

УДК: 577.34/577.38

Описание процессов в ансамблях фотосинтетических реакционных центров с помощью кинетической модели типа Монте-Карло

А. С. Маслаков

МГУ им. М. В. Ломоносова, биологический факультет,
Россия, 119192, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12

E-mail: alexei.maslakov@gmail.com

*Получено 20.03.2020, после доработки — 05.09.2020.
Принято к публикации 10.09.2020.*

Фотосинтетический аппарат растительной клетки состоит из множества фотосинтетических электронтранспортных цепей (ЭТЦ), каждая из которых участвует в усвоении квантов света, сопряженном с переносом электрона между элементами цепи. Эффективность усвоения квантов света варьирует в зависимости от физиологического состояния растения. Энергия той части квантов, которую не удается усвоить, диссипирует в тепло либо высвечивается в виде флуоресценции. При действии возбуждающего света уровень флуоресценции постепенно растет, доходя до максимума. Кривая роста уровня флуоресценции в ответ на действие возбуждающего света называется кривой индукции флуоресценции (КИФ). КИФ имеет сложную форму, которая претерпевает существенные изменения при различных изменениях состояния фотосинтетического аппарата, что позволяет использовать ее для получения информации о текущем состоянии растения.

В реальном эксперименте, при действии возбуждающего света, мы наблюдаем ответ системы, представляющей собой ансамбль миллионов фотосинтетических ЭТЦ. С целью воспроизведения вероятностной природы процессов в фотосинтетической ЭТЦ разработана кинетическая модель Монте-Карло, в которой для каждой индивидуальной цепи определены вероятности возбуждения молекул светособирающей антенны при попадании кванта света, вероятности захвата энергии либо высвечивания кванта света реакционным центром и вероятности переноса электрона с донора на акцептор в пределах фотосинтетических мультиферментных комплексов в тилакоидной мембране и между этими комплексами и подвижными переносчиками электронов. События, происходящие в каждой из цепей фиксируются, суммируются и формируют кривую индукции флуоресценции и кривые изменения долей различных редокс-состояний переносчиков электрона, входящих в состав фотосинтетической электронтранспортной цепи. В работе описаны принципы построения модели, изучены зависимости кинетики регистрируемых величин от параметров модели, приведены примеры полученных зависимостей, соответствующие экспериментальным данным по регистрации флуоресценции хлорофилла реакционного центра фотосистемы 2 и окислительно-восстановительных превращений фотоактивного пигмента фотосистемы 1 — хлорофилла.

Ключевые слова: кинетический метод Монте-Карло, фотосистема, электронный транспорт, кислород-выделяющий комплекс, пул пластохинонов, модель

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00406 мол_а.

UDC: 577.34/577.38

Describing processes in photosynthetic reaction center ensembles using a Monte Carlo kinetic model

A. S. Maslakov

Lomonosov Moscow State University, biology department,
1 Leninskie gory st., build. 12, Moscow, 119192, Russia

E-mail: alexei.maslakov@gmail.com

Received 20.03.2020, after completion — 05.09.2020.

Accepted for publication 10.09.2020.

Photosynthetic apparatus of a plant cell consists of multiple photosynthetic electron transport chains (ETC). Each ETC is capable of capturing and utilizing light quanta, that drive electron transport along the chain. Light assimilation efficiency depends on the plant's current physiological state. The energy of the part of quanta that cannot be utilized, dissipates into heat, or is emitted as fluorescence. Under high light conditions fluorescence levels gradually rise to the maximum level. The curve describing that rise is called fluorescence rise (FR). It has a complex shape and that shape changes depending on the photosynthetic apparatus state. This gives one the opportunity to investigate that state only using the non invasive measuring of the FR.

When measuring fluorescence in experimental conditions, we get a response from millions of photosynthetic units at a time. In order to reproduce the probabilistic nature of the processes in a photosynthetic ETC, we created a Monte Carlo model of this chain. This model describes an ETC as a sequence of electron carriers in a thylakoid membrane, connected with each other. Those carriers have certain probabilities of capturing light photons, transferring excited states, or reducing each other, depending on the current ETC state. The events that take place in each of the model photosynthetic ETCs are registered, accumulated and used to create fluorescence rise and electron carrier redox states accumulation kinetics. This paper describes the model structure, the principles of its operation and the relations between certain model parameters and the resulting kinetic curves shape. Model curves include photosystem II reaction center fluorescence rise and photosystem I reaction center redox state change kinetics under different conditions.

Keywords: kinetic Monte Carlo method, photosystem, electron transport, oxygen evolving complex, plastoquinone pool, model

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2020, vol. 12, no. 5, pp. 1207–1221 (Russian).

The work was supported by RFBR project No. 18-34-00406 mol_a.

Введение

Для определения физиологического состояния высших растений часто используется измерение кривой индукции флуоресценции [Suggett et al., 2011; Murchie, Lawson, 2013; Kalaji et al., 2017]. Это связано с тем, что при поглощении света растением часть энергии усваивается и используется в метаболизме, часть рассеивается в тепло, а часть высвечивается в виде квантов флуоресценции. Таким образом, кривая индукции флуоресценции может дать информацию о состоянии фотосинтетической ЭТЦ и способности растения усваивать энергию поглощенных фотонов в момент проведения измерения.

Адекватное описание кривой индукции флуоресценции, полученной в различных лабораторных и природных условиях, является целью большинства разработанных к настоящему времени моделей фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) [Lazár, 2009; Lazár, 2013; Zhu et al., 2005; Belyaeva et al., 2014, 2016; Riznichenko et al., 2009; Stirbet, Govindjee, 2011; Stirbet, Govindjee, 2016]. Большая часть из них являются кинетическими моделями и используют в своей основе систему обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ). Такие модели не требовательны к вычислительной мощности и достаточно просты в реализации при небольшом количестве компонентов ЭТЦ.

Однако в связи с тем, что многие переносчики электрона в фотосинтетической мембране объединены в составе белкового комплекса, для описания изменения состояния одного переносчика требуется учесть все возможные комбинации состояний остальных переносчиков, входящих в состав такого комплекса. В связи с этим добавление одного одноэлектронного переносчика требует увеличения количества уравнений, требуемых для описания системы, в два раза.

Таким образом, с увеличением сложности описываемой системы количество уравнений растет очень быстро, и модель становится сложной для добавления новых компонентов, исследования и каких-либо модификаций. К примеру, для составления кинетической модели фотосистемы 2 (ФС2), учитывающей все компоненты, описанные в представленной модели Монте-Карло, потребовалось бы порядка 400 уравнений.

В последнее время в связи с развитием вычислительных мощностей стало доступным использование в подобных моделях кинетического метода Монте-Карло [Kalos, 2008; Kroese et al., 2011]. Этот метод позволяет описать взаимодействие компонентов ЭТЦ набором правил, каждое из которых описывает результат взаимодействия соседних компонентов и константу скорости для этого взаимодействия. Таким образом, при добавлении нового переносчика электрона нужно добавить правила, описывающие все возможные окислительно-восстановительные реакции с его участием и константы скорости для них. Добавление или изменение какого-либо из компонентов затрагивает только сам этот компонент и его ближайшее окружение, не влияя на остальную часть ЭТЦ. Это сильно упрощает работу с моделью, ее модификацию и исследование.

Симуляция работы ЭТЦ кинетическим методом Монте-Карло требует гораздо большей вычислительной мощности, чем решение системы ОДУ, однако использование современных CPU, GPU (graphics processing unit — графический ускоритель) и параллельных вычислений позволяет использовать для расчетов обычный настольный ПК.

