционирования [2].

Однако важность понимания процессов окисления компонентов ФЭТЦ молекулами O_2 состоит не только в возможности оценки влияния реакции Мелера на эффективность фиксации CO_2 , но и в учете ее роли в осуществлении этой фиксации. Синтез АТФ, используемого

Принятые сокращения: АФК — активные формы кислорода; Фд — ферредоксин; ФНР — ферредоксин: $NADP^+$ оксидоредуктаза; ФС1 — фотосистема 1; ФС2 — фотосистема 2; ФЭТЦ — фотосинтетическая электрон-транспортная цепь; DCPIP — 2,6-дихлорфенолиндифенол; DMF — диметилформамид; DNP-INT — динитрофениловый эфир 2-йод-4-нитротимола; E_m — средноточечный редокс-потенциал; PhQ — филлохинон (phylloquinone); PQ — пластохинон (plastoquinone); Q_A и Q_B — первичный и вторичный хиноновые акцепторы фотосистемы 2 соответственно; Q_O и Q_R — хинол-окисляющий (Q_O -сайт) и хинол-восстанавливающий (Q_R -сайт) сайты b_6f -комплекса соответственно.

* Адресат для корреспонденции.

в реакциях фиксации CO_2 , осуществляется за счет протонного градиента на тилакоидной мембране, возникающего не только при линейном транспорте электронов к окислительно-пиридиннуклеотиду, но и при транспорте электронов к кислороду как к акцептору (так называемый псевдоциклический транспорт электронов), и при циклическом электронном транспорте, условием которого служит некоторый необходимый уровень окисления пула пластохинона (PQ) (redox poising), который может обеспечиваться как переносом электронов к акцепторам фотосистемы 1 (ФС1), в частности, реакцией Мелера, так и непосредственным окислением пула PQ кислородом (см. далее). Важнейшую роль играет процесс восстановления O_2 в ФЭТЦ в поддержании гомеостаза фотосинтезирующей клетки и в приспособлении всего фотосинтетического организма к условиям среды вследствие образования в этом процессе активных форм кислорода (АФК), супероксидного анион-радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$) и пероксида водорода (H_2O_2), которые служат в этом случае первичными сигнальными молекулами в осуществлении адаптационных перестроек метаболизма. Именно генерация АФК позволяет ФЭТЦ выступать в качестве чувствительного датчика таких изменений в окружающей среде, как интенсивность света, температура, доступность воды, засоленность почвы и т.д.

Неудивительно поэтому, что много исследований было посвящено выяснению, с каких компонентов ФЭТЦ возможен и с каких преимущественно происходит перенос электронов к молекулам O_2 [3–7]. К настоящему времени накопились новые данные о механизмах восстановления молекул O_2 в ФЭТЦ и возникли новые идеи об условиях протекания этого процесса и об изменении в процессе эволюции тех компонентов ФЭТЦ, которые могут окисляться кислородом. Настоящий обзор посвящен рассмотрению этих новых данных с анализом в каждом случае более ранних результатов. Основное внимание уделено восстановлению O_2 в ФС1, которую принято считать главным участком ФЭТЦ, где осуществляется этот процесс.

УСЛОВИЯ И ПУТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ O_2 В ФЭТЦ

Через 20 лет после открытия было показано, что реакция Мелера начинается как одноэлектронное окисление компонентов ФЭТЦ молекулами O_2 на свету с образованием $\text{O}_2^{\bullet-}$ [8, 9].

Здесь и далее термин фотовосстановление O_2 используется как синоним образования $\text{O}_2^{\bullet-}$ в ходе переноса электрона от компонентов ФЭТЦ к молекуле O_2 . При оценке термодинамической возможности восстановления O_2 следует учитывать, что в ФЭТЦ есть компоненты, растворенные в водной фазе, компоненты, связанные с мембраной, но контактирующие с водной фазой, а также компоненты, которые погружены в гидрофобные зоны белков и мембраны. Средноточечный редокс-потенциал (E_m) для пары $\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$ различен в разных средах: -160 мВ (относительно нормального водородного электрода, НВЭ) в воде и приблизительно $-550 \div -600$ мВ — в диметилформамиде, модельном растворителе для мембраны, имеющем диэлектрическую проницаемость 36,7 [10]. То, что $\text{O}_2^{\bullet-}$ на свету может возникать в пределах мембран тилакоидов было предположено в работе Takahashi и Asada [11] и экспериментально установлено в наших работах в присутствии O_2 как единственного конечного акцептора методом ЭПР с использованием липофильного циклического гидроксиламина ТМТ-Н (1-гидрокси-4-изобутирамидо-2,2,6,6-тетраметилпиперидиний) [12, 13]. Позже было показано, что светоиндуцированное образование $\text{O}_2^{\bullet-}$ внутри тилакоидной мембраны происходит и в присутствии ферредоксина (Фд) + NADP^+ , т.е. в условиях, когда восстановление O_2 происходит одновременно с фотовосстановлением NADP^+ [14].

На свету в ФЭТЦ, возможно, функционирует более чем один путь восстановления O_2 . В таблице приведены представленные в литературе скорости образования $\text{O}_2^{\bullet-}$ на основных участках ФЭТЦ: фотосистеме 2 (ФС2), ФС1, в цитохромном b_6f -комплексе, в стромальном пуле Фд и мембранном пуле PQ. Далее рассмотрены свойства и особенности каждого из известных путей восстановления O_2 в ФЭТЦ хлоропластов.

Восстановление O_2 в фотосистеме 2. Большое число работ посвящено исследованию реакции фотовосстановления кислорода в ФС2 — анализ этих работ приведен в обзорах [2, 4]. Основная масса этих работ была проведена с препаратами ФС2 разной степени целостности: фрагментами тилакоидных мембран, обогащенными ФС2 (ВВУ-частицами), и комплексами ФС2, в которых отсутствует PQ. К настоящему времени появился ряд работ, в которых удалось приписать $\text{O}_2^{\bullet-}$ -генерирующую активность компонентам нативной ФС2 в изолированных тилакоидах и даже в листьях. Это было достигнуто прежде всего благодаря

Скорости генерации $O_2^{\bullet-}$ на разных участках фотосинтетической электрон-транспортной цепи высших растений

Структура	Скорость генерации $O_2^{\bullet-}$	Скорость генерации $O_2^{\bullet-}$ нормализованная на содержание ФС2 ^g
Фотосистема 2	$0,1^a-0,75^b \text{ e}^- (\text{ФС2} \times \text{c})^{-1}$	$0,1-0,75 \text{ e}^- \text{ c}^{-1}$
Пул пластохинона	$2,3 \text{ e}^- (\text{ФС2} \times \text{c})^{-1c}$	$2,3 \text{ e}^- \text{ c}^{-1}$
Цитохромный b_6f -комплекс	$4,5 \text{ e}^- (b_6f \times \text{c})^{-1d}$	$1,6 \text{ e}^- \text{ c}^{-1}$
Фотосистема 1	$3-10 \text{ e}^- (\text{ФС1} \times \text{c})^{-1e}$	$1,75-5,8 \text{ e}^- \text{ c}^{-1}$
Ферредоксин	$0,4-1,4 \text{ e}^- (\text{ФС1} \times \text{c})^{-1f}$	$0,2-0,8 \text{ e}^- \text{ c}^{-1}$

Примечание. ^a Рассчитано из скорости восстановления цитохрома *c* в работе Fantuzzi et al. [15].^b Рассчитано из скорости поглощения O_2 в ВВУ-частицах в работе Khorobrykh и Ivanov [16] с учетом отношения Хлорофилл : $P_{680} = 350$ [17].^c Рассчитано из скорости диурон-независимого поглощения O_2 в тилакоидах в работе Khorobrykh и Ivanov [16] с учетом отношения Хлорофилл : $P_{680} = 370$ [18].^d Из работы Baniulis et al. [19].^e Из работы Kozuleva et al. [20], диапазон скоростей для разных интенсивностей света (от наименьшей к наибольшей интенсивности).^f Рассчитано с использованием величин константы окисления Фд кислородом ($0,08-0,28 \text{ c}^{-1}$) [21, 22] и отношения Фд : ФС1 в хлоропласте, равного 5 [23].^g Рассчитано с использованием стехиометрии b_6f : ФС2 = 0,35 и ФС1 : ФС2 = 0,58 [24].

визуализации окисленных аминокислотных остатков вблизи кофакторов ФС2 [25–27] — экспериментальном подходе, основанном на предположении, что АФК, производимые кофакторами переноса электронов, могут модифицировать в первую очередь проксимальные остатки в непосредственной близости от места генерации АФК [28]. Однако этот подход не позволяет проводить какие-либо количественные оценки скорости образования $O_2^{\bullet-}$, тогда как при работе с препаратами ФС2, выделенными из тилакоидных мембран, возможно измерить скорость светоиндуцируемой генерации $O_2^{\bullet-}$ — в таблице приведены величины этой скорости в ВВУ-частицах.

Ряд компонентов ФС2 рассматривают как восстановителей O_2 . Образование $O_2^{\bullet-}$ было зарегистрировано в комплексе D1/D2/цитохром b_559 , в котором отсутствовали хиноны в сайтах Q_A и Q_B , что позволило предположить, что феофитин, первичный акцептор электронов в ФС2, может восстанавливать O_2 [29]. Феофитин обладает наиболее низкой величиной E_m среди кофакторов ФС2 (-610 мВ), что достаточно для восстановления O_2 в гидрофобной части белка, где расположен этот кофактор и где потенциал пары $O_2/O_2^{\bullet-}$ близок к этой величине или даже несколько более положительный (см. выше). Более того, недавно было показано, что в мутанте арабидопсиса *vte1* с дефицитом биосинтеза токоферола, в котором ФС2 лишена двух характерных для дикого типа

молекул токоферола, расположенных вблизи феофитина и негемового железа, увеличена генерация $O_2^{\bullet-}$, а также обнаруживаются окисленные аминокислотные остатки вблизи феофитина [27]. Авторы предположили, что при высокой освещенности феофитин продуцирует $O_2^{\bullet-}$, который в ФС2 дикого типа окисляет близлежащую молекулу токоферола, а не окружающие аминокислотные остатки. Обычно предполагают, что в условиях умеренного освещения восстановление O_2 феофитином мало вероятно вследствие его короткого времени жизни в восстановленной форме (200–500 пс) при окислении следующим переносчиком электронов в ФС2 — молекулой PQ в сайте Q_A [2].

Восстановление O_2 прочносвязанным $PQ^{\bullet-}$ в сайте Q_A было предположено, в частности, на основании того, что низкие концентрации гербицида диурона, ингибитора переноса электронов с Q_A на следующий компонент ФЭТЦ — молекулу PQ в сайте Q_B , стимулировали образование $O_2^{\bullet-}$ в тилакоидах гороха [30]. В ВВУ-комплексах, дополнительно обработанных для удаления молекул PQ, в которых таким образом Q_B -сайт оставался вакантным, генерация $O_2^{\bullet-}$ была зарегистрирована с помощью специфических спиновых ловушек и восстановления экзогенного цитохрома *c* [15]. Модифицированные аминокислотные остатки, расположенные ближе к сайту Q_A , были также обнаружены в листьях шпината и мутанта арабидопсиса *vte1* [25, 27].

