

УДК: 577.355+581.132+51-76

## Анализ скорости электронного транспорта через фотосинтетический цитохромный $b_6f$ -комплекс

С. С. Хрущев<sup>а</sup>, П. В. Фурсова, Т. Ю. Плюсина, Г. Ю. Ризниченко,  
А. Б. Рубин

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова  
Россия, 119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

E-mail: <sup>а</sup> styx@biophys.msu.ru

Получено 03.06.2024, после доработки — 04.08.2024.

Принято к публикации 12.08.2024.

Рассматривается основанный на методах линейной алгебры подход к анализу скорости электронного транспорта через цитохромный  $b_6f$ -комплекс. В предложенном подходе зависимость квазистационарного потока электронов через комплекс от степени восстановленности пулов мобильных переносчиков электрона выступает в качестве функции отклика, характеризующей этот процесс. Разработано программное обеспечение на языке программирования Python, позволяющее построить основное кинетическое уравнение для комплекса по схеме элементарных реакций и вычислить квазистационарные скорости электронного транспорта через комплекс и динамику их изменения в ходе переходного процесса. Вычисления проводятся в многопоточном режиме, что позволяет эффективно использовать ресурсы современных вычислительных систем и за сравнительно небольшое время получать данные о функционировании комплекса в широком диапазоне параметров. Предложенный подход может быть легко адаптирован для анализа электронного транспорта в других компонентах фотосинтетической и дыхательной электрон-транспортной цепи, а также других процессов в сложных мультиферментных комплексах, содержащих несколько реакционных центров. Для параметризации модели цитохромного  $b_6f$ -комплекса использованы данные криоэлектронной микроскопии и окислительно-восстановительного титрования. Получены зависимости квазистационарной скорости восстановления пластоцианина и окисления пластохинона от степени восстановленности пулов мобильных переносчиков электрона и проанализирована динамика изменения скорости в ответ на изменение редокс-состояния пула пластохинонов. Результаты моделирования находятся в хорошем согласовании с имеющимися экспериментальными данными.

Ключевые слова: фотосинтез, электронный транспорт, основное кинетическое уравнение, функция отклика, цитохромный комплекс

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 22-11-00009.

© 2024 Сергей Сергеевич Хрущев, Полина Викторовна Фурсова, Татьяна Юрьевна Плюсина, Галина Юрьевна Ризниченко, Андрей Борисович Рубин

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Unported License.  
Чтобы получить текст лицензии, посетите веб-сайт <http://creativecommons.org/licenses/by-nd/3.0/>  
или отправьте письмо в Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA.

UDC: 577.355+581.132+51-76

## Analysis of the rate of electron transport through photosynthetic cytochrome $b_6f$ complex

S. S. Khruschev<sup>a</sup>, P. V. Fursova, T. Yu. Plusnina, G. Yu. Riznichenko,  
A. B. Rubin

Lomonosov Moscow State University,  
1/12 Leninskie Gory, Moscow, 119992, Russia

E-mail: <sup>a</sup> styx@biophys.msu.ru

Received 03.06.2024, after completion — 04.08.2024.

Accepted for publication 12.08.2024.

We consider an approach based on linear algebra methods to analyze the rate of electron transport through the cytochrome  $b_6f$  complex. In the proposed approach, the dependence of the quasi-stationary electron flux through the complex on the degree of reduction of pools of mobile electron carriers is considered a response function characterizing this process. We have developed software in the Python programming language that allows us to construct the master equation for the complex according to the scheme of elementary reactions and calculate quasi-stationary electron transport rates through the complex and the dynamics of their changes during the transition process. The calculations are performed in multithreaded mode, which makes it possible to efficiently use the resources of modern computing systems and to obtain data on the functioning of the complex in a wide range of parameters in a relatively short time. The proposed approach can be easily adapted for the analysis of electron transport in other components of the photosynthetic and respiratory electron-transport chain, as well as other processes in multienzyme complexes containing several reaction centers. Cryo-electron microscopy and redox titration data were used to parameterize the model of cytochrome  $b_6f$  complex. We obtained dependences of the quasi-stationary rate of plastocyanin reduction and plastoquinone oxidation on the degree of reduction of pools of mobile electron carriers and analyzed the dynamics of rate changes in response to changes in the redox state of the plastoquinone pool. The modeling results are in good agreement with the available experimental data.

Keywords: photosynthesis, electron transport, master equation, response function, cytochrome complex

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2024, vol. 16, no. 4, pp. 997–1022 (Russian).

The work was supported by Russian Science Foundation, grant No. 22-11-00009.