Материалы и методы

Как показано на рис. 1, наша модель состоит из нескольких основных блоков: это фотосистема 2 (ФС2), пулы подвижных мембранных переносчиков (пластохинон), цитохромный b6/f-комплекс, фотосистема 1 (ФС1) [Govindjee, 2006] и пулы подвижных немембранных переносчиков (пластоцианин и ферредоксин).

В ФС2 в донорной части располагается кислород-выделяющий комплекс (КВК), донирующий электроны тирозину Y_Z, который в свою очередь является донором электронов для хлорофилла реакционного центра ФС2 P680. КВК может находиться в четырех различных состояниях, переходя между которыми он в четыре стадии последовательно окисляет две молекулы воды. Все четыре состояния КВК (s_0 , s_1 , s_2 и s_3) [Kok et al., 1970] явным образом представлены в модели.

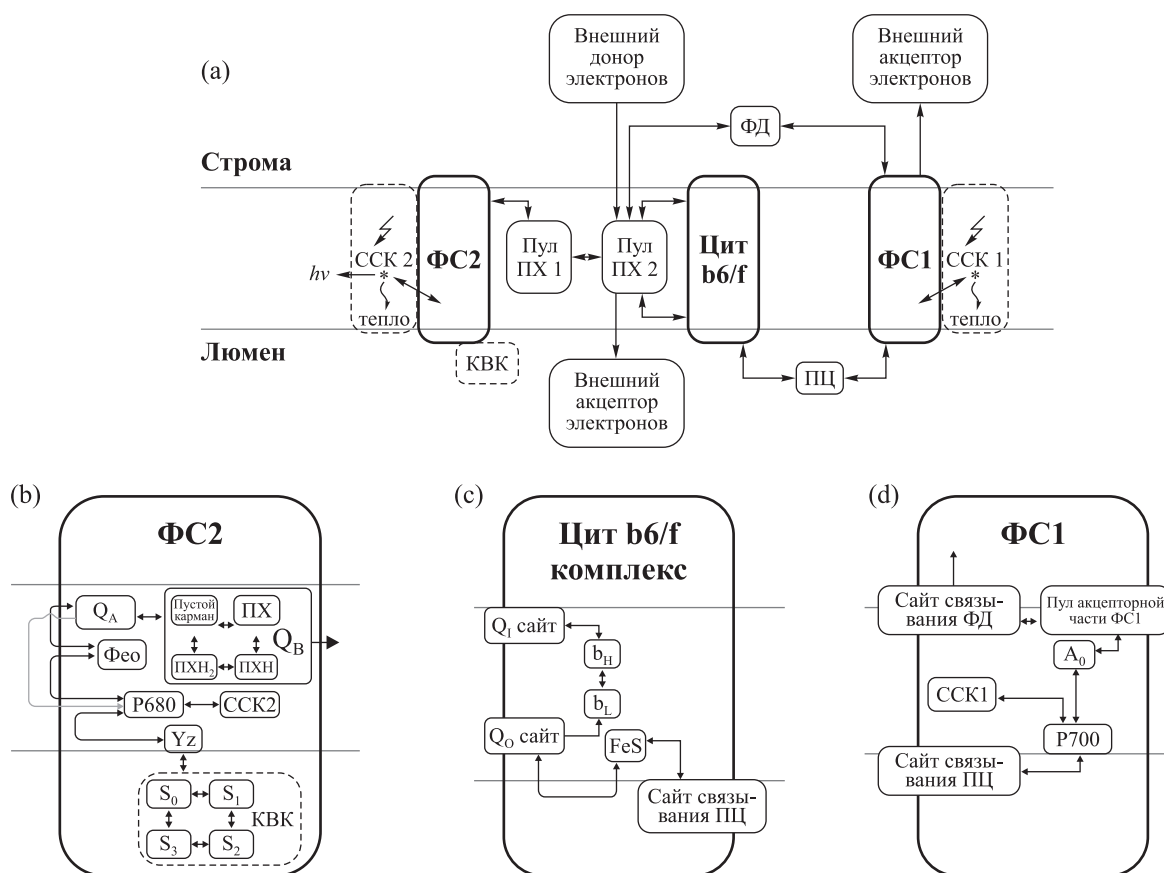


Рис. 1. а) Общая схема ЭТЦ, используемая в модели; б) внутреннее устройство ФС2; в) внутреннее устройство цитохромного b6/f-комплекса; д) внутреннее устройство ФС1. ССК2 — светособирающий комплекс ФС2; КВК — кислород-выделяющий комплекс; Yz — тирозин Z (донор электронов для хлорофилла реакционного центра ФС2 Р680); Р680 — хлорофилл реакционного центра ФС2 с максимумом поглощения при 680 нм; Фео — феофитин — акцептор электрона, участвующий в разделении зарядов в ФС2; Q_A — первичный акцептор электрона ФС2; Q_B — двухэлектронный акцептор ФС2; ПХ — пластохинон; Пул ПХ1 — пластохиноновый пул, взаимодействующий непосредственно с ФС2; Пул ПХ2 — пластохиноновый пул, взаимодействующий с Цит b6/f-комплексом; Q_O — сайт связывания ПХ2; Q_I — сайт связывания ПХ; b_L — гем b low; b_H — гем b high; FeS — железосерный центр Риска; ПЦ — пластоцианин; Р700 — хлорофилл реакционного центра ФС1 с максимумом поглощения при 700 нм; ССК1 — светособирающий комплекс ФС1; A₀ — первичный акцептор ФС1; пул акцепторной части ФС1 — совокупность переносчиков электрона ФС1, следующих за первичным акцептором; ФД — ферредоксин

С каждой ФС2 связан антенный комплекс, способный поглощать кванты света и передавать возбуждение в реакционный центр Р680, который, перейдя в возбужденное состояние, способен восстановить расположенный следом за ним феофитин (Фео). Этот процесс называется разделением зарядов. Далее феофитин может восстановить одноэлектронный переносчик Q_A, который в свою очередь может в две стадии восстановить находящийся в сайте связывания пластохинон Q_B.

ФС2 через Q_B-сайт взаимодействует с пулом пластохинона ПХ1 и способна его восстанавливать. ПХ1 имеет возможность обмена электронами с ПХ2. ФС2 не имеет возможности восстанавливать ПХ2 напрямую, таким образом имитируется пространственное разделение расположения ФС1 и ФС2. Далее ПХ2 окисляется цитохромным b6/f-комплексом. Кроме того, в модели представлена связь пластохинонового пула с дыхательной цепью в виде притока и оттока электронов с низкой константой скорости.

В цитохромном b6/f-комплексе в модели реализован механизм, имитирующий работу Q-цикла [Mitchell, 1975]. То есть при окислении пластохинола один электрон через железосер-

ный белок Риске идет на восстановление пластоцианина, а другой передается к стромальному сайту связывания пластохинона и идет на его восстановление.

Пластоцианиновый пул обеспечивает перенос электрона между цитохромным b6/f-комплексом и фотосистемой 1 (ФС1). ФС1, так же как и ФС2, имеет свой антенный комплекс, поглощающий кванты света и передающий возбуждение хлорофиллу реакционного центра ФС1 P700. Когда P700 переходит в возбужденное состояние, происходит разделение зарядов и восстановление первичного акцептора A_0 . В нашей модели все переносчики электрона в акцепторной части ФС1, следующие за A_0 , объединены в общий пул электронов и непосредственно взаимодействуют с сайтом связывания ферредоксина. Это связано с тем, что основную часть сигнала флуоресценции дает ФС2, ФС1 в его формировании участвует мало, поэтому деталями внутреннего строения ее акцепторной части мы решили пренебречь.