Дискуссионным остается, однако, вопрос о термодинамике реакции между O_2 и $PQ^{\bullet-}$ в сайте Q_A . Было показано, что $E_m(Q_A/Q_A^{\bullet-})$ зависит от наличия бикарбонат-иона вблизи негемового железа: -70 мВ и -145 мВ в отсутствие и в присутствии HCO_3^- соответственно [31]. Величины E_m пары $(Q_A/Q_A^{\bullet-})$ в присутствии HCO_3^- (-145 мВ) и пары $O_2/O_2^{\bullet-}$ (-160 мВ — в воде) близки, что предполагает, что термодинамически окисление $PQ^{\bullet-}$ в сайте Q_A кислородом, хотя и не выгодно, но вероятно. Вопрос в том, можно ли рассматривать $E_m(O_2/O_2^{\bullet-})$ в воде, поскольку Q_A расположен в достаточно гидрофобной части ФС2? Такое предположение не исключено, поскольку Q_A контактирует с водными каналами, по которым, в частности, поступает HCO_3^- к негемовому железу [15, 32], и в этой области много полярных и ионогенных аминокислотных остатков. Таким образом, восстановление O_2 прочносвязанным $PQ^{\bullet-}$ в сайте Q_A выглядит более благоприятным, когда HCO_3^- присутствует на акцепторной стороне ФС2. Однако в условиях, когда стабильный $PQ^{\bullet-}$ в сайте Q_A индуцирует высвобождение HCO_3^- , скорость образования $O_2^{\bullet-}$ увеличивается [15]. На основании этого был сделан вывод, что присутствие HCO_3^- ограничивает доступ O_2 к сайту Q_A . Fantuzzi et al. [15] предполагают, что до $O_2^{\bullet-}$ восстанавливается молекула O_2 , связанная с негемовым железом, что повышает величину $E_m(O_2/O_2^{\bullet-})$.

Восстановление O_2 в сайте Q_B термодинамически маловероятно, т.к. $E_m(PQ/PQ^{\bullet-})$ в Q_B -сайте равен $+90$ мВ [33]. И действительно, даже при обработке ВВУ-частиц сильным светом, вызывающим фотоингибирование, не было зарегистрировано появление окисленных аминокислотных остатков в сайте Q_B [26]. Вероятно, в этом сайте генерации $O_2^{\bullet-}$ не происходит.

В литературе на основании сопряжения восстановления молекул O_2 с окислением цитохрома *b559*, входящего в комплекс ФС2 и участвующего в циклическом транспорте электронов вокруг ФС2, предполагается восстановление O_2 этим цитохромом [34, 35], находящимся в низкопотенциальной форме ($E_m = -40 \div +80$ мВ) [36] или в очень низкопотенциальной форме ($E_m = -150 \div -200$ мВ) [37]. Однако восстановление O_2 даже низкопотенциальными формами цитохрома *b559* термодинамически невыгодно вследствие его расположения в гидрофобной зоне белка, где величина E_m пары $O_2/O_2^{\bullet-}$ существенно ниже этих величин. Было предположено, что восстановителем O_2 выступает либо $PQ^{\bullet-}$, который образуется при окислении PQH_2 цитохромом *b559* в

пластохинон-связывающем сайте Q_C ФС2 [38], либо свободный $PQ^{\bullet-}$, возникающий в реакции конпропорционирования (см. ниже) PQ с PQH_2 , образующимся при окислении цитохрома *b559* связанным в сайте Q_C пластосемхиномом [2].

Таким образом, генерация $O_2^{\bullet-}$ в ФС2 возможна при окислении феофитина и $PQ^{\bullet-}$ в сайте Q_A (и, возможно, в сайте Q_C). Однако имеющиеся в литературе количественные оценки этого процесса, полученные для ВВУ-частиц ($0,1 e^- (ФС2 \times c)^{-1}$ [15], $0,25 e^- (ФС2 \times c)^{-1}$ [39], $0,75 e^- (ФС2 \times c)^{-1}$ [16]), указывают на его низкую эффективность. Некоторые оценки могут быть даже завышены, поскольку получены для ВВУ-комплексов, в которых сохраняется от 2 до 3 свободных молекул PQ на один реакционный центр ФС2, и эти молекулы, будучи восстановленными, могут восстанавливать $O_2^{\bullet-}$ (см. далее). С другой стороны, в некоторых работах [15, 39] экспериментальные условия препятствовали надежной количественной оценке генерации $O_2^{\bullet-}$ вследствие использования среды с низкими величинами pH, при которых скорость спонтанной дисмутации $O_2^{\bullet-}$ высока, и практически невозможно обеспечить присутствие ловушек для $O_2^{\bullet-}$ в концентрации, обеспечивающей регистрацию всех $O_2^{\bullet-}$, генерируемых в исследуемой системе [40]. В большинстве экспериментов с ФС2-частицами O_2 был единственным акцептором электронов от кофакторов ФС2, но даже при этом скорость образования $O_2^{\bullet-}$ оказывалась весьма низкой. На основании этого не представляется вероятным, что реальный вклад ФС2 в генерацию $O_2^{\bullet-}$ в хлоропластах может быть высоким.

Восстановление O_2 в пуле пластохинона тилакоидной мембраны. O_2 -зависимое окисление пула PQ , наблюдаемое в темноте после освещения тилакоидов [41], предполагало возможность переноса электронов от компонентов этого пула к молекулам O_2 . Светоиндуцированная генерация $O_2^{\bullet-}$ была продемонстрирована в изолированных тилакоидах гороха в присутствии динитрофенил-2-йод-4-нитротимола (DNP-INT), высокоэффективного конкурентного ингибитора окисления PQH_2 в хинол-окисляющем сайте (Q_O -сайте) *b6f*-комплекса [16, 30], т.е. в условиях, предполагающих, что только ФС2 и компоненты пула PQ могут восстанавливать O_2 . В работе Khorobrykh и Ivanov [16] было показано, что ВВУ-частицы генерировали $O_2^{\bullet-}$ с гораздо меньшей скоростью, чем тилакоиды в присутствии DNP-INT (см. таблицу). Это указывало на то, что на свету генераторами $O_2^{\bullet-}$ в тилакоидах были молекулы пула PQ . На основании сходства зависимостей

увеличения генерации $O_2^{\bullet-}$ в пуле PQ при увеличении pH от 5,0 до 6,5 [16] и уменьшения в этом диапазоне разности редокс-потенциалов пары $PQ/PQ^{\bullet-}$ и пары $O_2/O_2^{\bullet-}$ (в воде) вплоть до отрицательных значений было предположено [3, 16], что $O_2^{\bullet-}$ образуется в реакции O_2 с молекулами свободного $PQ^{\bullet-}$ на границах мембраны с водной фазой.

Источником свободного $PQ^{\bullet-}$ в тилакоидах на свету может быть, во-первых, реакция конпропорционирования $PQH_2 + PQ \rightarrow 2PQ^{\bullet-} + 2H^+$. В работе Mubarakshina и Ivanov [3] была рассчитана стационарная концентрация $PQ^{\bullet-}$, образующегося в этой реакции в пуле PQ, и она хорошо совпадала с расчетной концентрацией $PQ^{\bullet-}$, необходимой для обеспечения скоростей образования $O_2^{\bullet-}$, наблюдавшихся в работе Khorobrykh и Ivanov [16]. Следует заметить, что в случае появления $PQ^{\bullet-}$ в реакции конпропорционирования максимальные скорости генерации $O_2^{\bullet-}$ в пуле PQ должны наблюдаться в условиях, когда пул наполовину восстановлен, а при высокой освещенности, когда пул PQ практически полностью восстановлен, содержание $PQ^{\bullet-}$ в результате этой реакции существенно уменьшается. Во-вторых, свободный $PQ^{\bullet-}$ может образовываться также в результате окисления PQH_2 пероксидом водорода и супероксидным радикалом, образующимися как в самом пуле PQ [16], так и на других участках ФЭТЦ, в первую очередь в ФС1 при сильном освещении [42]. В-третьих, потенциальным источником свободного $PQ^{\bullet-}$ в пуле может быть неполное окисление PQH_2 в хинол-окисляющем (Q_o) сайте b_6f -комплекса с последующим высвобождением $PQ^{\bullet-}$ из этого комплекса. Возможность выхода семихинона из сайта окисления хинола в bc_1 -комплексе и восстановления им молекул O_2 была предположена в работе Forquer et al. [43].

Учитывая описанное выше, можно полагать, что количественные оценки вклада пула PQ, получаемые с применением ингибиторов ферментативного окисления PQH_2 , не отражают восстановление O_2 в пуле PQ в хлоропластах. Во-первых, практически полное восстановление пула PQ в присутствии DNP-INT наблюдается при существенно более низких интенсивностях света, чем при функционировании полной ФЭТЦ [44]. Во-вторых, применение DNP-INT или другого ингибитора окисления PQH_2 в b_6f -комплексе блокирует поток электронов по цепи и минимизирует образование $O_2^{\bullet-}$ в ФС1, а также в b_6f -комплексе. В-третьих, ингибиторы в насыщающей концентрации предотвращают окисление PQH_2 в Q_o -сайте и исключают третий описанный

выше возможный источник свободного $PQ^{\bullet-}$. Поэтому представляется вероятным, что максимальные скорости образования $O_2^{\bullet-}$, наблюдаемые в обработанных DNP-INT тилакоидах (таблица), могут быть занижены из-за использования ингибиторов ферментативного окисления PQH_2 . Не исключено, что скорости генерации $O_2^{\bullet-}$ в пуле PQ интактных хлоропластов выше, чем измеренные в работе Khorobrykh и Ivanov [16].

Восстановление O_2 в цитохромном b_6f -комплексе. Образование $O_2^{\bullet-}$ было показано в изолированных b_6f -комплексах (PQH_2 -пластоцианин оксидоредуктаза), к которым были добавлены восстановленный децилпластохинон и пластоцианин в качестве донора и акцептора электронов соответственно [19], причем параллельно регистрировали восстановление пластоцианина. Авторы предположили, что наиболее вероятным источником $O_2^{\bullet-}$ в этой системе может быть $PQ^{\bullet-}$, который образуется в Q_o -сайте после одноэлектронного окисления PQH_2 [19]. В данной работе было найдено, что в изолированном b_6f -комплексе скорость образования супероксидного анион-радикала в процентах от скорости электронного транспорта была почти на порядок выше, чем в изолированном митохондриальном bc_1 -комплексе. В работе Tikhonov [45] было оценено, что в Q_o -сайте b_6f -комплекса E_m ($PQ/PQ^{\bullet-}$) достаточно низкий (-280 мВ) и его реакция с O_2 термодинамически возможна.

Первый кофактор высокопотенциальной ветви кофакторов b_6f -комплекса, Fe_2-S_2 -кластер Рiske, принимающий первый электрон при окислении PQH_2 в Q_o -сайте, обладает высоким E_m ($+330$ мВ), вследствие чего его окисление O_2 термодинамически неблагоприятно. Было предположено [19] участие в генерации $O_2^{\bullet-}$ низкопотенциального гема цитохрома b_6 (b_6^L), первого кофактора низкопотенциальной ветви кофакторов b_6f -комплекса, который принимает второй электрон при окислении PQH_2 в Q_o -сайте и обладает довольно отрицательным E_m (-150 мВ) [46]. Окисленные остатки аминокислот были обнаружены в Q_o -сайте [28], что могло указывать на возможность образования там $O_2^{\bullet-}$. Однако точная интерпретация реакций, приводящих к окислительным модификациям, затруднена, поскольку b_6f -комплекс содержит молекулу хлорофилла a , способную продуцировать 1O_2 [47], и Fe_2-S_2 -кластер белка Рiske, который, подобно другим $Fe-S$ -кластерам [48], потенциально может катализировать образование $HO^{\bullet}$ из молекул H_2O_2 . 1O_2 и $HO^{\bullet}$ обладают большей реакционной способностью, чем $O_2^{\bullet-}$, и могут

модифицировать аминокислотные остатки с большей эффективностью, чем $O_2^{\bullet-}$.