## Введение

Фотосинтез является ключевым процессом, обеспечивающим существование жизни на Земле. В ходе фотосинтеза за счет энергии квантов света, поглощаемых молекулами хлорофилла, происходит окисление воды с образованием кислорода и синтез органических веществ (в первую очередь сахаров) из неорганических (углекислого газа и воды). У высших растений и зеленых водорослей фотосинтез происходит в специализированных компартментах клетки — хлоропластах, имеющих достаточно сложную структуру (см. рис. 1), и включает в себя множество элементарных процессов (реакций). В этом множестве принято выделять так называемые первичные процессы фотосинтеза (световые реакции), происходящие в тилакоидной мембране при поглощении квантов света. За счет энергии кванта света в реакционных центрах фотосистем 1 и 2 (ФС1 и ФС2) происходит разделение зарядов, приводящее к появлению крайне реакционноспособных анион- и катион-радикалов. Благодаря цепи окислительно-восстановительных реакций происходит накопление промежуточных соединений, в первую очередь восстановленной формы никотинамиддинуклеотидфосфата (НАДФН) и аденозинтрифосфата (АТФ), которые в дальнейшем служат источником энергии для большинства биохимических процессов, в первую очередь используются в биохимических процессах синтеза сахаров (пентозофосфатный цикл Кальвина–Бенсона–Бассема и цикл Хэтча–Слэка) и других органических соединений (аминокислот, липидов и др.).

Хотя квантовый выход первичных процессов разделения зарядов в реакционных центрах ФС1 и ФС2 близок к 100 %, общая энергетическая эффективность фотосинтеза невысока: у большинства культурных растений только 1–2 % поглощенной солнечной энергии трансформируется в биомассу [Blankenship et al., 2011]. Действие неблагоприятных факторов среды приводит к еще большему снижению эффективности фотосинтеза, что приводит к снижению биомассы и, следовательно, урожайности культур. В связи с этим чрезвычайно актуальной задачей является разработка методов, позволяющих оперативно обнаруживать снижение эффективности фотосинтеза и выявлять причины этого снижения. К настоящему времени разработаны высокоточные биофизические методы, позволяющие по данным неинвазивных оптических измерений оценить активность ФС1 и ФС2 [Kalaji et al., 2014; Kalaji et al., 2016; Klughammer, Schreiber, 1994; Klughammer, Schreiber, 2008a; Klughammer, Schreiber, 2008b]. Создание математических моделей фотосинтетических процессов и их идентификация по экспериментальным данным позволяют получить комплексное понимание того, как факторы внешней среды влияют на эффективность фотосинтеза. Для описания первичных процессов фотосинтеза обычно используются динамические модели в виде системы обыкновенных дифференциальных уравнений (ОДУ) с использованием формализма химической кинетики (закона действующих масс) [Ризниченко и др., 2022]. Детальное рассмотрение всех процессов, происходящих в фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ЭТЦ), требует создания подробных моделей, число дифференциальных уравнений для отдельных состояний компонентов в которых составляет от десятков тысяч до миллионов. Анализ поведения моделей большой размерности представляет собой непростую задачу, для решения которой пока нет общепринятых методов. В данной работе мы рассмотрим несколько подходов к анализу таких систем и созданию на их основе упрощенных моделей с меньшей размерностью.

## Анализ электронного потока в фотосинтетической ЭТЦ

Электронный поток в фотосинтетической ЭТЦ определяется несколькими факторами: интенсивностью поглощаемого фотосистемами света, активностью биохимических процессов и собственно пропускной способностью ЭТЦ. В природных условиях характерное время изменения интенсивности света больше по сравнению с характерными временами регуляторных процессов в фотосинтетическом аппарате (ФСА), поэтому наибольший интерес представляет