Ферредоксин, в свою очередь, способен восстанавливать пластохиноновый пул, обеспечивая, таким образом, циклический транспорт электронов вокруг ФС1 [Johnson, 2011].

Кинетический метод Монте-Карло

Все описанные выше взаимодействия представлены в модели в виде набора правил и констант для всех возможных окислительно-восстановительных реакций в системе, а также для реакций поглощения и излучения квантов света, переноса возбуждения и утилизации возбужденных состояний переносчиков электрона. Каждое отдельное правило представляет собой набор условий, необходимых для перехода переносчика из его текущего состояния в одно из других его возможных состояний. Например, если пластохинон Q_a находится в нейтральном состоянии, то для перехода в восстановленное состояние Q_a^- необходимо, чтобы потенциальный донор электрона — феофитин (Фео) — находился в восстановленном состоянии Фео-. Для каждого правила задана константа скорости соответствующей реакции (в приведенном примере $Q_a + \text{Фео}^- \rightarrow Q_a^- + \text{Фео}$). Эти константы используются в дальнейшем в процессе выбора одной из реакций с использованием генератора случайных чисел.

Перед началом симуляции требуется инициализировать начальное состояние системы, т. е. привести все компоненты в соответствующее состояние (нейтральное, окисленное, восстановленное и т. п.), зависящее от условий эксперимента, которые мы хотим имитировать. К примеру, после темновой адаптации акцепторная часть ФС2, скорее всего, будет находиться в окисленном состоянии, а после насыщающей вспышки света — в восстановленном. Кроме того, на стадии инициализации можно учесть различные виды гетерогенности в фотосинтетической мембране и задать различные свойства реакционным центрам ФС2. Известно, что часть реакционных центров ФС2 не способны образовывать суперкомплекс — димер ФС2 с общим антенным комплексом, позволяющий утилизировать возбужденные состояния антенны любой из двух ФС2, входящих в его состав. Часть реакционных центров обладает меньшей по площади антенной, часть не способна восстанавливать пластохинон и т. д. Из экспериментальных данных [Strasser, Tsimilli-Michael, 1998; Melis, Homann, 1976; Melis, 1985] известна доля реакционных центров, отличающихся теми или иными свойствами, благодаря чему можно в начальный момент времени случайным образом распределить различные отклонения от нормы в модельной системе. Кроме того, модель позволяет при инициализации задать начальную степень восстановленности пулов подвижных переносчиков и отдельных компонентов ЭТЦ, что позволяет имитировать различные восстановительные условия, наблюдаемые в эксперименте в условиях стресса.

Для осуществления элементарного шага модели — изменения состояния одного или двух взаимодействующих переносчиков электрона — используем алгоритм Gillespie [Gillespie, 1976]. Сначала нужно рассчитать сумму констант всех реакций, возможных для текущего состояния системы:

$$K_{\text{total}} = \sum_{i=1}^n k_i.$$

После этого получим длину элементарного шага модели:

$$T = \frac{1}{K_{\text{total}}} \times \ln(R_1),$$

где R_1 — случайное число в интервале от 0 до 1.

Далее выберем, какая именно из реакций должна произойти в этот момент. Для этого поделим единичный отрезок на интервалы, пропорциональные величинам констант всех возможных в данный момент реакций. Затем сгенерируем второе случайное число R_2 в интервале от 0 до 1 и выберем соответствующую реакцию в зависимости от того, в какой из интервалов это число попало. Далее обновим состояние модельной системы с учетом произошедшей реакции и переместимся в момент времени $T_0 + T$ (где T_0 — текущий момент времени, в котором модельная система находится до осуществления элементарного шага).

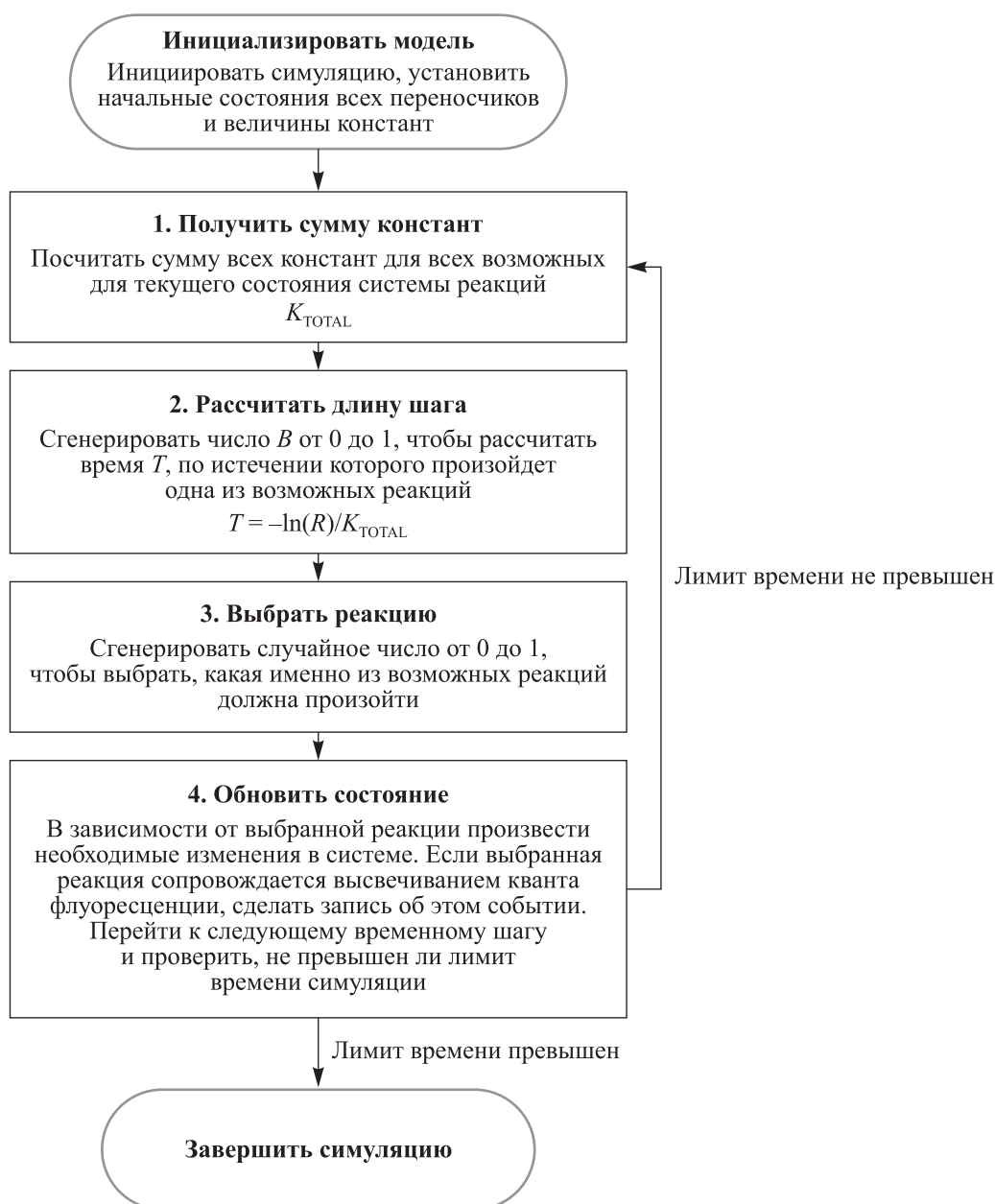


Рис. 2. Алгоритм, используемый при моделировании

Использование алгоритма Gillespie отличает эту модель от предыдущей версии [Маслаков et al., 2016], в которой мы использовали адаптивную длину шага вычислений, общую для всех реакционных центров, входящих в состав моделируемого кластера (16 384 реакционных центра, состояние которых учитывается одновременно на каждом шаге модели). Это несколько уменьшает возможности для использования параллельных вычислений, однако значительно увеличивает эффективность расчетов.