Роль ферредоксина в восстановлении O_2 . Стромальный белок Фд содержит один кластер Fe_2-S_2 и обладает низким E_m (–420 мВ), что позволяло бы ему в восстановленной форме быть эффективным восстановителем O_2 до $O_2^{\bullet-}$ в водной фазе. Однако образование $O_2^{\bullet-}$ с участием Фд происходит с малыми скоростями: константа скорости первого порядка окисления восстановленного Фд молекулярным O_2 низка – 0,08–0,28 s^{-1} [21, 22, 49]. Это, очевидно, является следствием структуры железосерного активного центра белка; хиноны с близкими величинами E_m пары $Q/Q^{\bullet-}$ имеют константы скорости восстановления O_2 примерно на 6 порядков выше [10]. Учитывая величины констант скоростей реакции и соотношение Фд : ФС1 в хлоропластах высших растений [23], скорость Фд-зависимого фотовосстановления O_2 в хлоропласте не превышает 10% от максимальной скорости фотовосстановления O_2 в ФС1 (таблица).

Однако долгое время Фд рассматривали в качестве основного участника фотовосстановления O_2 в хлоропластах [50] на основании многократно наблюдавшихся значительной стимуляции поглощения O_2 и образования $O_2^{\bullet-}$ при его добавке к изолированным тилакоидам шпината/гороха/арабидопсиса, лишенным в процессе выделения стромальных компонентов [14, 51, 52]. При этом в таких экспериментах отношение Фд к ФС1 было на 3 порядка выше, чем *in vivo*, что при медленном окислении восстановленного Фд приводило к его накоплению в значительных количествах, обеспечивающих наблюдаемую высокую скорость восстановления O_2 . Добавка $NADP^+$, основного акцептора электронов от восстановленного Фд, существенно снижала вклад последнего в генерацию $O_2^{\bullet-}$ тилакоидами [14, 53]. Очевидно, эффективность регенерации $NADP^+$ в цикле Кальвина–Бенсона–Бассема определяет вклад Фд в продукцию $O_2^{\bullet-}$ *in vivo* вследствие изменения количества молекул восстановленного Фд, доступных окислению кислородом.

В литературе были попытки оценить участие Фд в восстановлении O_2 в хлоропластах (т.е. при нативном отношении Фд : ФС1) путем сравнения констант Михаэлиса $K_m(O_2)$, измеренных для реакции Мелера в изолированных тилакоидах и в интактных хлоропластах/клетках/листьях. Этот подход подробно описан в работе Asada [54] и основывается на предположении, что более высокая величина $K_m(O_2)$ в более сложных структурах отражает работу нескольких сайтов фотовосстановления O_2 .

Значения $K_m(O_2)$ для хлоропластов и целых клеток (50–95 мкМ) были на порядок выше, чем $K_m(O_2)$ для тилакоидов (3–10 мкМ). Очевидным выводом из такого сравнения было то, что Фд – тот самый добавочный сайт восстановления O_2 в более сложных структурах. Однако ситуация более сложна, чем кажется на первый взгляд.

Во-первых, есть вопросы относительно используемых при сравнении величин $K_m(O_2)$ для разных структур. Прежде всего, рассматривать ФС1 как единственный сайт фотовосстановления O_2 в проводившихся экспериментах с изолированными тилакоидами, вероятно, не совсем корректно. Значение $K_m(O_2)$ для фотовосстановления O_2 в ФС1 (3 мкМ), полученное в работе Asada и Nakano [55], было очевидно занижено вследствие использования 2,6-дихлорфенолиндифенола (DCPIP) в качестве искусственного донора электронов к ФС1 [56] (подробнее см. ниже). С другой стороны, сомнительна и надежность разграничения реакции Мелера и других реакций, потребляющих O_2 в более сложных структурах: митохондриальное дыхание, оксигеназная реакция Рубиско (фотодыхание), окисление пула PQ пластидной терминальной оксидазой (хлородыхание), поглощение кислорода вследствие образования 1O_2 и перекисного окисления липидов, восстановление O_2 до воды с участием белков, содержащих в контакте с флавиновой группой два атома железа (flavodiiron proteins, Flvs или FDPs), которые отсутствуют у покрытосеменных, но присутствуют в цианобактериях, зеленых водорослях и остальных высших растениях. Таким образом, в зависимости от исследованного организма и условий, в которых проводились измерения, полученные $K_m(O_2)$ могут отражать далеко не только реакцию Мелера.

Во-вторых, помимо расположенного в стромах хлоропластов Фд, другие стромальные компоненты могут участвовать в непосредственном фотовосстановлении O_2 *in vivo*. В литературе возникали предположения о роли нитритредуктазы, восстанавливаемой Фд глутаматсинтазы [57] и монодегидроаскорбатредуктазы [58]. Вклад этих белков в восстановление O_2 на свету может повлиять на измеряемую величину $K_m(O_2)$ для интактных систем, но этот вклад в данный процесс пока не определен, поскольку указанные исследования не получили дальнейшего развития. Скорее всего, эти ферменты могут участвовать в восстановлении O_2 только в условиях дефицита их специфических субстратов [57].

Таким образом, сравнение $K_m(O_2)$ для разных структур с целью выявления вклада Фд

в восстановление O_2 в хлоропластах представляет собой подход, с помощью которого сложно сделать надежные выводы. К тому же количественная оценка путей фотовосстановления O_2 в суспензии тилакоидов гороха в присутствии Фд показала, что увеличение концентрации Фд стимулировало не только восстановление O_2 с участием восстановленного Фд, но и восстановление O_2 мембранными компонентами [49, 53]. Для объяснения последнего эффекта было предположено, что увеличение оттока электронов из ФС1 к Фд при увеличении его концентрации может изменять соотношение путей прямого переноса электронов и рекомбинации зарядов в ФС1 таким образом, что концентрация восстановленных форм промежуточных акцепторов этой фотосистемы — филлохинона в сайте A_1 и железосерного центра F_X — возрастает, и поток электронов от них к O_2 увеличивается [53]. Альтернативным предположением может быть то, что Фд запускает или стимулирует некий путь фотовосстановления O_2 в тилакоидах, который не активен или мало активен в отсутствие Фд. Например, таким путем может быть восстановление O_2 с участием мембраносвязанной ферредоксин:NADP⁺ оксидоредуктазы (ФНР), которая получает электроны от ФС1 только в присутствии Фд. Известно, что экзогенная добавка ФНР к тилакоидам стимулирует восстановление O_2 [14, 58]; однако недавние экспериментальные результаты свидетельствуют против того, что ФНР может заметным образом участвовать в восстановлении O_2 в тилакоидах [14]. В этой работе образование мембранного $O_2^{\bullet-}$ измеряли в тилакоидах арабидопсиса, выделенных из растений дикого типа и мутанта, дефицитного по изоформе ФНР1 [59], для которого характерно отсутствие ФНР в изолированных тилакоидах [60]. Оказалось, что скорости образования $O_2^{\bullet-}$ в мембране в присутствии и в отсутствие Фд были одинаковыми у обоих генотипов, что исключает непосредственное участие ФНР в образовании $O_2^{\bullet-}$ в тилакоидах дикого типа.

Другим сайтом восстановления O_2 , который получает дополнительные электроны в присутствии Фд, может быть цитохромный b_6f -комплекс. Ряд авторов рассматривают этот комплекс как Фд-PQ оксидоредуктазу, которая функционирует в циклическом транспорте электронов вокруг ФС1 [61, 62]. В рамках этой модели Фд донирует один электрон для восстановления PQ в хинон-восстанавливающим (Q_R) сайте, тогда как второй электрон поступает из Q_0 -сайта. Если такой путь функционирует, то не исключено, что наличие при-

тока электронов от Фд к b_6f -комплексу может влиять на время жизни $PQ^{\bullet-}$ в Q_0 -сайте и на вероятность его реакции с O_2 (см. выше).

Восстановление O_2 в фотосистеме 1. Эта фотосистема давно была признана основным участком ФЭТЦ в процессе генерации $O_2^{\bullet-}$ в реакции Мелера (см. [63] и ссылки в ней), и действительно, из всех компонентов ФЭТЦ она характеризуется наиболее высокими скоростями фотовосстановления O_2 (таблица). В литературе, однако, приводятся противоречивые оценки ее активности. Наиболее ярко это проявляется при сравнении констант скорости реакции восстановления кислорода в ФС1 (k_2), опубликованных в разных работах. Диапазон имеющихся в литературе величин k_2 аномально широкий: от $7 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$ до $10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$.

Хронологически первая оценка k_2 ($10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$) была получена для тилакоидов шпината, в которых ФС1 функционировала изолированно (т.е. диурон был добавлен для ингибирования активности ФС2, а для восстановления P_{700}^+ добавляли искусственные доноры электронов) [55]. Однако эта оценка близка к константе скорости восстановления метилвиологена терминальными кофакторами ФС1 ($1,5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$; [64]), что предполагает сходную эффективность O_2 и метилвиологена как непосредственных акцепторов электронов от ФС1, что мало вероятно, поскольку метилвиологен очень существенно увеличивает скорость переноса электронов «через» ФС1 [42, 56]. Величина $10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$, вероятно, завышена, и причина переоценки может быть связана с использованием в работе Asada и Nakano [55] восстановленного DCPIP в качестве донора электронов для P_{700}^+ . С использованием изолированных комплексов ФС1 из *Synechocystis* и тилакоидов гороха показано, что DCPIP функционирует как редокс-медиатор между ФС1 и O_2 аналогично метилвиологену, т.е. восстановленная форма DCPIP на акцепторной стороне ФС1 эффективно окисляется кислородом [56, 65]. Поэтому оценки k_2 и других характеристик реакции ФС1 с O_2 (например, $K_m(O_2)$) с использованием DCPIP содержат ошибку, поскольку отражают сумму реакций фотовосстановления O_2 кофакторами ФС1 и восстановленным DCPIP.

Самые низкие значения для k_2 ($7,2 \times 10^2$ и $6,1 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$) представлены в работе Khorobrykh и Tyustjärvi [66] и были рассчитаны на основе экспериментальных данных, полученных в экспериментах с тилакоидами гороха [42]. Однако скорости восстановления O_2 в работе Khorobrykh et al. [42] были измерены при атмосферном содержании O_2 , что является

насыщающей концентрацией для реакции восстановления O_2 в ФС1, тогда как для корректной оценки константы скорости реакции необходимо использование субстрата в лимитирующих скоростях концентрациях, т.е. в данном случае, когда скорость восстановления O_2 зависит от его концентрации. Именно так были проведены измерения в работах Asada и Nakano [55], Takahashi и Asada [67] и Kozuleva et al. [20].

Самые недавние величины k_2 ($0,6 \times 10^5$ – $3,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$; диапазон по интенсивности света; см. ниже) были получены с использованием природного донора электронов для ФС1, пластоцианина [20]. Более того, эти величины получены и в присутствии Фд, ФНР и NADP^+ , когда терминальные акцепторы ФС1 восстанавливали O_2 одновременно с фотовосстановлением Фд с последующим переносом электронов к NADP^+ , т.е. в условиях, близких к физиологическим. В отсутствие Фд величины k_2 не изменялись существенно. Таким образом, величины k_2 и скорость восстановления O_2 , измеренная при атмосферном содержании O_2 , представленные в работе Kozuleva et al. [20], являются наиболее близкими характеристиками восстановления O_2 в ФС1 *in vivo*.

Какие кофакторы ФС1 могут восстанавливать O_2 ? Долгое время считали, что электроны переносятся на O_2 от терминальных кофакторов ФС1, $\text{Fe}_4\text{-S}_4$ -кластеров F_A/F_B , расположенных в субъединице PsaC на стромальной стороне комплекса ФС1 [9, 64]. Позже стало ясно, что промежуточные кофакторы переноса электронов ФС1 также вносят свой вклад в продукцию $O_2^{\cdot-}$. Было, в частности, показано при изучении индуцированного светом H_2O_2 -зависимого йодирования белков тилакоидной мембраны, что в течение первых секунд освещения восстановление O_2 осуществляется кофакторами белков PsaA и PsaB, в то время как более длительное освещение приводит к появлению H_2O_2 в других частях тилакоидов, включая белковую область вблизи F_A/F_B [11]. Авторы предположили, что O_2 восстанавливается предшествующим кластерам F_A/F_B в цепи переноса электронов кластером F_X , расположенным между субъединицами PsaA и PsaB.