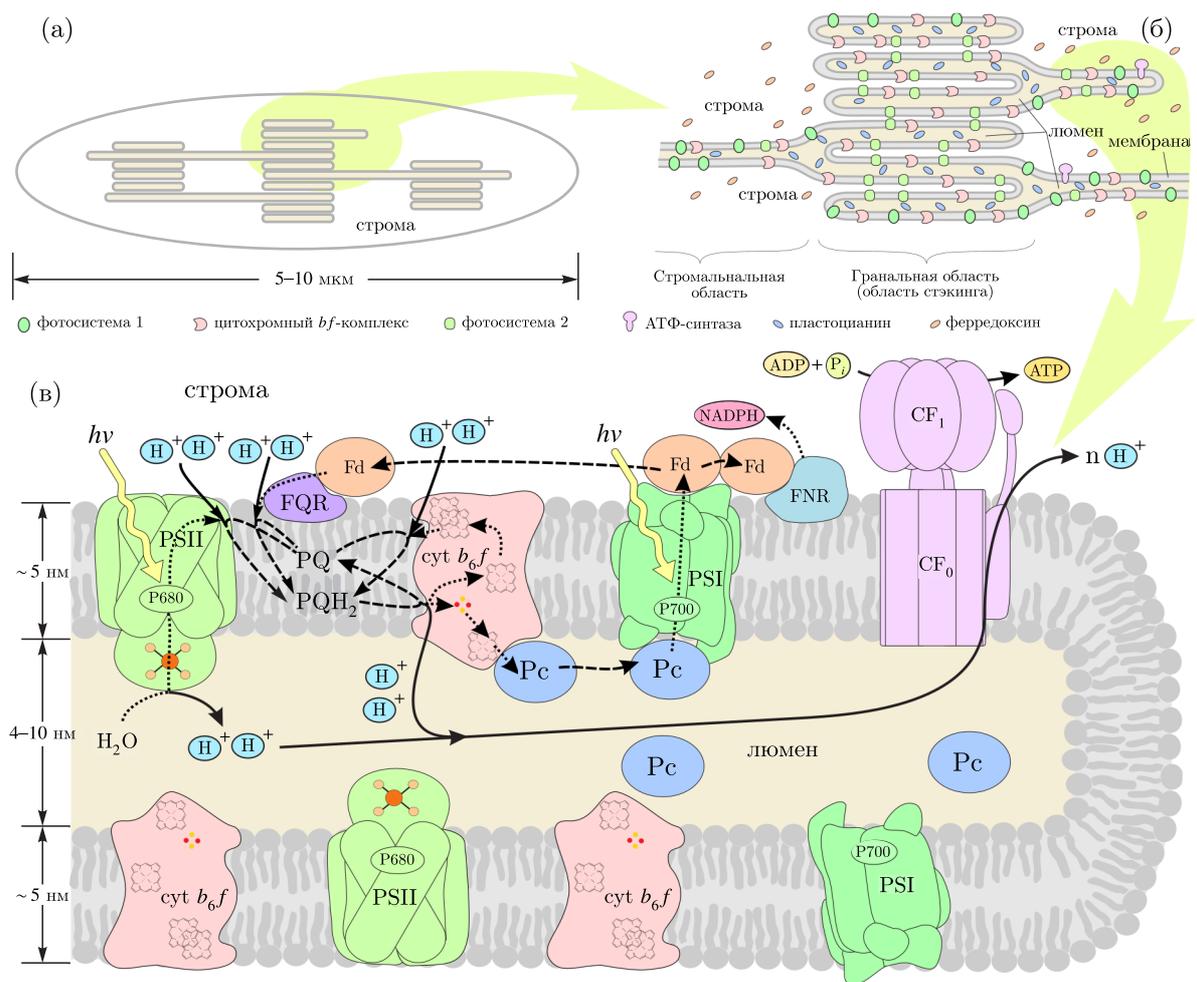


Рис. 1. Организация фотосинтетического аппарата у высших растений и зеленых водорослей: а) схематическое изображение хлоропласта; б) схематическое изображение граны тилакоидов (показано неравномерное распределение трансмембранных мультиферментных комплексов в тилакоидной мембране); в) схема фотосинтетического электронного транспорта. В мембраны встроены мультиферментные комплексы: PSI — фотосистема 1, PSII — фотосистема 2, *cyt b*<sub>6</sub>*f* — цитохромный *b*<sub>6</sub>*f*-комплекс, CF<sub>0</sub>/CF<sub>1</sub> — АТФ-синтаза. Вблизи наружной поверхности мембраны располагаются FNR — ферредоксин:НАДФ-редуктаза и гипотетический фермент FQR — ферредоксин:пластохинон-редуктаза. Перенос электронов между фотосистемой 2 и цитохромным *b*<sub>6</sub>*f*-комплексом обеспечивается подвижным переносчиком пластохиноном (PQ/PQH<sub>2</sub>), диффундирующим в липидном слое мембраны. В люминальном пространстве диффундирует подвижный переносчик электронов — белок пластоцианин (Pc); в строме — белок ферредоксин (Fd). Перенос электронов между редокс-центрами показан точечными стрелками, транспорт электронов за счет диффузии подвижных переносчиков — штриховыми, транспорт протонов — сплошными

величина стационарного потока электронов. В то же время большинство экспериментальных протоколов для оценки параметров ФСА основаны на регистрации динамики ответа ФСА на быстрое изменение внешних (обычно световых) условий. Таким образом, нам необходимы такие модели функционирования ФСА, идентификация параметров которых проводится по динамическим данным, а в качестве предсказания модели выступает зависимость стационарного потока электронов от внешних условий.