В новой версии модели для учета взаимодействия соседствующих фотосистем мы используем кластеры одновременно моделируемых фотосистем, небольшого размера (20–50 реакционных центров), а параллельные вычисления используем для накопления сигнала флуоресценции (параллельно проводим вычислительный эксперимент для большого числа невзаимодействующих друг с другом модельных единиц, суммируя полученные кинетики индукции флуоресценции).

Взаимодействие между реакционными центрами

Еще одной важной особенностью этой модели является то, что мы учли возможность взаимодействия соседствующих реакционных центров, не объединенных общим антенным комплексом. Все реакционные центры, входящие в состав кластера (20–50 реакционных центров), взаимодействуют через единый пул пластохинона (PQ). Это позволяет моделировать ситуации, когда это взаимодействие критично и значительно влияет на результаты эксперимента.

Влияние различных параметров модели на форму кривой индукции флуоресценции

При работе с экспериментальными данными часто приходится варьировать параметры модели в зависимости от конкретного объекта исследования. Это связано с тем, что строение фотосинтетического аппарата (размер антенны, константы скорости взаимодействия некоторых переносчиков электрона и т. п.) у различных фотосинтезирующих организмов может иметь отличия, значительно влияющие на форму кривой индукции флуоресценции (КИФ).

Мы провели исследование модели путем вариации каждого из доступных параметров и получили серии кривых, благодаря которым можно оценить область, характер и степень влияния каждого из параметров на форму КИФ. Это значительно упрощает процесс подготовки модели к расчетам на основании экспериментальных данных, полученных на новом объекте исследований.

В качестве контроля выступает набор параметров, соответствующий нормальной работе фотосинтетического аппарата, без каких-либо воздействий.

На рис. 3 показано влияние константы, отвечающей за переход $S_3 \rightarrow S_0$ в кислород-выделяющем комплексе (КВК). Это самый медленный из четырех возможных переходов, и он определяет эффективность работы КВК в целом.

Рис. 3, *a* иллюстрирует чувствительность формы индукционной кривой к изменению параметров переноса электрона в пределах кислород-выделяющего комплекса (нижняя часть рис. 1, *b*). Из рис. 3, *a* видно, что увеличение константы скорости наиболее медленного из переходов между состояниями кислород-выделяющего комплекса приводит к смещению участка J в сторону меньших времен и практически не влияет на форму участков OJ и IP . Между тем изменение константы скорости переноса электрона между Yz^- и $P680^+$ при КВК, находящемся в состоянии S_0 или S_1 , в пределах от $1 \times 10^7 \text{ c}^{-1}$ до $1 \times 10^8 \text{ c}^{-1}$ не влияет существенно на форму индукционной кривой. Этот результат свидетельствует в пользу возможности использования участка J в качестве характеристики активности КВК [Guissé et al., 1995; Tóth et al., 2007; Tóth et al., 2011].

Таблица 1. Константы скоростей реакций, используемые в модели

Константа скорости перехода из состояния S_0 в состояние S_1	$5 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1}$	[Razeghifard et al., 1997]
Константа скорости перехода из состояния S_1 в состояние S_2	$3 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1}$	[Razeghifard et al., 1997]
Константа скорости перехода из состояния S_2 в состояние S_3	$1 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1}$	[Razeghifard et al., 1997]
Константа скорости перехода из состояния S_3 в состояние S_0	$3 \cdot 10^3 \text{ c}^{-1}$	[Razeghifard et al., 1997]
Константа скорости восстановления $P680^+$ тирозином Yz	$5 \cdot 10^7 \text{ c}^{-1}$	[Kretschmann et al., 1996]
Константа скорости переноса электрона от $P680$ к Yz^+	$1 \cdot 10^6 \text{ c}^{-1}$	[Kretschmann et al., 1996; Lazár, 2003]
Константа скорости разделения зарядов в открытом реакционном центре ФС2	$2.5 \cdot 10^{10} \text{ c}^{-1}$	[Dau, 1994]
Константа скорости рекомбинации зарядов между $P680^+$ и $Фео^-$ в открытом реакционном центре ФС2	$3 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	[Dau, 1994]
Константа скорости разделения зарядов в закрытом реакционном центре ФС2	$4 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$	[Dau, 1994]
Константа скорости рекомбинации заряда между $Фео^-$ и $P680^+$ в закрытом реакционном центре ФС2	$9 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	[Dau, 1994]
Константа скорости переноса электрона от $Фео^-$ к QA	$2 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$	[Dau, 1994]
Константа скорости переноса электрона от QA ⁻ к QB	2500 c^{-1}	[Lazár, 1999]
Константа скорости переноса электрона от QB ⁻ к QA	175 c^{-1}	[Lazár, 2003; Lazár, 1999]
Константа скорости переноса электрона от QA ⁻ к QB ⁻	2500 c^{-1}	[Lazár, 2003; Lazár, 1999]
Константа скорости переноса электрона от QB2 ⁻ к QA	250 c^{-1}	[Lazár, 2003; Lazár, 1999]
Константа скорости отсоединения QBH2 от ФС2	1500 c^{-1}	Оценено согласно модели [Lazár, 1999; Lazár, Jablonský, 2009]
Константа скорости присоединения PQH2 (QBH2) к ФС2	1500 c^{-1}	Оценено согласно модели [Lazár, 1999; Lazár, Jablonský, 2009]
Константа скорости присоединения PQ (QB) к ФС2	1500 c^{-1}	Оценено согласно модели [Lazár, 1999; Lazár, Jablonský, 2009]
Константа скорости отсоединения QB от ФС2	1500 c^{-1}	Оценено согласно модели [Lazár, 1999; Lazár, Jablonský, 2009]
Константа скорости окисления PQH2 цитохромным комплексом b6/f	200 c^{-1}	[Crofts et al., 1993]
Константа скорости безызлучательной рекомбинации заряда между $P680^+$ и $Фео^-$ в закрытом реакционном центре	$1 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$	[Dau, 1994]
Константа скорости восстановления цитохрома b559 феофитином $Фео^-$	$2.3 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$	[Canaani, 1990]
Константа скорости восстановления $P680^+$ цитохромом b559	667 c^{-1}	[Canaani, 1990]
Константа скорости рекомбинации зарядов между $P680^+$ и QA ⁻	$5 \cdot 10^2 \text{ c}^{-1}$	[Haveman, 1976; Renger, 1976]
Константа скорости испускания квантов флуоресценции возбужденными реакционными центрами	$6.7 \cdot 10^7 \text{ c}^{-1}$	[Rabinovich, Govindjee, 1969]
Количество фотонов, попадающих в антенну одного реакционного центра ФС2 в секунду	1500 c^{-1}	[Lazár, Pospíšil, 1999; Lazár, 2003]
Количество фотонов, попадающих в антенну одного реакционного центра ФС1 в секунду	1500 c^{-1}	
Константа скорости тушения возбужденного состояния окисленным хлорофиллом реакционного центра $P680^+$	$1 \cdot 10^{10} \text{ c}^{-1}$	[Gorbunov et al., 2011]
Константа скорости переноса возбуждения из антенны ФС2 к $P680$	$7.6 \cdot 10^{10} - 2.4 \cdot 10^{11} \text{ c}^{-1}$	[Holzwarth et al., 2006]
Константа скорости переноса возбуждения от $P680$ к антенне ФС2	$1.44 \cdot 10^{11} - 2.4 \cdot 10^{11} \text{ c}^{-1}$	[Holzwarth et al., 2006]