Было выдвинуто предположение об участии в восстановлении O_2 молекул филлохинона (PhQ) [68] – вторичного кофактора переноса электронов, который расположен в A_1 -сайтах двух псевдосимметричных ветвей кофакторов в ФС1, A и B, и предшествует кластеру F_X . В этой работе тилакоидные мембраны обрабатывали гексаном, что приводи-

ло к экстракции всех молекул пула PQ и одной молекулы PhQ из ФС1, расположенной в A-ветви (PhQ_A). В таких мембранах отсутствовало поглощение O_2 в ответ на вспышки света. Добавка PhQ в виде витамина K приводила к появлению поглощения O_2 , однако только в ответ на первую вспышку света. Авторы предположили, что обработка гексаном модифицировала A_1 -сайт таким образом, что его сродство к PhQ уменьшилось [68].

Восстановление O_2 с участием PhQ в нативных комплексах ФС1 при стационарном освещении впервые изучили на примере комплексов, выделенных из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 [69], предполагая, что состав кофакторов переноса электронов ФС1 и аминокислотное окружение в A_1 -сайте относительно консервативно у цианобактерий, водорослей и высших растений. В работе использовали дикий штамм и штамм с заблокированным биосинтезом PhQ (мутация *menB*). Ранее было показано, что в A_1 -сайты мутанта встраивались молекулы PQ, вследствие чего величина $E_m(Q/Q^{\cdot-})$ увеличивалась на ~100 мВ относительно величины в диком штамме, что приводило к 1000-кратному увеличению времени жизни семихинона в обеих ветвях [70]. Комплексы ФС1 из мутанта показывали заметно более низкие скорости фотовосстановления O_2 по сравнению с комплексами из дикого штамма [69], что было объяснено большей способностью $\text{PhQ}^{\cdot-}$ в A_1 -сайтах дикого типа восстанавливать O_2 по сравнению с $\text{PQ}^{\cdot-}$ в сайтах мутанта и, соответственно, свидетельствовало об их ведущей роли в восстановлении O_2 в ФС1.

Выявление вклада отдельных кофакторов переноса электронов ФС1 стало возможным благодаря исследованию влияния интенсивности света на величину k_2 для комплекса ФС1, выделенного из одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* [20]. Было показано увеличение кажущейся величины k_2 с увеличением интенсивности света, что было интерпретировано как свидетельство функционирования нескольких участков фотовосстановления O_2 в ФС1, каждый из которых характеризуется своей константой скорости этого процесса и достигает максимальной эффективности при характерной для него интенсивности света. Экспериментальный анализ с использованием метилвиологена, высокоэффективного акцептора электронов от терминальных кофакторов ФС1, показал, что участие терминальных кофакторов F_A/F_B в восстановлении O_2 насыщается при низкой интенсивности света, т.е. при этой интенсивности

заполняются электронами кластеры F_A/F_B . Увеличение кажущейся k_2 при увеличении интенсивности света связано с увеличением вклада в восстановление O_2 предшествующих кофакторов переноса электронов в ФС1 при их заполнении электронами. Вопрос о роли F_X и PhQ был решен с помощью последовательного удаления Fe_4-S_4 -кластеров путем специальных обработок: удаление F_A/F_B приводило к небольшому снижению скорости восстановления O_2 в широком диапазоне интенсивностей света, тогда как дополнительное удаление F_X , в результате чего PhQ в A_1 -сайтах оказывался терминальным кофактором, приводило к существенной стимуляции восстановления O_2 . Последнее соответствовало предположению о ключевой роли PhQ в восстановлении O_2 . Комплексы ФС1, выделенные из мутанта PsaA-F689N *C. reinhardtii*, в которых Phe в позиции 689 белка PsaA заменен на Asn, вследствие чего увеличивалось время жизни $PhQ^{\bullet-}$ с 0,25 мкс до 17 мкс [71], характеризовались гораздо более высокими скоростями фотовосстановления O_2 в широком диапазоне интенсивностей света [20]. Эти данные также указывают на увеличение вклада $PhQ^{\bullet-}$ в генерацию $O_2^{\bullet-}$ в ФС1 при увеличении освещенности.

Таким образом, в изолированных комплексах ФС1 активны два участка восстановления O_2 : терминальные кластеры F_A/F_B и PhQ в форме семихинонов в A_1 -сайтах. Вклад каждого участка зависит от условий. При низкой интенсивности света присутствие Фд, ФНР и $NADP^+$ снижало скорость фотовосстановления O_2 , поскольку отток электронов от ФС1 уменьшал накопление электронов на кластерах F_A/F_B [20]. В то же время присутствие Фд, ФНР и $NADP^+$ не подавляло фотовосстановление O_2 , наблюдаемое при высокой интенсивности света, что указывало на то, что именно PhQ ответственны за восстановление O_2 в условиях параллельного транспорта электронов к $NADP^+$ в этих условиях.

Удивительно, но подход, основанный на обнаружении окисленных модифицированных аминокислотных остатков, который был успешно применен для определения $O_2^{\bullet-}$ -генерирующей активности кофакторов ФС2 и b_6f -комплекса (см. выше), оказался малоприменимым для визуализации образования $O_2^{\bullet-}$ в ФС1. Окисленные остатки не были обнаружены в непосредственной близости от кластеров F_A/F_B в комплексах ФС1 шпината, выращенного в полевых условиях [72]. Также не обнаружено модифицированных остатков в непосредственной близости от F_X и PhQ_A [72]. Напротив, были обнаружены два модифицированных

остатка в непосредственной близости от PhQ в В-ветви (PhQ_B). Однако интерпретация этих результатов затруднена из-за расположения хлороинового кольца молекулы хлорофилла a между PhQ_B и этими остатками [72]. Можно предположить, что $O_2^{\bullet-}$, продуцируемый кластерами F_A/F_B , легко диффундирует из белка PsaC в строму (кластер F_B находится на расстоянии 3–4 Å от поверхности PsaC) и не модифицирует аминокислотные остатки. Возможно, что $O_2^{\bullet-}$ из A_1 -сайтов также эффективно диффундирует на стромальную сторону мембраны, не вступая в реакции с близлежащими аминокислотными остатками, — наличие водных полостей, ведущих из A_1 -сайтов, было показано для ФС1 из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 [73].

Необходимо отметить, что скорость генерации $O_2^{\bullet-}$ в изолированных комплексах ФС1 (таблица) может не вполне отражать реальную $O_2^{\bullet-}$ -генерирующую активность ФС1 в тилакоидах и хлоропластах. Восстановление O_2 в изолированных комплексах ФС1 из *Synechocystis* [69] и *C. reinhardtii* [20] не достигало насыщения с увеличением освещенности в широком диапазоне интенсивностей света (до 2000 мкмоль фотонов/($m^2 \cdot s$), тогда как восстановление O_2 изолированно функционирующей ФС1 в тилакоидах высших растений (в присутствии диурона и искусственных доноров электронов) имело тенденцию к насыщению при 500–600 мкмоль фотонов/($m^2 \cdot s$) [42, 65]. С одной стороны, это противоречие может быть связано с внесением таких редокс-медиаторов, как N,N,N',N'-тетраметил-п-фенилен диамин (ТМФД) и аскорбат натрия для поддержания активности ФС1 в тилакоидах. Окисленные формы этих соединений могут акцептировать электроны от терминальных кофакторов ФС1 [74–76], что должно уменьшать накопление электронов на кофакторах ФС1. С другой стороны, в изолированных комплексах ФС1 могут отсутствовать какие-то регуляторные компоненты, определяющие $O_2^{\bullet-}$ -генерирующую активность ФС1 в тилакоидах. В частности, существование белка, регулирующего восстановление O_2 в ФС1, было предположено на основе сравнения влияния условий короткого и длинного дня на реакцию Мелера в растениях табака [77]. Оказалось, что условия короткого дня способствуют более высокой скорости ФС1-зависимого фотовосстановления O_2 в тилакоидах и листьях. Авторы предположили, что некий белок связывается с ФС1 в условиях короткого дня и облегчает диффузию O_2 к месту его фотовосстановления, стимулируя генерацию $O_2^{\bullet-}$. Также было

показано, что субъединица PsaE, которая вместе с субъединицами PsaC и PsaD образует докинг-сайт для Фд, может определять утечку электронов к O_2 [78].

В работе Michelet и Krieger-Liszka [77] было предположено, что гипотетическим белком, регулирующим фотовосстановление O_2 в ФС1, может быть также ФНР. Было показано, что ФНР и ФС1, выделенные из *C. reinhardtii*, взаимодействуют друг с другом в стехиометрии 1/1, в частности с вовлечением субъединицы PsaE [79], и авторы предположили, что ФНР может функционировать как субъединица ФС1. Связывание ФНР с ФС1 через субъединицу PsaE было также показано для ячменя [80]. У высших растений основными белками, связывающими ФНР, являются TROL и Tic62 [81, 82]. Однако в случае нарушения взаимодействия с Tic62 и TROL ФНР может взаимодействовать с альтернативными более слабыми сайтами связывания на тилакоидной мембране, в том числе и с ФС1 [60]. Возможно, что присоединение ФНР к ФС1 может влиять на диффузию O_2 к кофакторам ФС1 и/или инициировать перераспределение путей восстановления O_2 внутри ФС1.

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ

Эффективный перенос электронов от компонентов ФЭТЦ к O_2 приводит к избыточному образованию таких АФК, как $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $-HO^{\bullet}$, а также уменьшает квантовый выход световых реакций фотосинтеза. ФЭТЦ оксигенных фототрофов в современном виде сформировалась в условиях постоянной продукции O_2 на свету. Логично предполагать, что минимизация реакций компонентов ФЭТЦ с O_2 была одним из направлений эволюции фотосинтетического аппарата. Эволюция различных фотосинтетических комплексов в контексте возникновения кислородной атмосферы была предметом нескольких недавних обзоров [6, 83–86], в которых много внимания уделяется уменьшению вероятности образования синглетного кислорода (1O_2), что, несомненно, было одним из направлений в эволюции фотосинтетического аппарата. В этом обзоре мы рассмотрим изменения, которые могли происходить в фотосинтетическом аппарате для минимизации непродуктивной утечки электронов к O_2 и излишнего образования $O_2^{\bullet-}$.

На наш взгляд, эволюционные изменения должны были затронуть в первую очередь пулы мобильных переносчиков, поскольку их восстановленное состояние необходимо для про-

дуктивного транспорта электронов. Величины E_m пластоцианина и цитохрома c_6 , доноров электронов к ФС1, достаточно высоки, чтобы не рассматривать их реакцию с O_2 , однако Фд и компоненты пула PQ даже в современных ФЭТЦ обладают достаточно низкими потенциалами для генерации $O_2^{\bullet-}$, что наблюдается экспериментально (см. выше).

Конечный продукт световых стадий фотосинтеза, восстановленный Фд, служит донором электронов не только для восстановления $NADP^+$, но и для других метаболических путей в хлоропласте [87]. Для реализации этих путей восстановленный Фд должен диффундировать в строме хлоропласта. Очевидно, это требует низкой эффективности реакции Фд с O_2 . У современных фототрофов с оксигенным типом фотосинтеза простетической группой Фд служит кластер Fe_2-S_2 , который достаточно глубоко погружен в белок. В современных фототрофах с аноксигенным фотосинтезом, имеющих реакционные центры I-го типа, роль акцептора электронов выполняет Фд с двумя кластерами Fe_4-S_4 , один из которых расположен практически на поверхности белка [83], вследствие чего он доступен для молекул O_2 . Предполагается [83, 84], что погружение кластера вглубь белка ограничивает доступ к нему молекул O_2 и уменьшает вероятность переноса электрона на O_2 . Таким образом, замена дикластерного Fe_4-S_4 Фд на монокластерный Fe_2-S_2 Фд с относительно глубоко погруженным в белок кластером при эволюции фототрофов могла быть вызвана адаптацией к функционированию в присутствии O_2 .