Фотосинтетическая ЭТЦ включает примерно два десятка редокс-кофакторов, большая часть которых сгруппирована в крупные трансмембранные белковые комплексы — ФС1, ФС2

и цитохромный  $b_6f$ -комплекс, которые взаимодействуют между собой с участием мобильных переносчиков электрона — пластохинона, пластоцианина и ферредоксина. Описание такой системы с использованием формализма химической кинетики предполагает, что для белковых комплексов, содержащих несколько редокс-центров, каждая комбинация их состояний должна рассматриваться как отдельный реагент. Происходящие в комплексе реакции можно представить в виде ориентированного графа, вершины которого соответствуют различным состояниям комплекса (то есть комбинациям состояний входящих в его состав активных центров), а ребра — реакциям перехода между этими состояниями. В большинстве случаев из вершины выходит несколько ребер, каждое из которых соответствует изменению состояния одного из активных центров комплекса. В общем случае граф состояний комплекса не является связным, то есть для какой-то пары состояний может отсутствовать последовательность реакций, приводящая к переходу из одного состояния в другое. Такое отсутствие связности может выражаться как в появлении изолированных вершин, то есть состояний, не участвующих ни в одной из химических реакций, так и в разбиении графа на несколько больших связных подграфов. Связность графа состояний может изменяться в зависимости от наличия или отсутствия в среде мобильных переносчиков электрона: добавление переносчика делает возможными те реакции, которые не происходят при его отсутствии.

### Основное кинетическое уравнение для комплекса

На основе графа состояний комплекса можно записать систему обыкновенных дифференциальных уравнений для концентраций комплексов в каждом из состояний, а также окисленных и восстановленных форм мобильных переносчиков электрона. В том случае, когда нас интересуют особенности функционирования одного типа комплексов отдельно от других компонентов ЭТЦ, удобно перейти к формализму основного кинетического уравнения (master equation), в котором переменными являются не концентрации состояний, а вероятности нахождения комплекса в каждом из состояний. В каждый момент времени система может быть описана вектором вероятностей  $\mathbf{p}$ , составленным из значений вероятности нахождения комплекса в каждом из возможных состояний. Сумма всех вероятностей (компонент вектора  $\mathbf{p}$ ) равна 1:

$$\sum_i p_i = 1, \quad (1)$$

значения компонент лежат в диапазоне  $0 \leq p_i \leq 1$ .

В случае несвязного графа для каждой компоненты связности сумма вероятностей нахождения комплекса в каждом из состояний, входящих в компоненту, не будет изменяться во времени и будет равна суммарной вероятности для этих состояний в начальном состоянии комплекса.

Основное кинетическое уравнение для вероятности нахождения комплекса в каждом из состояний линейно относительно  $\mathbf{p}$ :

$$\frac{d\mathbf{p}}{dt} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{p}, \quad (2)$$

где  $\mathbf{A}$  — матрица, характеризующая скорости перехода между состояниями.

Рассмотрим элементы матрицы  $a_{i,j}$ , где  $i$  соответствует номеру строки, а  $j$  — номеру столбца. Недиagonальные элементы матрицы  $\mathbf{A}$  определяют скорость увеличения вероятности нахождения комплекса в  $i$ -м состоянии в зависимости от вероятности его нахождения в  $j$ -м состоянии за счет соответствующей элементарной реакции. Элемент  $a_{i,j}$  равен нулю, если элементарная реакция, приводящая к трансформации  $j$ -го состояния комплекса в  $i$ -е, отсутствует. Если такая элементарная реакция существует и происходит без взаимодействия с другими реагентами (например, мобильными переносчиками электрона), элемент  $a_{i,j}$  равен значению константы скорости этой реакции. Для элементарных реакций, в которых происходит взаимодействие комплекса

с другими реагентами, элемент  $a_{i,j}$  равен произведению константы скорости реакции и концентрации соответствующего реагента. Таким образом, недиагональные элементы матрицы  $\mathbf{A}$  всегда неотрицательны.

Диагональные элементы  $a_{i,i}$  характеризуют уменьшение вероятности нахождения комплекса в  $i$ -м состоянии за счет всех возможных элементарных реакций, для которых это состояние является субстратом. Соответственно,

$$a_{i,i} = - \sum_{i,j \neq i} a_{i,j}, \quad (3)$$

то есть диагональные элементы представляют собой взятые с обратным знаком суммы недиагональных элементов каждого столбца матрицы  $\mathbf{A}$ . Соответственно, для каждого столбца

$$\sum_i a_{i,j} = 0. \quad (4)$$

Такое построение матрицы гарантирует, что она является вырожденной и по крайней мере одно из ее собственных значений равно нулю [Keizer, 1972]. Это можно показать исходя из свойств определителя матрицы. При добавлении к любой строке матрицы линейной комбинации других ее строк определитель не изменяется. Соответственно, вследствие (4) в матрице  $\mathbf{A}$  мы можем заменить любую строку строкой, состоящей из нулей. Следовательно, поскольку общий множитель элементов какой-либо строки можно вынести за знак определителя, определитель матрицы  $\mathbf{A}$  равен нулю, а значит, произведение собственных значений этой матрицы также равно нулю, что возможно только в том случае, если по крайней мере одно из собственных значений равно нулю.