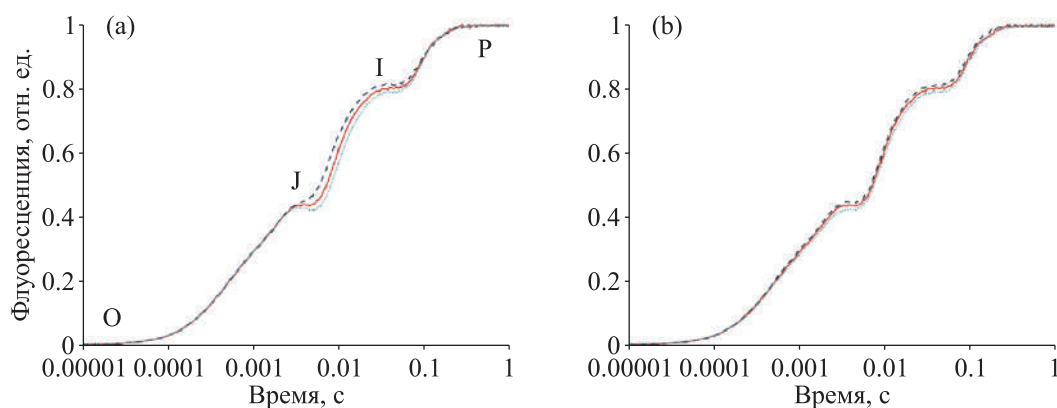


Рис. 3. а) Влияние константы скорости перехода $S_3 \rightarrow S_0$ в КВК. Сплошная линия — контроль, значение константы — 500 с^{-1} . Длинный пунктир — 750 с^{-1} . Короткий пунктир — 400 с^{-1} . Буквами О, J, I и Р обозначены характерные фазы кривой индукции флуоресценции. б) Влияние константы скорости переноса электрона между Yz^- и $P680^+$ при КВК, находящемся в состоянии S_0 или S_1 . Сплошная линия — контроль, значение константы — $5 \times 10^7 \text{ с}^{-1}$. Длинный пунктир — $1 \times 10^7 \text{ с}^{-1}$. Короткий пунктир — $1 \times 10^8 \text{ с}^{-1}$

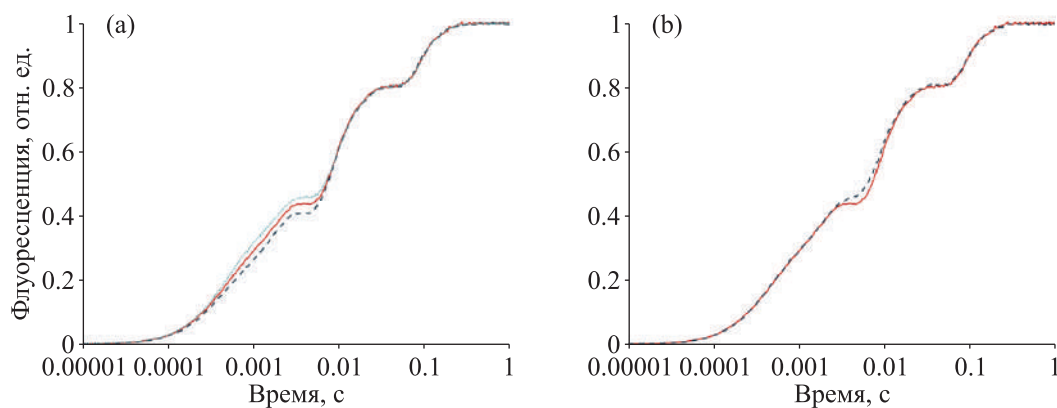


Рис. 4. а) Влияние константы скорости переноса электрона между Qa^- и Qb, Qb^- . Сплошная линия — контроль, значение константы — 2500 с^{-1} . Длинный пунктир — 3000 с^{-1} . Короткий пунктир — 2000 с^{-1} . б) Влияние константы скорости нефотохимического тушения флуоресценции окисленной формой хлорофилла реакционного центра $P680^+$. Сплошная линия — контроль, значение константы — $1 \times 10^{10} \text{ с}^{-1}$. Длинный пунктир — $1 \times 10^9 \text{ с}^{-1}$

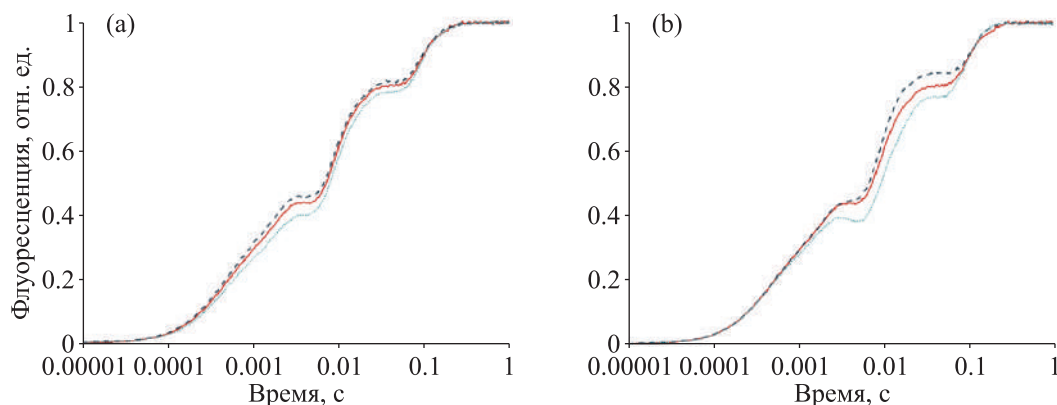


Рис. 5. а) Влияние константы скорости нефотохимического тушения флуоресценции окисленной формой PQ. Сплошная линия — контроль, значение константы — $4 \times 10^7 \text{ с}^{-1}$. Длинный пунктир — $2 \times 10^7 \text{ с}^{-1}$. Короткий пунктир — $8 \times 10^7 \text{ с}^{-1}$. б) Влияние объема пула PQ, доступного одной модельной единице (ФС2, b6/f-комплекс). Сплошная линия — контроль, объем пула — 6 молекул PQ. Длинный пунктир — 5 молекул PQ. Короткий пунктир — 7 молекул PQ

Рис. 4, *a* иллюстрирует влияние константы скорости переноса электрона между Qa^- и Qb , видно, что величина константы сказывается лишь на терминальном участке стадии ОJ и не сказывается на двух последующих участках индукционной кривой.

Рис. 7, *a* демонстрирует влияние доли β -центров на форму КИФ. β -центры имеют меньшую, чем α -центры, эффективную площадь сечения поглощения антенны и, в отличие от α -центров, не способны формировать суперкомплекс, объединяющий две или более ФС2 через общий антенный комплекс [Lavergne, 1996].

Особый интерес представляет исследование влияния характеристик PQ-пула на форму индукционных кривых, поскольку именно состояние PQ-пула существенно меняется при метаболических перестройках растительной клетки в состоянии голодания, в присутствии тяжелых металлов и других стрессовых условиях [Antal et al., 2018]. Рис. 5, *b* демонстрирует существенное влияние объема пула PQ, доступного одной модельной единице, на форму индукционной кривой на участке II. Рис. 6, *b* показывает, что даже 10-е % увеличение восстановленности пула приводит к существенному изменению формы кривой в окрестности точки J. Влияние наличия взаимодействия между отдельными электрон-транспортными цепями иллюстрирует рис. 7, *b*. Видно, что наличие такого взаимодействия приводит к уменьшению наклона кривой на участке II, что соответствует более равномерному распределению электронов между отдельными фотосинтетическими цепями.