В современной ФЭТЦ дикластерный Фд сохранился в виде субъединицы PsaC, которая несет 2 Fe_4-S_4 -кластера, являющихся кофакторами ФС1 — промежуточный F_A и терминальный F_B , который восстанавливает мобильный монокластерный Фд. Быстрый отток электронов от F_B к O_2 нежелателен, поскольку может снижать эффективность восстановления Фд, которая зависит от диффузионного обмена восстановленного Фд на окисленный на акцепторной стороне ФС1. Более высокий E_m (F_A/F_A^-) по сравнению с таковым для F_B обеспечивает более долгое время пребывания электрона на F_A , чем на F_B [88, 89]. Таким образом, инверсия редокс-потенциалов F_A и F_B может быть эволюционной адаптацией для минимизации восстановления O_2 кофактором F_B в отсутствие Фд [83, 84]. Кофактор F_A погружен в белок и находится в области с достаточной низкой диэлектрической проницаемостью [90]. Повышение его E_m также уменьшило термодинамическую вероятность его реакции с O_2 .

В энергопреобразующих мембранах самых первых организмов в качестве липорастворимого мобильного переносчика протонов и электронов, по всей видимости, функционировал менахинон, который и по сей день присутствует у ряда анаэробных фототрофов [91]. Потенциалы редокс-пар ($Q/Q^{\bullet-}$) и (Q/QH_2) менахинона примерно на 100 и 180 мВ ниже, чем соответствующих пар PQ, т.е. восстановленные формы менахинона значительно легче окисляются O_2 , нежели формы PQ. Поэтому в присутствии O_2 менахиноны ниже по эффективности в качестве переносчиков электронов от реакционных центров II-го типа к цитохромным комплексам *bc*-типа, чем такие высокопотенциальные хиноны, как PQ или убихинон. Таким образом, эволюционная замена в мембранах организмов с кислородным типом фотосинтеза менахинона на PQ, хинон с более положительной величиной E_m , представляется важным этапом оптимизации фотосинтетического аппарата к условиям кислородной атмосферы.

Однако $PQ^{\bullet-}$ обладает E_m , позволяющим восстанавливать молекулы O_2 с образованием $O_2^{\bullet-}$ в водной среде (см. выше), хотя и с небольшими скоростями. Семихиноны вообще кинетически эффективно реагируют с молекулами O_2 [10]. В ФЭТЦ есть несколько участков, где PQ последовательно восстанавливается до PQH_2 и где PQH_2 окисляется до PQ с образованием промежуточной семихинонной формы. Помимо $PQ^{\bullet-}$, семихинонная форма изоаллоксазиновой части молекулы ФАД промежуточно образуется в ФНР при последовательном окислении двух молекул Фд и при восстановлении молекулы $NADP^+$. Эффективное окисление кислородом семихинонных форм этих кофакторов в момент, когда они должны получить или отдать второй электрон, могло бы нарушать нормальный перенос электрона. Поэтому следующая глобальная тенденция при адаптации фотосинтетического аппарата к функционированию в присутствии O_2 , на наш взгляд, заключалась в предотвращении реакций с O_2 промежуточных семихинонных форм компонентов ФЭТЦ в процессе их двукратного восстановления или окисления.

Семихинонная форма ФАД реагирует с O_2 с высокой эффективностью [92]. Возможный механизм для предотвращения окисления семихинонной формы ФАД кислородом рассмотрен в обзоре Pierella Karlusich и Carrillo [85]. Отмечено, что ФНР фототрофов с кислородным типом фотосинтеза обладает на 2 порядка большей каталитической активностью, чем ФНР анаэробных организмов [93], хотя сред-

ство ФНР к Фд может быть близким [94]. Высокая каталитическая активность достигается за счет конформационных изменений, вызванных связыванием $NADP^+$, которые значительно облегчают как окисление Фд [95], так и диссоциацию окисленных молекул Фд из комплекса с ФНР [96]. Такое повышение каталитической активности ФНР, по-видимому, понижает вероятность как окисления семихинонной формы ФАД кислородом, так и образования комплекса Фд/ФНР⁻ в отсутствие $NADP^+$.

$PQ^{\bullet-}$ образуется при однократном восстановлении PQ в Q_B -сайте ФС2 и Q_R -сайте b_6f -комплекса. По всей видимости, в сайте Q_B ФС2 проблема уменьшения утечки электронов на молекулы O_2 решается на термодинамическом уровне за счет высокого E_m ($Q_B/Q_B^{\bullet-}$) — +90 мВ [33], вследствие чего реакция $Q_B^{\bullet-}$ с O_2 термодинамически невыгодна даже в водной фазе. В Q_R -сайте b_6f -комплекса не показано образование $PQ^{\bullet-}$, хотя появление семихинона было зарегистрировано в аналогичном сайте *bc_L*-комплексов пурпурных бактерий [97, 98]. Одним из ключевых отличий *bc_L*- и b_6f -комплексов является наличие в цитохроме b_6 последнего еще одного гема — ковалентно связанного гема c_n . Предполагается, что в рамках функционирования Q-цикла, в Q_R -сайте b_6f -комплекса первый из двух электронов, необходимых для восстановления PQ, переносится от высокопотенциального гема цитохрома b_6 (b_6^H) на гем c_n [99], а с гема c_n электрон переносится к молекуле PQ только одновременно с переносом второго электрона от гема b_6^L [7]. Такой механизм минимизирует время жизни $PQ^{\bullet-}$ в Q_R -сайте и, соответственно, уменьшает вероятность его реакции с O_2 .

В Q_O -сайте b_6f -комплекса происходит последовательное окисление PQH_2 до PQ, как считается, по концертному механизму, т.е. следующими друг за другом актами переноса электрона к Fe_2-S_2 -центру Риске и к низкопотенциальному гему b_6^L . Эффективное функционирование Q-цикла обеспечивает эффективный отток электронов от $PQ^{\bullet-}$ в Q_O -сайте по низкопотенциальной ветви кофакторов b_6f -комплекса. Однако если в пуле PQ мало окисленных молекул PQ или в b_6f -комплексе гем b_6^L уже восстановлен, то может происходить обратный перенос электрона с гема b_6^L (E_m (b_6^L/b_6^{L-}) = -150 мВ) на $PQ^{\bullet-}$ (E_m ($PQ^{\bullet-}/PQH_2$) = +480 мВ) [7], что уменьшает вероятность реакции с O_2 и гема b_6^L , и $PQ^{\bullet-}$ в Q_O -сайте. Нарушение концертного окисления может происходить и в условиях фотосинтетического контроля, когда замедляется

выход протонов из Q_0 -сайта в люмен, и $PQH^{\bullet}$ не может депротонироваться аминокислотным остатком Glu78 субъединицы IV, который остается в протонированном состоянии, как это было предположено недавно [100]. Поскольку $E_m(PQ/PQH^{\bullet})$ выше, чем $(PQ/PQ^{\bullet-})$, утечка электронов от протонированного пластосемихинона к O_2 менее вероятна. Мы предполагаем, что замедление отвода протонов из Q_0 -сайта и увеличение времени жизни $PQH^{\bullet}$ путем поддержания Glu78 в протонированном состоянии представляет собой важный механизм предотвращения реакции $PQ^{\bullet-}$ с O_2 в Q_0 -сайте.

Следствием замены свободного менахиона мембранного пула на более высокопотенциальный хинон стало повышение (примерно на 110–150 мВ) E_m всех прочносвязанных кофакторов в белках-партнерах мобильного мембранного пула переносчиков — т.е. в реакционном центре II-го типа и цитохромном bc_1 -комплексе [101, 102]. Это, в свою очередь, привело к уменьшению вероятности окисления этих кофакторов молекулами O_2 . По всей видимости, повышения E_m оказалось достаточно для решения проблемы утечки электронов к O_2 в цитохромном b_6f -комплексе. Среди всех его прочносвязанных кофакторов гем b_6^L обладает самым низким значением E_m (–150 мВ) [103], что недостаточно для восстановления O_2 в гидрофобных зонах мембраны. Нахождение электрона на геме c_n должно поддерживать эффективный отток электронов от гема b_6^L (см. выше), минимизируя его реакцию с O_2 .

Однако для ФС2 повышения E_m могло оказаться недостаточно для минимизации окисления ее кофакторов кислородом. Прочносвязанный PQ в сайте Q_A в обычных условиях функционирования восстанавливается только однократно. Эффективность продуктивного переноса электрона с $PQ^{\bullet-}$ в Q_A -сайте на PQ в Q_B -сайте определяется наличием HSO_3^- вблизи негемового железа, присутствие которого понижает $E_m(Q_A/Q_A^-)$ с –70 мВ до –145 мВ [31]. Однако показано, что HSO_3^- на акцепторной стороне ФС2 блокирует возможный канал, по которому молекулы O_2 диффундируют к сайту Q_A , и тем самым ограничивается доступ молекулам O_2 к сайту [15], что уменьшает образование $O_2^{\bullet-}$.

Феофитин обладает достаточно низким E_m (–600 мВ), чтобы восстановить молекулу O_2 даже в гидрофобных частях белка. Однако уменьшение непродуктивной утечки электронов к O_2 реализовано на кинетическом уровне: малое время жизни восстановленного фео-

фитина вследствие переноса электронов к Q_A (200–500 пс) и рекомбинации восстановленного феофитина с $P680^+$ (4–30 нс), по всей видимости, значительно уменьшает вероятность реакции этого кофактора с O_2 .

В реакционных центрах I-го типа современных анаэробных организмов нет прочносвязанных хинонов [104–106] и, в частности, у гелиобактерий менахиноны функционируют как мобильный липорастворимый акцептор электронов, альтернативный Фд [107]. Наличие двух пулов акцепторов может быть выгодным с точки зрения эффективности фотосинтетических реакций и защиты фотосинтетического аппарата от избыточной освещенности. В ФС1, реакционном центре I-го типа, присущем исключительно фототрофам с окисленным фотосинтезом, менахинон (а точнее у большинства организмов его производное, PhQ) остается прочносвязанным кофактором, который служит как одноэлектронный переносчик, т.е. не восстанавливается до гидрохинона [108]. В отличие от переноса электрона между Q_A и Q_B в ФС2, стехиометрия которых составляет 1/1, в ФС1 хиноны двух сайтов A_1 переносят электрон к одному Fe_4-S_4 -кластеру кофактора F_X . В условиях повышенной освещенности и ограниченного оттока электронов от стромальных акцепторов ФС1 может возникать ситуация, когда железосерные кластеры ФС1 будут преимущественно восстановлены, а два сайта A_1 будут конкурировать за один кофактор F_X . В этом случае может возникать риск рекомбинации зарядов хинонов с P_{700}^+ , в том числе по механизму, приводящему к образованию $^3P_{700}$, вследствие чего будет увеличиваться риск генерации 1O_2 [84]. Окисление $PhQ^{\bullet-}$ молекулами O_2 в этом случае будет потенциально менее опасным процессом, уменьшающим перевосстановление цепи переносчиков и снижающим риски генерации 1O_2 . Аналогичные процессы могли бы быть возможны и для Q_A -сайта в ФС2, однако $E_m(PhQ/PhQ^{\bullet-})$ гораздо более отрицательный, чем $E_m(PQ/PQ^{\bullet-})$, и минимизировать утечку электронов с $PhQ^{\bullet-}$ к O_2 гораздо сложнее, чем с $PQ^{\bullet-}$. При этом сохранение низких величин E_m кофакторов ФС1 необходимо, чтобы восстанавливать такой низкопотенциальный переносчик электронов, как Фд.