В том случае, если граф переходов между состояниями комплекса является сильно связным, то есть для любой пары состояний  $i$  и  $j$  существует как путь из  $i$  в  $j$ , так и путь из  $j$  в  $i$ , нулю равно только одно из собственных значений [Keizer, 1972]; в противном случае нулю будут равны столько собственных значений, на сколько компонент сильной связности разбивается граф переходов между состояниями комплекса. Без потери общности мы можем рассматривать только ситуацию, когда все компоненты связности графа переходов между состояниями являются сильными. Это оправдано тем, что с точки зрения физической химии все реакции обратимы, условно необратимыми считаются реакции, для которых константа равновесия (отношение констант скорости прямой и обратной реакций) очень велика. Перенумеруем состояния так, чтобы сначала шли все состояния из одной компоненты связности, затем второй и т. д. Тогда матрица  $\mathbf{A}$  примет блочно-диагональный вид, и ее определитель будет равен произведению определителей блоков. Каждый блок обладает теми же свойствами, что и матрица для связного графа, а именно вырожденностью и нулевым собственным значением. Таким образом, кратность нулевого собственного значения будет равна количеству компонент сильной связности графа переходов между состояниями. Действительная часть остальных собственных значений отрицательна [Fernengel, Drossel, 2022]. Для простоты в дальнейшем мы рассматриваем граф, состоящий из одной компоненты сильной связности.

### ***Нахождение стационарного состояния комплекса***

Поскольку действительная часть всех собственных значений матрицы  $\mathbf{A}$  меньше или равна нулю, при  $t \rightarrow +\infty$  система стремится прийти в стационарное состояние  $\hat{\mathbf{p}}$ . В реальной биологической системе взаимодействие белкового комплекса с мобильными переносчиками электронов приводит к изменению их концентрации в среде и соответствующему изменению элементов матрицы  $\mathbf{A}$ . В том случае, если концентрации мобильных переносчиков значительно превышают концентрацию белковых комплексов, эти изменения концентрации пренебрежимо малы, и на

доступных для наблюдения временах мы можем рассматривать приближение системы к квазистационарному состоянию  $\bar{\mathbf{p}}$  при постоянной концентрации мобильных переносчиков электрона. Поскольку матрица  $\mathbf{A}$  зависит от параметров элементарных реакций и размеров и степени восстановленности пулов мобильных переносчиков электрона, вектор  $\bar{\mathbf{p}}$  также может рассматриваться как функция от этих параметров.

Вектор  $\bar{\mathbf{p}}$  пропорционален собственному вектору матрицы  $\mathbf{A}$ , соответствующему нулевому собственному значению, и, если мы знаем собственные значения и собственные вектора матрицы, может быть найден исходя из того, что сумма его компонент равна единице. Однако с вычислительной точки зрения такой способ нахождения квазистационарного состояния крайне неэффективен. Принимая, что в состоянии равновесия  $\frac{d\mathbf{p}}{dt} = \mathbf{0}$ , для нахождения квазистационарного состояния  $\bar{\mathbf{p}}$  достаточно решить систему линейных алгебраических уравнений

$$\mathbf{A} \cdot \mathbf{p} = \mathbf{0}. \quad (5)$$

Однородная система линейных уравнений всегда имеет тривиальное решение. Поскольку  $\det \mathbf{A} = 0$ , то система (5) имеет бесконечное множество ненулевых решений. Примем во внимание, что нас интересуют только те решения, которые удовлетворяют условию (1). В том случае, если граф переходов между состояниями комплекса является сильно связным, мы можем заменить уравнение для одного из состояний на закон сохранения. Для определенности сделаем это для последнего уравнения, тогда для комплекса с  $n$  состояниями мы получим следующую систему уравнений:

$$\begin{pmatrix} a_{1,1} & a_{1,2} & \cdots & a_{1,n-1} & a_{1,n} \\ a_{2,1} & a_{2,2} & \cdots & a_{2,n-1} & a_{2,n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ a_{n-1,1} & a_{n-1,2} & \cdots & a_{n-1,n-1} & a_{n-1,n} \\ 1 & 1 & \cdots & 1 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \\ \vdots \\ p_{n-1} \\ p_n \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix}. \quad (6)$$

Обозначим матрицу  $\mathbf{A}$  с последней строкой, замененной на единицы, как  $\mathbf{A}_1$ , а вектор, состоящий из  $n-1$  нулей и последней единицы, — как  $\mathbf{b}$ , тогда мы можем записать уравнение (6) как

$$\mathbf{A}_1 \cdot \mathbf{p} = \mathbf{b}. \quad (6')$$

В работах [Hill, 1966; Schnakenberg, 1976; Fernengel, Drossel, 2022] даны доказательства единственности решения системы (6'), а также способы построения стационарного состояния и решения основного кинетического уравнения.