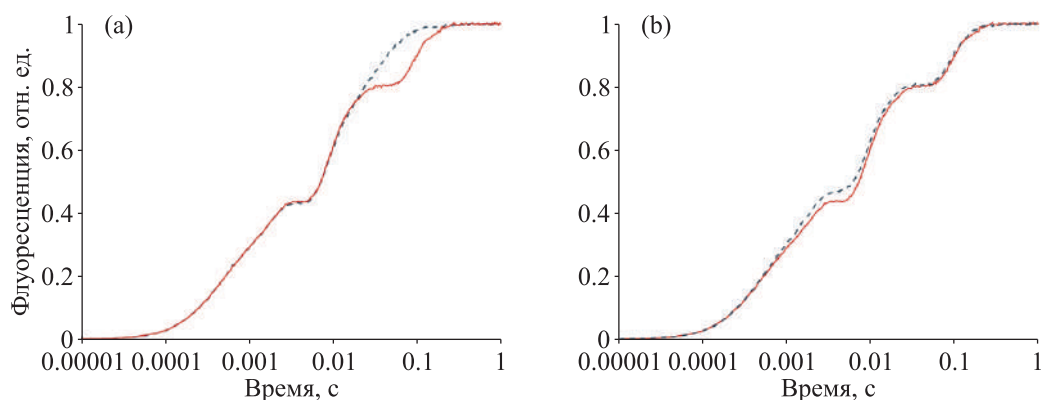


Рис. 6. а) Влияние объема пула РС, доступного одной модельной единице (b6/f-комплекс, ФС1). Сплошная линия — контроль, объем пула — 2 молекулы РС. Длинный пунктир — 1 молекула РС. б) Влияние начальной степени восстановленности пула PQ. Сплошная линия — контроль, пул PQ в начальный момент времени полностью окислен. Длинный пунктир — пул PQ восстановлен на 10 %

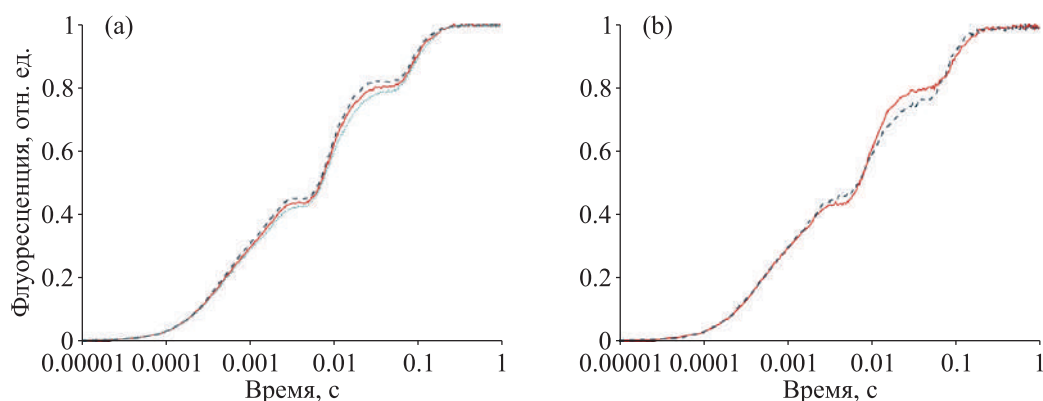


Рис. 7. а) Влияние доли β -центров среди всех реакционных центров в модельной системе. Сплошная линия — контроль, доля β -центров — 35 %. Длинный пунктир — 10 %. Короткий пунктир — 50 %. б) Влияние взаимодействия соседствующих реакционных центров через общий пул PQ. Сплошная линия — контроль, взаимодействие между модельными единицами через общий пул PQ отсутствует. Длинный пунктир — размер кластера реакционных центров, взаимодействующих через общий пул PQ — 20 модельных единиц

Верификация модели

Для верификации модели использовали данные, полученные с помощью флуориметра МРЕА2 (Hansatech). Как правило, для верификации моделей электронного транспорта в фотосинтетической мембране используют экспериментальные данные, полученные при действии на растение ингибиторов фотосинтеза, таких как DCMU (диурон), DBMIB (дибромтимохинон), MV (метилвиологен) и др. Механизм их действия хорошо изучен, что позволяет легко воспроизвести его в модели. Кроме того, есть большое количество экспериментальных данных, демонстрирующих изменения кривой индукции флуоресценции, вызванные действием того или иного ингибитора, что позволяет сопоставить качественные изменения в сравнении с контролем для экспериментальных и модельных данных.

Полученные результаты показывают, что изменения, наблюдаемые на модельных кривых при имитации действия ингибиторов фотосинтеза, хорошо согласуются с изменениями, наблюдаемыми в эксперименте, и качественно их повторяют.