Кинетический контроль (т.е. быстрый перенос электрона к следующему в цепи кофактору), вероятно, также не может быть полностью реализован в ФС1, где присутствуют два PhQ, отличающиеся по величине E_m на 170 мВ [90] и по времени жизни семихиноновой формы на 1 порядок [109]. Два PhQ в

стационарных условиях освещения могут конкурировать за один кофактор F_x , что повышает вероятность утечки электрона к O_2 с более долгоживущего $PhQ^{\bullet-}$ в А-ветви. Ограничение доступности O_2 к PhQ в A_1 -сайтах представляется мало реализуемой в эволюционном плане стратегией. В отличие от $ФС2$, в $ФС1$ отсутствуют каналы, по которым поступают субстраты/отводятся продукты реакций, а также бикарбонат-ион. В структуре цианобактериальной $ФС1$ промоделированы водные полости, соединяющие A_1 -сайты с акцепторной стороной [73], по которым предполагается диффузия не только молекул O_2 , но и гораздо большей молекулы – метилвиологена.

Таким образом, мы предполагаем, что протекание реакции O_2 с PhQ в A_1 -сайтах не могло быть минимизировано в достаточной степени, и до сих пор среди всех компонентов ФЭТЦ наиболее высокие скорости генерации $O_2^{\bullet-}$ характерны для $ФС1$ именно за счет присутствия в ней PhQ . В условиях перевосстановления цепи, когда интенсивность света превышает возможности метаболической утилизации световой энергии, O_2 оказывается доступным дополнительным акцептором электронов, способным поддерживать электронный транспорт, уменьшая перевосстановление компонентов ФЭТЦ, провоцирующее фотоингибирование. Поэтому, вероятно, эволюция фотосинтетического аппарата шла в направлении не просто минимизации переноса электронов к O_2 , а в направлении регулирования этого процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выше были рассмотрены возможные механизмы восстановления O_2 до $O_2^{\bullet-}$ различными компонентами ФЭТЦ, а также эволюционные преобразования, которые ФЭТЦ могла претерпеть для уменьшения непродуктивной утечки электронов к O_2 . Таблица суммирует имеющиеся в литературе оценки скоростей генерации $O_2^{\bullet-}$ на разных участках ФЭТЦ. В таблице также представлены скорости, нормированные на содержание $ФС2$, что позволяет сравнить потенциальный вклад разных компонентов в образование $O_2^{\bullet-}$ в хлоропласте.

Такое сравнение требует, однако, учета условий измерения указанных скоростей. Во-первых, скорости, представленные в таблице, получены с использованием разных экспериментальных подходов в разных условиях и для разных организмов. Во-вторых, многие скорости были получены или для изо-

лированных структур (для $ФС2$, $ФС1$, b_6f -комплекса), или в присутствии ингибиторов (для пула PQ), вследствие чего могли быть изменены взаимосвязи между компонентами ФЭТЦ, а какие-то компоненты, присутствующие в целых мембранах, могли отсутствовать. В-третьих, в ряде случаев ($ФС2$, пул PQ) O_2 выступал единственным доступным акцептором электронов. Однозначно судить о том, как это повлияло на вероятность генерации $O_2^{\bullet-}$ в этих случаях, сложно. Например, присутствие $NADP^+$ уменьшает генерацию $O_2^{\bullet-}$ восстановленным Фд [53], тогда как присутствие Фд и $NADP^+$ не влияет существенно на генерацию $O_2^{\bullet-}$ в $ФС1$ [20]. Следует также учитывать, что для нормировки в таблице использовано относительное содержание отдельных пигмент-белковых комплексов для конкретного организма (*Arabidopsis thaliana*) в конкретных условиях [24]. Содержание $ФС2$, b_6f -комплекса, $ФС1$ и относительный размер фотоактивного пула PQ и их соотношение варьируют в растениях в зависимости от условий окружающей среды [110, 111], и относительный вклад этих компонентов в образование $O_2^{\bullet-}$, очевидно, также может варьировать.

Несмотря на эти ограничения, сопоставление скоростей, представленных в таблице, является полезным приближением, помогающим комплексно описать восстановление O_2 в ФЭТЦ. Хорошо видно, что вклад $ФС2$ наименьший, но и Фд, рассматривавшийся ранее как основной восстановитель O_2 (см. выше), генерирует $O_2^{\bullet-}$ примерно с такими же скоростями. Следует отметить, что расчет скоростей для Фд сделан, исходя из предположения, что в хлоропласте восстановленный Фд накапливается, и поэтому скорости близки к максимальным. Пул PQ и цитохромный b_6f -комплекс обеспечивают близкий вклад в общее фотовосстановление O_2 в хлоропластах. Вклад $ФС1$ зависит от интенсивности света, и при высокой интенсивности $ФС1$ образует примерно половину всех $O_2^{\bullet-}$, генерируемых в данной модельной ФЭТЦ.

$ФС1$ принято считать основным участком восстановления O_2 в ФЭТЦ. На это указывает ряд косвенных свидетельств, которые, однако, могут быть интерпретированы и в пользу других участков ФЭТЦ, и ряд экспериментальных результатов, основанных на применении мутантов или ингибиторов, что также допускает их неоднозначную интерпретацию. Наш анализ показывает, что ни один компонент ФЭТЦ не может генерировать $O_2^{\bullet-}$ так же эффективно, как $ФС1$ при высокой интенсивности света. Но из этих данных также очевидно,

что компоненты ФЭТЦ без ФС1 суммарно могут генерировать $O_2^{\bullet -}$ со скоростью, сопоставимой с таковой в ФС1. Поэтому, хотя представляется целесообразным считать ФС1 местом, где на свету $O_2^{\bullet -}$ образуется с наибольшими скоростями, вероятно, не следует рассматривать ФС1 как основной сайт его генерации при всех обстоятельствах.

Вклад авторов. М.А. Козулева — написание текста; Б.Н. Иванов — редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-24-01074).

Благодарности. Авторы благодарят д.б.н. М.М. Борисову за полезные дискуссии при подготовке обзора.

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. 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.
2. 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.
3. Mubarakshina, M. M., and Ivanov, B. N. (2010) The production and scavenging of reactive oxygen species in the plastoquinone pool of chloroplast thylakoid membranes, *Physiol. Plant.*, **140**, 103-110, doi: 10.1111/j.1399-3054.2010.01391.x.
4. Pospíšil, P. (2012) Molecular mechanisms of production and scavenging of reactive oxygen species by photosystem II, *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 218-231, doi: 10.1016/j.bbabi.2011.05.017.
5. 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.
6. Kozuleva, M. A., Ivanov, B. N., Vetoshkina, D. V., and Borisova-Mubarakshina, M. M. (2020) Minimizing an electron flow to molecular oxygen in photosynthetic electron transfer chain: an evolutionary view, *Front. Plant Sci.*, **11**, 211, doi: 10.3389/fpls.2020.00211.
7. 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.
8. Allen, J. F., and Hall, D. O. (1973) Superoxide reduction as a mechanism of ascorbate-stimulated oxygen uptake by isolated chloroplasts, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **52**, 856-862, doi: 10.1016/0006-291X(73)91016-4.
9. Asada, K., Kiso, K., and Yoshikawa, K. (1974) Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination, *J. Biol. Chem.*, **249**, 2175-2181, doi: 10.1016/S0021-9258(19)42815-9.
10. Wardman, P. (1990) Bioreductive activation of quinones: redox properties and thiol reactivity, *Free Radic. Res. Commun.*, **8**, 219-229, doi: 10.3109/10715769009053355.
11. Takahashi, M., and Asada, K. (1988) Superoxide production in aprotic interior of chloroplast thylakoids, *Arch. Biochem. Biophys.*, **267**, 714-722, doi: 10.1016/0003-9861(88)90080-X.
12. Kozuleva, M., Klenina, I., Proskuryakov, I., Kirilyuk, I., and Ivanov, B. (2011) Production of superoxide in chloroplast thylakoid membranes: ESR study with cyclic hydroxylamines of different lipophilicity, *FEBS Lett.*, **585**, 1067-1071, doi: 10.1016/j.febslet.2011.03.004.
13. Kozuleva, M., Klenina, I., Mysyn, I., Kirilyuk, I., Opanasenko, V., Proskuryakov, I., and Ivanov, B. (2015) Quantification of superoxide radical production in thylakoid membrane using cyclic hydroxylamines, *Free Radic. Biol. Med.*, **89**, 1014-1023, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.016.
14. Kozuleva, M., Goss, T., Twachtman, M., Rudi, K., Trapka, J., Selinski, J., Ivanov, B., Garapati, P., Steinhoff, H. J., Hase, T., Scheibe, R., Klare, J. P., and Hanke, G. T. (2016) Ferredoxin:NADP(H) oxidoreductase abundance and location influences redox poise and stress tolerance, *Plant Physiol.*, **172**, 1480-1493, doi: 10.1104/pp.16.01084.
15. Fantuzzi, A., Allgöwer, F., Baker, H., McGuire, G., Teh, W. K., Gamiz-Hernandez, A. P., Kaila, V. R. I., and Rutherford, A. W. (2022) Bicarbonate-controlled reduction of oxygen by the QA semiquinone in Photosystem II in membranes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2116063119, doi: 10.1073/pnas.2116063119.