### Моделирование переходных процессов

Изменение степени восстановленности пулов мобильных переносчиков электрона влечет за собой изменение значений элементов матрицы скоростей переходов между состояниями и приводит к переходному процессу в белковом комплексе. Для его моделирования необходимо найти зависимость вектора вероятностей  $\mathbf{p}$  от времени  $t$ . Мы рассматриваем ситуацию, когда в нулевой момент времени происходит скачкообразное изменение параметров системы. Будем считать, что в 0-й момент времени система характеризуется матрицей скоростей  $\mathbf{A}_0$  и находится в состоянии равновесия  $\mathbf{p}_0$ . Вектор вероятностей  $\mathbf{p}_0$  можно рассчитать как решение уравнения (6') для матрицы  $\mathbf{A}_0$ . Необходимо найти решение задачи Коши

$$\begin{cases} \frac{d\mathbf{p}}{dt} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{p}, \\ \mathbf{p}(0) = \mathbf{p}_0. \end{cases} \quad (7)$$

Решение этой задачи задается матричной экспоненциальной функцией:

$$\mathbf{p}(t) = \mathbf{p}_0 \cdot e^{\mathbf{A}t}. \quad (8)$$

Поскольку нас интересуют значения  $\mathbf{p}(t)$  для большого числа различных моментов времени  $t$ , нам необходим эффективный с вычислительной точки зрения способ нахождения этой функции. Оптимальным представляется поиск фундаментальной системы решений для уравнения (2). Для ее нахождения нужно вычислить для матрицы  $\mathbf{A}$  правые собственные вектора  $\mathbf{ER}_i$  и собственные значения  $EV_i$ . Общее решение основного кинетического уравнения может быть записано в виде

$$\tilde{\mathbf{p}}(t) = \sum_i m_i \cdot e^{EV_i t} \cdot \mathbf{ER}_i, \quad (9)$$

где  $m_i$  — произвольные множители. Чтобы найти частное решение, соответствующее начальному условию  $\mathbf{p}_0$ , необходимо решить систему линейных алгебраических уравнений

$$\mathbf{ER} \cdot \mathbf{m} = \mathbf{p}_0, \quad (10)$$

где  $\mathbf{ER}$  — матрица, составленная из собственных векторов матрицы  $\mathbf{A}$ , а  $\mathbf{m}$  — вектор, составленный из множителей  $m_i$ .

Для нахождения собственных векторов и собственных значений матрицы обычно матрицу приводят к форме Хессенберга, после чего используют QR-алгоритм [Anderson et al., 1999]. Чтобы уменьшить связанные с численными методами ошибки, можно воспользоваться априорным знанием о собственных значениях и собственных векторах матрицы  $\mathbf{A}$ . Поскольку в случае полностью связанного графа состояний комплекса матрица  $\mathbf{A}$  имеет ровно одно нулевое собственное значение, а соответствующий ему собственный вектор может быть вычислен решением уравнения вида (6'), мы можем таким образом уточнить результаты, полученные с помощью QR-алгоритма. Сумма (9), задающая решение основного кинетического уравнения, при  $t \rightarrow +\infty$  стремится к слагаемому, соответствующему нулевому собственному значению. При этом само решение стремится к стационарному (см. предыдущий раздел). Таким образом, множитель  $m_i$ , соответствующий найденному из уравнения (6') собственному вектору, равен единице.

### *Переход от вектора вероятностей к макропараметрам системы*

Вектор  $\mathbf{p}$  зависит как от значений констант скоростей всех элементарных реакций в комплексе, так и от концентраций внешних реагентов, с которыми взаимодействует комплекс. Таким образом, варьируя эти параметры, мы можем установить, каким образом их изменение сказывается на состоянии комплекса. Однако, ввиду большой размерности вектора вероятностей, представление состояния комплекса в виде такого вектора не позволяет наглядно оценить, в чем заключаются вызванные изменением параметров изменения в состоянии комплекса. Чтобы получить более удобное представление, необходимо на основе детального описания состояния комплекса в виде вектора вероятностей получить его упрощенное описание в виде набора скалярных макропараметров.

Наиболее очевидным из таких макропараметров является доля комплексов, в которых конкретный активный центр находится в определенном состоянии. Для вычисления значения такого макропараметра необходимо просто просуммировать те компоненты вектора  $\mathbf{p}$ , которые соответствуют нужным состояниям. В векторном виде это может быть записано как скалярное произведение вектора  $\mathbf{p}$  и вектора  $\mathbf{s}$ , компоненты которого равны единице для интересующих нас состояний комплекса и нулю — для всех остальных состояний:

$$x = \mathbf{s} \cdot \mathbf{p}. \quad (11)$$

Схожим образом мы можем определить наблюдающуюся в стационарном состоянии суммарную скорость какой-либо элементарной реакции (например, транспорта электронов) в комплексе как сумму скоростей реакций между всеми возможными состояниями комплекса. Вклад каждого состояния в суммарную скорость положителен, если состояние выступает в качестве субстрата реакции, отрицателен для продукта реакции и равен нулю для состояний, не участвующих в данной реакции. В векторном виде это также может быть записано как скалярное произведение:

$$v = \mathbf{c} \cdot \mathbf{p}, \quad (12)$$

где компоненты вектора  $\mathbf{c}$  равны нулю для состояний, не участвующих в реакции, константе скорости прямой реакции — для состояний, являющихся субстратом реакции, и взятой с обратным знаком константе скорости обратной реакции — для состояний, являющихся продуктом реакции. Для реакций второго порядка с участием мобильных переносчиков электронов константы скорости домножаются на концентрацию соответствующего переносчика.