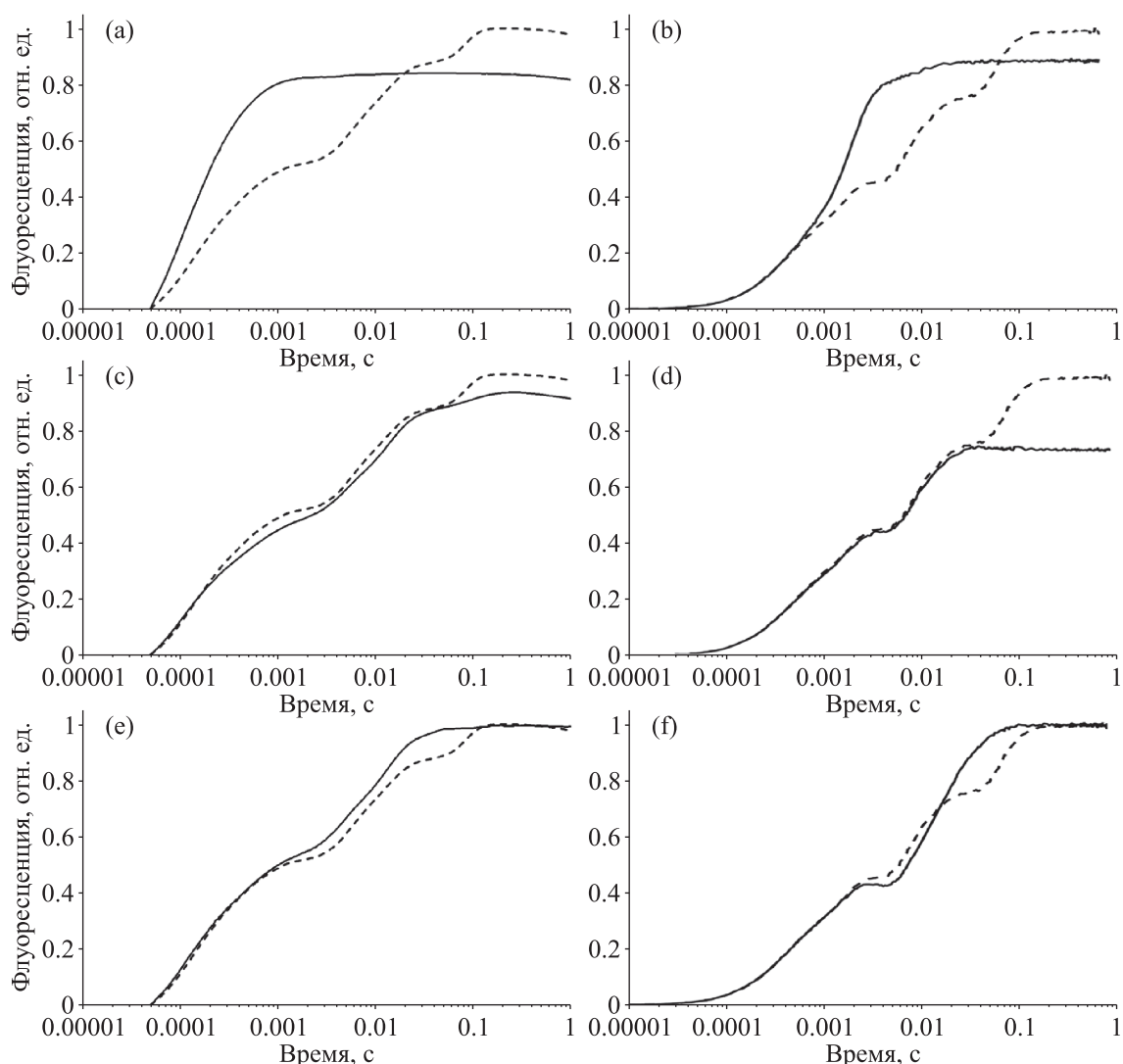


Рис. 8. Изменения кривой индукции флуоресценции, наблюдаемые при воздействии ингибитором (сплошная линия) по отношению к контролю (пунктирная линия): а) диурон, экспериментальные данные [Маслаков et al., 2016]; б) диурон, результат моделирования; в) метилвиологен, экспериментальные данные [Маслаков et al., 2016]; д) метилвиологен, результат моделирования; е) дибромтимохинон, экспериментальные данные [Маслаков et al., 2016]; ф) дибромтимохинон, результат моделирования

Обсуждение

В работе сформулирована усовершенствованная версия стохастической модели процессов фотосинтетического электронного транспорта. Большинство существующих моделей фотосинтетического электронного транспорта направлено на оценку параметров переноса электрона в фотосистеме 2 и неких обобщенных характеристик дальнейшего переноса электрона по цепи. В отличие от существующих кинетических и Монте-Карло моделей фотосинтеза данная модель позволяет по характеру индукционной кривой оценивать параметры электрон-транспортной цепи, связанные с размерами пулов подвижных переносчиков: пула молекул P_s в люминальном пространстве и внутримембранного пула молекул PQ. Известно, что именно этот участок является ключевым при действии стресса и переключении метаболических путей автотрофной клетки, например с пути поглощения углерода на путь выделения молекулярного водорода [Antal et al., 2011; Nagy et al., 2012; Volgusheva et al., 2016].

Модель учитывает прямой перенос электрона между цитохромным b₆/f-комплексом и ФС1, осуществляемый молекулами ПЦ, и обратный перенос электрона, осуществляемый молекулами ферредоксина ФД. Это позволяет использовать модель для изучения влияния интенсивности циклического транспорта электронов вокруг ФС1 на кинетику реокисления хлорофилла реакционного центра ФС1 P700.

В модели добавлена возможность взаимодействия соседствующих реакционных центров через общий пул PQ. Для этого в начале симуляции в модельной системе создается кластер из 20 реакционных центров, объединенных общим пулом PQ. Это позволяет, например, моделировать ситуацию, когда значительная часть реакционных центров теряет способность к восстановлению PQ-пула. В этом случае степень его восстановленности меняется за счет соседствующих интактных реакционных центров.

Благодаря более производительному алгоритму и использованию GPU для генерации случайных чисел эта версия модели требует меньших вычислительных ресурсов, чем предыдущая, что позволяет производить расчеты на обычном настольном ПК. Расчеты с использованием предыдущей версии модели производили на суперкомпьютере «Ломоносов», задействуя десятки вычислительных узлов. Благодаря усовершенствованному алгоритму модель может быть использована для анализа кинетических кривых индукции флуоресценции при биотестировании для оценки экологического состояния, а также при мониторинге культур микроводорослей, выращиваемых для получения целевого продукта в биофотореакторах.

Благодарность

Хочу поблагодарить Ризниченко Галину Юрьевну, Хрущёва Сергея Сергеевича и Антала Тараса Корнелиевича за обсуждение и полезные рекомендации при подготовке и написании статьи.

Список литературы (References)

- Маслаков А. С., Антал Т. К., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. Моделирование первичных процессов фотосинтеза с помощью кинетического метода Монте-Карло // Биофизика. — 2016. — Т. 61, № 3. — С. 464–477.
- Maslakov A. S., Antal T. K., Riznichenko G. Yu., Rubin A. B. Modeling of primary photosynthetic processes using the kinetic Monte Carlo method // Biophysics. — 2016. — Vol. 61, No. 3. — P. 387–399. (Original Russian paper: Maslakov A. S., Antal T. K., Riznichenko G. Yu., Rubin A. B. Modelirovanie pervichnykh protsessov fotosinteza s pomoshch'yu kineticheskogo metoda Monte-Karlo // Biofizika. — 2016. — Vol. 61, No. 3. — P. 464–477.)
- Antal T., Konyukhov I., Volgusheva A., Plyusnina T., Khrushev S., Kukarskikh G., Goryachev S., Rubin A. Chlorophyll fluorescence induction and relaxation system for the continuous monitoring of photosynthetic capacity in photobioreactors // Physiologia Plantarum. — 2018. — Vol. 165, No. 3. — P. 476–486.

- Antal T. K., Krendeleva T. E., Rubin A. B.* Acclimation of green algae to sulfur deficiency: underlying mechanisms and application for hydrogen production // *Microbiol Biotechnol.* — 2011. — Vol. 89. — P. 3–15.
- Belyaeva N., Schmitt F., Paschenko V., Riznichenko G., Rubin A., Renger G.* Model based analysis of transient fluorescence yield induced by actinic laser flashes in spinach leaves and cells of green alga *Chlorella pyrenoidosa* Chick // *Plant Physiology and Biochemistry.* — 2014. — Vol. 77. — P. 49–59.
- Canaani O., Havaux M.* Evidence for a biological role in photosynthesis for cytochrome b-559--a component of photosystem II reaction center // *Proc Natl Acad Sci U S A.* — 1990. — Vol. 87, No. 23. — P. 9295-9.
- Crofts A. R., Baroli I., Kramer D., Taoka S.* Kinetics of electron transfer between QA and QB in wild type and herbicide-resistant mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* // *Zeitschrift für Naturforschung C.* — 1993. — Vol. 48, No. 3-4. — P. 259–266.
- Dau H.* New trends in photobiology: Short-term adaptation of plants to changing light intensities and its relation to Photosystem II photochemistry and fluorescence emission // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* — 1994. — Vol. 26, No. 1. — P. 3–27.
- Gillespie D.* A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions // *Journal of Computational Physics.* — 1976. — Vol. 22, No. 4. — P. 403–434.
- Gorbunov M. Yu., Kuzminov F. I., Fadeev V. V., Kim J. D., Falkowski P. G.* A kinetic model of nonphotochemical quenching in cyanobacteria. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Bioenergetics.* — 2011. — Vol. 1807, No. 12. — P. 1591–1599.
- Govindjee.* Photosystem II: The Light-Driven Water: Plastoquinone Oxidoreductase, edited by Thomas J. Wydrzynski and Kimiyuki Satoh, Volume 22, *Advances in Photosynthesis and Respiration*, Springer, Dordrecht, The Netherlands // *Photosynthesis Research.* — 2006. — Vol. 87, No. 3. — P. 331–335.
- Guissé B., Srivastava A., Strasser R. J.* The polyphasic rise of the chlorophyll a fluorescence (O-K-J-I-P) in heat-stressed leaves // *Arch Sci Geneva.* — 1995. — Vol. 48. — P. 147–160.
- Haveman J., Mathis P.* Flash-induced absorption changes of the primary donor of Photosystem II at 820 nm in chloroplasts inhibited by low pH or Tris-treatment // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics.* — 1976. — Vol. 440, No. 2. — P. 346–355.
- Holzwarth A. R., Müller M. G., Reus M., Nowaczyk M., Sander J., Rögner M.* Kinetics and mechanism of electron transfer in intact photosystem II and in the isolated reaction center: pheophytin is the primary electron acceptor // *Proc Natl Acad Sci U S A.* — 2006. — Vol. 103, No. 18. — P. 6895–6900.
- Johnson G. N.* Physiology of PSI cyclic electron transport in higher plants // *Biochim Biophys Acta.* — 2011. — Vol. 1807, No. 3. — P. 384–389.
- Kalaji H. M., Goltsev V. N., Żuk-Golaszewska K., Zivcak M., Brestic M.* Chlorophyll fluorescence: understanding crop performance — basics and applications // *CRC Press, Boca Raton.* — 2017. — P. 222.
- Kalos M. H., Whitlock P. A.* Monte Carlo methods. — Weinheim: Wiley, 2008. — P. 203.
- Kok B., Forbush B., McGloin M.* Cooperation of charges in photosynthetic O₂ evolution — I. A linear four step mechanism // *Photochemistry and Photobiology.* — 1970. — Vol. 11, No. 6. — P. 457–475.
- Kretschmann H., Schlodder E., Witt H. T.* Net charge oscillation and proton release during water oxidation in photosynthesis. An electrochromic band shift study at pH 5.5–7.0 // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Bioenergetics.* — 1996. — Vol. 1274, No. 1–2. — P. 1–8.
- Kroese D. P., Taimre T., Botev Z. I.* Handbook of Monte Carlo methods, 1st edn. — New York: Wiley, 2011. — P. 772.