16. Khorobrykh, S. A., and Ivanov, B. N. (2002) Oxygen reduction in a plastoquinone pool of isolated pea thylakoids, *Photosynth. Res.*, **71**, 209-219, doi: 10.1023/A:1015583502345.
17. Ford, R. C., and Evans, M. C. W. (1983) Isolation of a photosystem 2 preparation from higher plants with highly enriched oxygen evolution activity, *FEBS Lett.*, **160**, 159-164, doi: 10.1016/0014-5793(83)80957-0.
18. Fan, D.-Y., Hope, A. B., Smith, P. J., Jia, H., Pace, R. J., Anderson, J. M., and Chow, W. S. (2007) The stoichiometry of the two photosystems in higher plants revisited, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1767**, 1064-1072, doi: 10.1016/j.bbabbio.2007.06.001.
19. 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.
20. Kozuleva, M., Petrova, A., Milrad, Y., Semenov, A., Ivanov, B., Redding, K. E., and Iftach, Y. (2021) Plastoquinone is the principal Mehler reaction site within photosystem I in high light, *Plant Physiol.*, **186**, 1848-1858, doi: 10.1093/plphys/kiab221.
21. Hosein, B., and Palmer, G. (1983) The kinetics and mechanism of oxidation of reduced spinach ferredoxin by molecular oxygen and its reduced products, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **723**, 383-390, doi: 10.1016/0005-2728(83)90045-2.
22. Golbeck, J., and Radmer, R. (1984) Is the rate of oxygen uptake by reduced ferredoxin sufficient to account for photosystem I-mediated O₂ reduction, *Adv. Photosynth. Res.*, **1**, 561.
23. Böhme, H. (1978) Quantitative determination of ferredoxin, ferredoxin-NADP⁺ reductase and plastocyanin in spinach chloroplasts, *Eur. J. Biochem.*, **83**, 137-141, doi: 10.1111/j.1432-1033.1978.tb12077.x.
24. McKenzie, S. D., Ibrahim, I. M., Aryal, U. K., and Puthiyaveetil, S. (2020) Stoichiometry of protein complexes in plant photosynthetic membranes, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1861**, 148141, doi: 10.1016/j.bbabbio.2019.148141.
25. Frankel, L. K., Sallans, L., Limbach, P. A., and Bricker, T. M. (2013) Oxidized amino acid residues in the vicinity of QA and PheoD1 of the photosystem II reaction center: putative generation sites of reducing-side reactive oxygen species, *PLoS One*, **8**, e58042, doi: 10.1371/journal.pone.0058042.
26. Kale, R., Hebert, A. E., Frankel, L. K., Sallans, L., Bricker, T. M., and Pospíšil, P. (2017) Amino acid oxidation of the D1 and D2 proteins by oxygen radicals during photoinhibition of Photosystem II, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 2988-2993, doi: 10.1073/pnas.1618922114.
27. Kumar, A., Prasad, A., Sedlářová, M., Kale, R., Frankel, L. K., Sallans, L., Bricker, T. M., and Pospíšil, P. (2021) Tocopherol controls D1 amino acid oxidation by oxygen radicals in Photosystem II, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **118**, e2019246118, doi: 10.1073/pnas.2019246118.
28. Taylor, R. M., Sallans, L., Frankel, L. K., and Bricker, T. M. (2018) Natively oxidized amino acid residues in the spinach cytochrome *b₆f* complex, *Photosynth. Res.*, **137**, 141-151, doi: 10.1007/s11120-018-0485-0.
29. Ananyev, G., Renger, G., Wacker, U., and Klimov, V. (1994) The photoproduction of superoxide radicals and the superoxide dismutase activity of Photosystem II. The possible involvement of cytochrome *b559*, *Photosynth. Res.*, **41**, 327-338, doi: 10.1007/BF00019410.
30. Cleland, R. E., and Grace, S. C. (1999) Voltammetric detection of superoxide production by photosystem II, *FEBS Lett.*, **457**, 348-352, doi: 10.1016/S0014-5793(99)01067-4.
31. Brinkert, K., Causmaecker, S. D., Krieger-Liszka, A., Fantuzzi, A., and Rutherford, A. W. (2016) Bicarbonate-induced redox tuning in Photosystem II for regulation and protection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 12144-12149, doi: 10.1073/pnas.1608862113.
32. Linke, K., and Ho, F. M. (2014) Water in photosystem II: structural, functional and mechanistic considerations, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1837**, 14-32, doi: 10.1016/j.bbabbio.2013.08.003.
33. Causmaecker, S. D., Douglass, J. S., Fantuzzi, A., Nitschke, W., and Rutherford, A. W. (2019) Energetics of the exchangeable quinone, Q_B, in Photosystem II, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 19458-19463, doi: 10.1073/pnas.1910675116.
34. Kruk, J., and Strzałka, K. (1999) Dark reoxidation of the plastoquinone-pool is mediated by the low-potential form of cytochrome *b-559* in spinach thylakoids, *Photosynth. Res.*, **62**, 273-279, doi: 10.1023/A:1006374319191.
35. Pospíšil, P., Šnyrychová, I., Kruk, J., Strzałka, K., and Nauš, J. (2006) Evidence that cytochrome *b559* is involved in superoxide production in photosystem II: effect of synthetic short-chain plastoquinones in a cytochrome *b559* tobacco mutant, *Biochem. J.*, **397**, 321-327, doi: 10.1042/BJ20060068.
36. Müh, F., and Zouni, A. (2016) Cytochrome *b 559* in Photosystem II, in *Adv. Photosynth. Respir.* Springer, Dordrecht, **41**, 143-175, doi: 10.1007/978-94-017-7481-9_8.
37. Shuvalov, V. A., Schreiber, U., and Heber, U. (1994) Spectral and thermodynamic properties of the two hemes of the D1D2cytochrome *b-559* complex of spinach, *FEBS Lett.*, **337**, 226-230, doi: 10.1016/0014-5793(94)80196-7.
38. Yadav, D. K., Prasad, A., Kruk, J., and Pospíšil, P. (2014) Evidence for the involvement of loosely bound plastosemiquinones in superoxide anion radical production in photosystem II, *PLoS One*, **9**, e115466, doi: 10.1371/journal.pone.0115466.
39. Khorobrykh, A. (2019) Hydrogen peroxide and superoxide anion radical photoproduction in PSII

- preparations at various modifications of the water-oxidizing complex, *Plants*, **8**, 329, doi: 10.3390/plants8090329.
40. Mubarakshina, M., Khorobrykh, S., and Ivanov, B. (2006) Oxygen reduction in chloroplast thylakoids results in production of hydrogen peroxide inside the membrane, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1757**, 1496-1503, doi: 10.1016/j.bbabi.2006.09.004.
 41. McCauley, S. W., and Melis, A. (1986) Quantitation of plastoquinone photoreduction in spinach chloroplasts, *Photosynth. Res.*, **8**, 3-16, doi: 10.1007/BF00028472.
 42. Khorobrykh, S., Mubarakshina, M., and Ivanov, B. (2004) Photosystem I is not solely responsible for oxygen reduction in isolated thylakoids, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1657**, 164-167, doi: 10.1016/j.bbabi.2004.04.009.
 43. Forquer, I., Covian, R., Bowman, M. K., Trumpower, B. L., and Kramer, D. M. (2006) Similar transition states mediate the Q-cycle and superoxide production by the cytochrome *bc₁* complex, *J. Biol. Chem.*, **281**, 38459-38465, doi: 10.1074/jbc.M605119200.
 44. Vetoshkina, D. V., Ivanov, B. N., Khorobrykh, S. A., Proskuryakov, I. I., and Borisova-Mubarakshina, M. M. (2017) Involvement of the chloroplast plastoquinone pool in the Mehler reaction, *Physiol. Plant.*, **161**, 45-55, doi: 10.1111/ppl.12560.
 45. 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.
 46. Kramer, D. M., Crofts, A. R. (1994) Re-examination of the properties and function of the b cytochromes of the thylakoid cytochrome *bf* complex, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1184**, 193-201, doi: 10.1016/0005-2728(94)90223-2.
 47. Sang, M., Qin, X. C., Wang, W. D., Xie, J., Chen, X. B., Wang, K. B., Zhang, J. P., Li, L. B., Kuang, T. Y. (2011) High-light-induced superoxide anion radical formation in cytochrome *b₆f* complex from spinach as detected by EPR spectroscopy, *Photosynthetica*, **49**, 48-54, doi: 10.1007/s11099-011-0008-0.
 48. Šnyrychová, I., Pospíšil, P., and Nauš, J. (2006) Reaction pathways involved in the production of hydroxyl radicals in thylakoid membrane: EPR spin-trapping study, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **5**, 472-476, doi: 10.1039/B514394B.
 49. Козулева М. А., Найдов И. А., Мубаракшина М. М., Иванов Б. Н. (2007) Участие ферредоксина в восстановлении кислорода в фотосинтетической электрон-транспортной цепи, *Биофизика*, **52**, 650-655.
 50. Badger, M. R. (1985) Photosynthetic oxygen exchange, *Annu. Rev. Plant. Physiol.*, **36**, 27-53, doi: 10.1146/annurev.pp.36.060185.000331.
 51. Allen, J. F. (1975) Oxygen reduction and optimum production of ATP in photosynthesis, *Nature*, **256**, 599-600, doi: 10.1038/256599a0.
 52. Furbank, R. T., and Badger, M. R. (1983) Oxygen exchange associated with electron transport and photophosphorylation in spinach thylakoids, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **723**, 400-409, doi: 10.1016/0005-2728(83)90047-6.
 53. 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.
 54. Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, **50**, 601-639, doi: 10.1146/annurev.arplant.50.1.601.
 55. Asada, K., and Nakano, Y. (1978) Affinity for oxygen in photoreduction of molecular oxygen and scavenging of hydrogen peroxide in spinach chloroplasts, *Photochem. Photobiol.*, **28**, 917-920, doi: 10.1111/j.1751-1097.1978.tb07040.x.
 56. Petrova, A., Mamedov, M., Ivanov, B., Semenov, A., and Kozuleva, M. (2018) Effect of artificial redox mediators on the photoinduced oxygen reduction by photosystem I complexes, *Photosynth. Res.*, **137**, 421-429, doi: 10.1007/s11120-018-0514-z.
 57. Robinson, J. M. (1988) Does O₂ photoreduction occur within chloroplasts *in vivo*? *Physiol. Plant.*, **72**, 666-680, doi: 10.1111/j.1399-3054.1988.tb09181.x.
 58. Miyake, C., Schreiber, U., Hormann, H., Sano, S., and Asada, K. (1998) The FAD-enzyme monodehydroascorbate radical reductase mediates photoproduction of superoxide radicals in spinach thylakoid membranes, *Plant Cell Physiol.*, **39**, 821-829, doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a029440.
 59. Hanke, G. T., Endo, T., Satoh, F., and Hase, T. (2008) Altered photosynthetic electron channelling into cyclic electron flow and nitrite assimilation in a mutant of ferredoxin:NADP(H) reductase, *Plant Cell Environ.*, **31**, 1017-1028, doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01814.x.
 60. Kramer, M., Rodriguez-Heredia, M., Saccon, F., Mosebach, L., Twachtmann, M., Krieger-Liszkay, A., Duffy, C., Knell, R. J., Finazzi, G., and Hanke, G. T. (2021) Regulation of photosynthetic electron flow on dark to light transition by ferredoxin:NADP(H) oxidoreductase interactions, *ELife*, **10**, e56088, doi: 10.7554/eLife.56088.
 61. 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.
 62. 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 Bioenerg.*, **1862**, 148380, doi: 10.1016/j.bbabi.2021.148380.
 63. Kozuleva, M. (2022) Recent advances in the understanding of superoxide anion radical formation in the