Такой подход к получению скалярных характеристик ансамбля белковых комплексов может быть использован как при описании динамики поведения системы, так и для описания ее квазистационарного состояния. Поскольку значение вектора  $\bar{\mathbf{p}}$  зависит от значений констант скоростей элементарных реакций и от концентраций внешних реагентов, значения скалярных величин  $\bar{x}$  и  $\bar{v}$ , вычисленных по уравнениям вида (11) и (12) для квазистационарного состояния, также будут зависеть от этих параметров. В дальнейшем мы будем рассматривать зависимости таким образом определенных величин от степени восстановленности пулов мобильных переносчиков электрона и других внешних условий как функции отклика (response functions) для соответствующих состояний и процессов. Важной функцией отклика, характеризующей трансмембранные электрон-транспортные комплексы, является скорость потока электронов между пулами мобильных переносчиков электрона через эти комплексы. Поскольку перенос электрона между донорной и акцепторной стороной комплекса обычно включает несколько последовательных стадий, выбор вектора коэффициентов  $\mathbf{c}$  для расчета квазистационарного потока  $\bar{v}$  является неоднозначным: для определения функции отклика может быть использована любая из последовательных стадий электронного транспорта, поскольку в этих условиях скорости последовательных стадий одинаковы. В то же время динамика изменения величины  $v$  для этих последовательных стадий в ходе переходного процесса может существенно различаться.

## Структура и особенности функционирования цитохромного $b_6f$ -комплекса

Рассмотрим предложенный подход на примере функций отклика для одного из компонентов фотосинтетической ЭТЦ — цитохромного  $b_6f$ -комплекса. Цитохромный  $b_6f$ -комплекс выступает в качестве центрального хаба, через который проходит как линейный поток электронов от ФС2 к ФС1, так и циклический поток электронов вокруг ФС1.  $b_6f$ -комплексы достаточно равномерно распределены по всей тилакоидной мембране и имеют практически одинаковую поверхностную плотность как в гранальных участках, где преобладает ФС2, так и в стромальных участках, где преобладает ФС1 и АТФаза [Albertson, 2001; Kirchhoff et al., 2007; Johnson et al., 2014]. Окисление пластохинона цитохромным  $b_6f$ -комплексом сопряжено с переносом протонов из стромы в люмен и формированием трансмембранного градиента рН, необходимого для синтеза АТФ. Кроме участия в электронном и протонном транспорте, предполагается, что цитохромный  $b_6f$ -комплекс выполняет и регуляторную функцию, участвуя в активации Stt7-киназы (у микроводорослей) и STN7-киназы (у высших растений) при увеличении степени восстановленности пула пластохинонов. Эта активация приводит к фосфорилированию белков светособиравшего комплекса LHC2 и их переходу от ФС2 к ФС1 (state transition), что приводит к уменьше-

нию линейного потока электронов по сравнению с циклическим [Shapiguzov et al., 2016; Finazzi, Minagawa, Johnson, 2016; Singh et al., 2016].

До 2003 года предполагалось, что механизм функционирования этого комплекса в целом аналогичен механизму, подробно изученному для митохондриального комплекса  $bc_1$  (коэнзим Q – цитохром  $c$  редуктаза), и представляет собой вариацию предложенного Митчеллом Q-цикла. Однако Д. Штрёбелем с соавторами [Stroebel et al., 2003] было установлено, что в сайте, гомологичном  $Q_n$ -сайту комплекса  $bc_1$ , в цитохромном  $b_6f$ -комплексе расположен еще один гем  $c$ -типа  $c_n$ . В 2022 году [Szwalec et al., 2022] было установлено, что соотношение окислительно-восстановительных потенциалов гемов типа  $b$  в комплексах  $bc_1$  и  $b_6f$  различается: в комплексе  $bc_1$  потенциал гема, расположенного вблизи  $Q_p$ -сайта, ниже, чем потенциал гема, расположенного вблизи  $Q_n$ -сайта, а в комплексе  $b_6f$  – наоборот. В результате перенос электрона в ходе Q-цикла в цитохромном  $b_6f$ -комплексе должен быть существенно затруднен по сравнению с комплексом  $bc_1$ .