- Lavergne J., Briantais J. M.* Photosystem II heterogeneity // In Oxygenic photosynthesis: The light reactions. Springer, Dordrecht. — 1996. — P. 265–287.
- Lazár D.* Chlorophyll a fluorescence induction // *Biochim Biophys Acta*. — 1999. — Vol. 1412, No. 1. — P. 1–28.
- Lazár D., Pospíšil P.* Mathematical simulation of chlorophyll a fluorescence rise measured with 3-(3', 4'-dichlorophenyl)-1, 1-dimethylurea-treated barley leaves at room and high temperatures // *European Biophysics Journal*. — 1999. — Vol. 28, No. 6. — P. 468–477.
- Lazár D.* Chlorophyll a Fluorescence Rise Induced by High Light Illumination of Dark-adapted Plant Tissue Studied by Means of a Model of Photosystem II and Considering Photosystem II Heterogeneity // *Journal of Theoretical Biology*. — 2003. — Vol. 220, No. 4. — P. 469–503.
- Lazár D.* Modelling of light-induced chlorophyll a fluorescence rise (O-J-I-P transient) and changes in 820 nm-transmittance signal of photosynthesis // *Photosynthetica*. — 2009. — Vol. 47, No. 4. — P. 483–498.
- Lazár D., Jablonský J.* On the approaches applied in formulation of a kinetic model of photosystem II: different approaches lead to different simulations of the chlorophyll a fluorescence transients // *Journal of theoretical biology*. — 2009. — Vol. 257, No. 2. — P. 260–269.
- Lazár D.* Simulations show that a small part of variable chlorophyll a fluorescence originates in photosystem I and contributes to overall fluorescence rise // *Journal of Theoretical Biology*. — 2013. — Vol. 335. — P. 249–264.
- Melis A.* Functional properties of Photosystem II β in spinach chloroplasts // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Bioenergetics*. — 1985 — Vol. 808, No. 2. — P. 334–342.
- Melis A., Homann P. H.* Heterogeneity of the photochemical centers in system II of chloroplasts // *Photochemistry and Photobiology*. — 1976. — Vol. 23. — P. 343–350.
- Mitchell P.* The protonmotive Q cycle: A general formulation // *FEBS Letters*. — 1975. — Vol. 59, No. 2. — P. 137–139.
- Murchie E. H., Lawson T.* Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications // *J Exp Botany*. — 2013. — Vol. 64. — P. 3983–3998.
- Nagy V., Tengölics R., Schansker G., Rákhely G., Kovács K. L., Garab G., Tóth S. Z.* Stimulatory effect of ascorbate, the alternative electron donor of photosystem II, on the hydrogen production of sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* // *Int J Hydrog Energy*. — 2012. — Vol. 37. — P. 8864–8871.
- Rabinovich E., Govindjee.* Photosynthesis // Interscience Publishers Inc., Wiley, New York. — 1969.
- Razeghifard M. R., Klughammer C., Pace R. J.* Electron paramagnetic resonance kinetic studies of the S states in spinach thylakoids // *Biochemistry*. — 1997. — Vol. 36, No. 1. — P. 86–92.
- Renger G., Wolff C.* The existence of a high photochemical turnover rate at the reaction centers of system II in Tris-washed chloroplasts // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Bioenergetics*. — 1976. — Vol. 423, No. 3. — P. 610–614.
- Riznichenko G., Belyaeva N., Kovalenko I., Rubin A.* Mathematical and computer modeling of primary photosynthetic processes // *Biophysics*. — 2009. — Vol. 54, No. 1. — P. 10–22.
- Rubinstein R., Kroese D.* Simulation and the Monte Carlo method. — 2nd edn. — New York: Wiley, 2011. — P. 355.
- Stirbet A., Govindjee.* On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. — 2011. — Vol. 104, No. 1-2. — P. 236–257.
- Stirbet A., Govindjee.* The slow phase of chlorophyll a fluorescence induction in silico: Origin of the S–M fluorescence rise // *Photosynthesis Research*. — 2016. — Vol. 130, No. 1–3. — P. 193–213.

- Strasser R., Tsimilli-Michael M.* Activity and Heterogeneity of PSII Probed in Vivo by the Chlorophyll a Fluorescence Rise O-(K)-J-I-P // Garab G. (eds.). *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*. — Springer, 1998. — P. 4321–4324.
- Suggett D., Prášil O., Borowitzka M. A.* Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications. — Dordrecht: Springer, 2011. — P. 326.
- Tóth S. Z., Schansker G., Garab G., Strasser R. J.* Photosynthetic electron transport activity in heat-treated barley leaves: the role of internal alternative electron donors to photosystem II // *Biochim Biophys Acta*. — 2007. — Vol. 1767. — P. 295–305.
- Tóth S. Z., Nagy V., Puthur J. T., Kovács L., Garab G.* The physiological role of ascorbate as photosystem II electron donor: protection against photoinactivation in heat-stressed leaves // *Plant Physiol*. — 2011. — Vol. 156. — P. 382–392.
- Volgusheva A., Kruse O., Styring S., Mamedov F.* Changes in the photosystem II complex associated with hydrogen formation in sulfur deprived *Chlamydomonas reinhardtii* // *Algal Res*. — 2016. — Vol. 18. — P. 296–304.
- Zhu X., Govindjee, Baker N., deSturler E., Ort D., Long S.* Chlorophyll a fluorescence induction kinetics in leaves predicted from a model describing each discrete step of excitation energy and electron transfer associated with Photosystem II // *Planta*. — 2005. — Vol. 223, No. 1. — P. 114–133.