- photosynthetic electron transport chain, *Acta Physiol. Plant.*, **44**, 92, doi: 10.1007/s11738-022-03428-0.
64. Hiyama, T., and Ke, B. (1971) A new photosynthetic pigment, "P430": its possible role as the primary electron acceptor of photosystem I, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 1010-1013, doi: 10.1073/pnas.68.5.1010.
 65. Козулева М. А., Ветошкина Д. В., Петрова А. А., Борисова М. М., Иванов Б. Н. (2014) Исследование восстановления кислорода в фотосистеме I высших растений с применением доноров электронов для этой фотосистемы в целых тилакоидах, *Бiol. Мембр.*, **31**, 427-434, doi: 10.7868/S0233475514060024.
 66. Khorobrykh, S., and Tyystjärvi, E. (2018) Plastoquinol generates and scavenges reactive oxygen species in organic solvent: potential relevance for thylakoids, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1859**, 1119-1131, doi: 10.1016/j.bbabi.2018.07.003.
 67. Takahashi, M., and Asada, K. (1982) Dependence of oxygen affinity for Mehler reaction on photochemical activity of chloroplast thylakoids, *Plant Cell Physiol.*, **23**, 1457-1461, doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076495.
 68. Kruk, J., Jemioła-Rzemińska, M., Burda, K., Schmid, G. H., and Strzałka, K. (2003) Scavenging of superoxide generated in photosystem I by plastoquinol and other prenyllipids in thylakoid membranes, *Biochemistry*, **42**, 8501-8505, doi: 10.1021/bi034036q.
 69. Kozuleva, M. A., Petrova, A. A., Mamedov, M. D., Semenov, A. Yu., 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.
 70. Semenov, A. Y., Vassiliev, I. R., van der Est, A., Mamedov, M. D., Zybailov, B., Shen, G., Stehlik, D., Diner, B. A., Chitnis, P. R., and Golbeck, J. H. (2000) Recruitment of a foreign quinone into the A₁ site of Photosystem I: altered kinetics of electron transfer in phyloquinone biosynthetic pathway mutants studied by time-resolved optical, EPR, and electrometric techniques, *J. Biol. Chem.*, **275**, 23429-23438, doi: 10.1074/jbc.M000508200.
 71. Santabarbara, S., Bullock, B., Rappaport, F., and Redding, K. E. (2015) Controlling electron transfer between the two cofactor chains of photosystem I by the redox state of one of their components, *Biophys. J.*, **108**, 1537-1547, doi: 10.1016/j.bpj.2015.01.009.
 72. Kale, R., Sallans, L., Frankel, L. K., and Bricker, T. M. (2020) Natively oxidized amino acid residues in the spinach PS I-LHC I supercomplex, *Photosynth. Res.*, **143**, 263-273, doi: 10.1007/s11120-019-00698-7.
 73. Milanovsky, G. E., Petrova, A. A., Cherepanov, D. A., and Semenov, A. Yu. (2017) Kinetic modeling of electron transfer reactions in photosystem I complexes of various structures with substituted quinone acceptors, *Photosynth. Res.*, **133**, 185-199, doi: 10.1007/s11120-017-0366-y.
 74. Ivanov, B. (2000) The competition between methyl viologen and monodehydroascorbate radical as electron acceptors in spinach thylakoids and intact chloroplasts, *Free Radic. Res.*, **33**, 217-227, doi: 10.1080/10715760000301391.
 75. Bukhov, N. G., Govindachary, S., Egorova, E. A., Joly, D., and Carpentier, R. (2003) N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine initiates the appearance of a well-resolved I peak in the kinetics of chlorophyll fluorescence rise in isolated thylakoids, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1607**, 91-96, doi: 10.1016/j.bbabi.2003.09.002.
 76. 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.
 77. Michelet, L., and Krieger-Liszkay, A. (2012) Reactive oxygen intermediates produced by photosynthetic electron transport are enhanced in short-day grown plants, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1817**, 1306-1313, doi: 10.1016/j.bbabi.2011.11.014.
 78. Krieger-Liszkay, A., Shimakawa, G., and Sétif, P. (2020) Role of the two Psae isoforms on O₂ reduction at photosystem I in *Arabidopsis thaliana*, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1861**, 148089, doi: 10.1016/j.bbabi.2019.148089.
 79. Marco, P., Elman, T., and Yacoby, I. (2019) Binding of ferredoxin NADP⁺ oxidoreductase (FNR) to plant photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1860**, 689-698, doi: 10.1016/j.bbabi.2019.07.007.
 80. Andersen, B., Scheller, H. V., and Möller, B. L. (1992) The PSI-E subunit of photosystem I binds ferredoxin:NADP⁺ oxidoreductase, *FEBS Lett.*, **311**, 169-173, doi: 10.1016/0014-5793(92)81391-X.
 81. Benz, J. P., Stengel, A., Lintala, M., Lee, Y.-H., Weber, A., Philippar, K., Gügel, I. L., Kaieda, S., Ikegami, T., Mulo, P., Soll, J., and Bölter, B. (2009) *Arabidopsis* Tic62 and ferredoxin-NADP(H) oxidoreductase form light-regulated complexes that are integrated into the chloroplast redox poise, *Plant Cell*, **21**, 3965-3983, doi: 10.1105/tpc.109.069815.
 82. Jurić, S., Hazler-Pilepić, K., Tomašić, A., Lepeduš, H., Jeličić, B., Puthiyaveetil, S., Bionda, T., Vojta, L., Allen, J. F., Schleiff, E., and Fulgosi, H. (2009) Tethering of ferredoxin:NADP⁺ oxidoreductase to thylakoid membranes is mediated by novel chloroplast protein TROL, *Plant J.*, **60**, 783-794, doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03999.x.
 83. Jagannathan, B., Shen, G., and Golbeck, J. H. (2012) The evolution of type I reaction centers: the response to oxygenic photosynthesis, in *Functional Genomics and Evolution of Photosynthetic Systems*, Springer, Dordrecht, pp. 285-316, doi: 10.1007/978-94-007-1533-2_12.
 84. 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.
85. Pierella Karlusich, J. J., and Carrillo, N. (2017) Evolution of the acceptor side of photosystem I: ferredoxin, flavodoxin, and ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase, *Photosyn. Res.*, **134**, 235–250, doi: 10.1007/s11120-017-0338-2.
 86. Orf, G. S., Gisriel, C., and Redding, K. E. (2018) Evolution of photosynthetic reaction centers: insights from the structure of the heliobacterial reaction center, *Photosynth. Res.*, **138**, 11–37, doi: 10.1007/s11120-018-0503-2.
 87. Hanke, G., and Mulo, P. (2013) Plant type ferredoxins and ferredoxin-dependent metabolism, *Plant Cell Environ.*, **36**, 1071–1084, doi: 10.1111/pce.12046.
 88. Fischer, N., Sétif, P., and Rochaix, J.-D. (1997) Targeted mutations in the *psaC* gene of *Chlamydomonas reinhardtii*: preferential reduction of FB at low temperature is not accompanied by altered electron flow from photosystem I to ferredoxin, *Biochemistry*, **36**, 93–102, doi: 10.1021/bi962244v.
 89. Shinkarev, V. P., Vassiliev, I. R., and Golbeck, J. H. (2000) A kinetic assessment of the sequence of electron transfer from F(X) to F(A) and further to F(B) in photosystem I: the value of the equilibrium constant between F(X) and F(A), *Biophys. J.*, **78**, 363–372, doi: 10.1016/S0006-3495(00)76599-4.
 90. Ptushenko, V. V., Cherepanov, D. A., Krishtalik, L. I., and Semenov, A. Y. (2008) Semi-continuum electrostatic calculations of redox potentials in photosystem I, *Photosynth. Res.*, **97**, 55–74, doi: 10.1007/s11120-008-9309-y.
 91. Schoepp-Cothenet, B., van Lis, R., Atteia, A., Baymann, F., Capowicz, L., Ducluzeau, A.-L., Duval, S., Brink, F., Russell, M. J., and Nitschke, W. (2013) On the universal core of bioenergetics, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1827**, 79–93, doi: 10.1016/j.bbabo.2012.09.005.
 92. Massey, V. (1994) Activation of molecular oxygen by flavins and flavoproteins, *J. Biol. Chem.*, **269**, 22459–22462, doi: 10.1016/S0021-9258(17)31664-2.
 93. Ceccarelli, E. A., Arakaki, A. K., Cortez, N., and Carrillo, N. (2004) Functional plasticity and catalytic efficiency in plant and bacterial ferredoxin-NADP(H) reductases, *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteomics*, **1698**, 155–165, doi: 10.1016/j.bbapap.2003.12.005.
 94. Carrillo, N., and Ceccarelli, E. A. (2003) Open questions in ferredoxin-NADP⁺ reductase catalytic mechanism, *Eur. J. Biochem.*, **270**, 1900–1915, doi: 10.1046/j.1432-1033.2003.03566.x.
 95. Batie, C. J., and Kamin, H. (1984) Ferredoxin:NADP⁺ oxidoreductase. Equilibria in binary and ternary complexes with NADP⁺ and ferredoxin, *J. Biol. Chem.*, **259**, 8832–8839, doi: 10.1016/S0021-9258(17)47229-2.
 96. Mulo, P., and Medina, M. (2017) Interaction and electron transfer between ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase and its partners: structural, functional, and physiological implications, *Photosynth. Res.*, **134**, 265–280, doi: 10.1007/s11120-017-0372-0.
 97. Drachev, L. A., Kaurov, B. S., Mamedov, M. D., Mulikjanian, A. Y., Semenov, A. Yu, Shinkarev, V. P., Skulachev, V. P., and Verkgovsky, M. I. (1989) Flash-induced electrogenic events in the photosynthetic reaction center and *bc₁* complexes of *Rhodobacter sphaeroides* chromatophores, *Biochim. Biophys. Acta*, **973**, 189–197, doi: 10.1016/S0005-2728(89)80421-9.
 98. De Vries, S., Berden, J. A., and Slater, E. C. (1980) Properties of a semiquinone anion located in the QH₂:cytochrome *c* oxidoreductase segment of the mitochondrial respiratory chain, *FEBS Lett.*, **122**, 143–148, doi: 10.1016/0014-5793(80)80422-4.
 99. Stroebel, D., Choquet, Y., Popot, J.-L., and Picot, D. (2003) An atypical haem in the cytochrome *b₆f* complex, *Nature*, **426**, 413–418, doi: 10.1038/nature02155.
 100. Vilyanen, D., Naydov, I., Ivanov, B., Borisova-Mubarakshina, M., and Kozuleva, M. (2022) Inhibition of plastoquinol oxidation at the cytochrome *b₆f* complex by dinitrophenyl ether of iodonitrothymol (DNP-INT) depends on irradiance and H⁺ uptake by thylakoid membranes, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1863**, 148506, doi: 10.1016/j.bbabo.2021.148506.
 101. Schoepp-Cothenet, B., Lieutaud, C., Baymann, F., Verméglio, A., Friedrich, T., Kramer, D. M., and Nitschke, W. (2009) Menaquinone as pool quinone in a purple bacterium, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 8549–8554, doi: 10.1073/pnas.0813173106.
 102. Bergdoll, L., ten Brink, F., Nitschke, W., Picot, D., and Baymann, F. (2016) From low- to high-potential bioenergetic chains: thermodynamic constraints of Q-cycle function, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.*, **1857**, 1569–1579, doi: 10.1016/j.bbabo.2016.06.006.
 103. Alric, J., Pierre, Y., Picot, D., Lavergne, J., and Rappaport, F. (2005) Spectral and redox characterization of the heme *ci* of the cytochrome *bf* complex, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 15860–15865, doi: 10.1073/pnas.0508102102.
 104. Gisriel, C., Sarrou, I., Ferlez, B., Golbeck, J. H., Redding, K. E., and Fromme, R. (2017) Structure of a symmetric photosynthetic reaction center-photosystem, *Science*, **357**, 1021–1025, doi: 10.1126/science.aan5611.
 105. He, Z., Ferlez, B., Kurashov, V., Tank, M., Golbeck, J. H., and Bryant, D. A. (2019) Reaction centers of the thermophilic microaerophile, *Chloracidobacterium thermophilum* (Acidobacteria) I: biochemical and biophysical characterization, *Photosynth. Res.*, **142**, 87–103, doi: 10.1007/s11120-019-00650-9.
 106. 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, doi: 10.1038/s41477-019-0380-5.

107. Kashey, T. S., Luu, D. D., Cowgill, J. C., Baker, P. L., and Redding, K. E. (2018) Light-driven quinone reduction in heliobacterial membranes, *Photosynth. Res.*, **138**, 1-9, doi: 10.1007/s11120-018-0496-x.
108. McConnell, M. D., Cowgill, J. B., Baker, P. L., Rapaport, F., and Redding, K. E. (2011) Double reduction of plastoquinone to plastoquinol in photosystem I, *Biochemistry*, **50**, 11034-11046, doi: 10.1021/bi201131r.
109. Guergova-Kuras, M., Boudreaux, B., Joliot, A., Joliot, P., and Redding, K. (2001) Evidence for two active branches for electron transfer in photosystem I, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 4437-4442, doi: 10.1073/pnas.081078898.
110. Ksas, B., Alric, J., Caffarri, S., and Havaux, M. (2022) Plastoquinone homeostasis in plant acclimation to light intensity, *Photosynth. Res.*, **152**, 43-54, doi: 10.1007/s11120-021-00889-1.
111. Suslichenko, I. S., and Tikhonov, A. N. (2019) Photo-reducible plastoquinone pools in chloroplasts of *Tradescantia* plants acclimated to high and low light, *FEBS Lett.*, **593**, 788-798, doi: 10.1002/1873-3468.13366.

SUPEROXIDE ANION RADICAL GENERATION IN PHOTOSYNTHETIC ELECTRON TRANSPORT CHAIN

Review

M. A. Kozuleva* and B. N. Ivanov

*Institute of Basic Biological Problems,
Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences,
142290 Pushchino, Moscow Region, Russia; e-mail: kozuleva@gmail.com*

The review analyzes the data available in the literature on the rates, characteristics and mechanisms of oxygen reduction to a superoxide anion radical at the sites of the photosynthetic electron transport chain where this reduction can occur. The existing assumptions about the role of the components of these sites in this process are critically examined, with use of thermodynamic approaches and the results of recent studies. The process of O₂ reduction at the acceptor side of PSI, which is considered the main place of this process in the photosynthetic chain, is described in detail. The evolution of the photosynthetic apparatus in the context of controlling the leakage of electrons to O₂ is considered. The reasons limiting the application of the results obtained with isolated segments of the photosynthetic chain to estimate the rates of O₂ reduction at the corresponding sites in the intact thylakoid membrane are discussed.

Keywords: photosynthesis, photosynthetic electron transport chain, oxygen reduction, superoxide radical