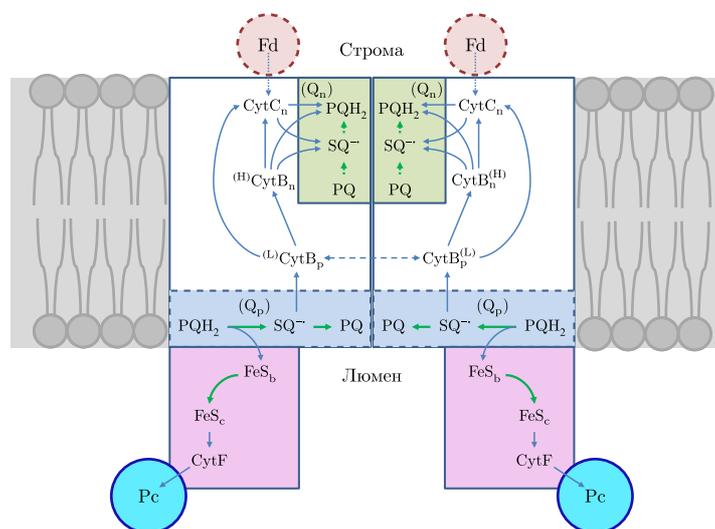


Рис. 2. Схема переноса электронов в цитохромном  $b_6f$ -комплексе.  $Q_p$  и  $Q_n$  – сайты связывания пластохинона, расположенные на люминальной ( $p$ ) и стромальной ( $n$ ) стороне комплекса,  $CytB_p$  и  $CytB_n$  – цитохромы с гемом  $b$ -типа,  $CytC_n$  – цитохром с гемом  $c$ -типа,  $CytF$  – цитохром  $f$  с гемом модифицированного  $c$ -типа,  $FeS$  – железосерный центр Риска,  $Fd$  – мобильный переносчик электрона ферредоксин,  $Pc$  – мобильный переносчик электрона пластоцианин. В сайтах связывания пластохинона показаны стадии окисления и восстановления пластохинона от окисленного ( $PQ$ ) до восстановленного ( $PQH_2$ ) через промежуточное семихинонное состояние  $SQ^{\cdot-}$ . Для железосерного центра Риска индексами  $b$  и  $c$  показаны два его положения – вблизи  $Q_p$ -сайта и вблизи цитохрома  $f$ . Синими стрелками показаны реакции переноса электрона, направление стрелки соответствует преимущественному направлению реакции. Пунктирная стрелка показывает перенос электрона между гемами  $CytB_p$ , относящимися к разным мономерам в димере. Зелеными сплошными стрелками показаны перемещение железосерного центра Риска и молекулы пластохинона в  $Q_p$ -сайте. Серым показана тилакоидная мембрана. Малиновым фоном выделена часть комплекса, выступающая из тилакоидной мембраны в люмен

Современные представления о механизмах функционирования цитохромных комплексов  $bc_1$  и  $b_6f$  подробно рассмотрены в обзорных статьях [Тихонов, 2023; Tikhonov, 2014; Tikhonov, 2024; Sarewicz et al., 2021]. Тем не менее на данный момент среди биологов нет полного понимания того, как именно функционирует  $b_6f$ -комплекс, поэтому при составлении математической модели мы постарались учесть все возможные реакции переноса электрона в этом комплексе (рис. 2). Имеющиеся данные о кинетических параметрах окислительно-восстановительных реакций, протекающих в цитохромном  $b_6f$ -комплексе, в основном относятся не

к элементарным реакциям переноса электрона в комплексе, а характеризуют суммарную реакцию окисления либо восстановления экзогенного донора либо акцептора электронов. Это обусловлено сложностью экспериментального исследования параметров этих реакций. В качестве редокс-центров в состав цитохромного  $b_6f$ -комплекса входят четыре гема с достаточно близкими спектральными характеристиками, что затрудняет определение редокс-состояния каждого из них оптическими методами. Исследование динамики состояний во времени также затруднено: в то время как для запуска процесса в фотосистемах 1 и 2 можно использовать вспышку света, запуск реакций в цитохромном комплексе возможен только за счет добавления экзогенных доноров и/или акцепторов электронов, из-за чего исследование наиболее быстрых процессов в эксперименте оказывается чрезвычайно сложным.

Вышеизложенное является причиной того, что все созданные ранее модели  $b_6f$ -комплекса были изначально упрощенными. Часть переносчиков априорно рассматривалась как находящиеся в быстром равновесии (например, железосерный центр Риске и гем  $f$  в работе Джалал Камали с соавторами [Камали и др., 2004] и гемы  $b_n$  и  $c_n$  в работе Д. Лазара [Lazár, 2009]), а окислительно-восстановительные реакции с участием мобильных переносчиков электрона рассматривались на основе формализма закона действующих масс как химические реакции второго порядка. Однако такое упрощение может привести к существенному искажению кинетики этих реакций, так как, в зависимости от концентрации мобильных переносчиков и степени восстановленности их пулов, лимитирующей скоростью стадией для этих реакций может быть как диффузионное сближение реагентов (и в таком случае кинетика реакции будет соответствовать реакции второго порядка), так и перенос электрона в уже образовавшемся комплексе, состоящем из цитохромного  $b_6f$ -комплекса и молекулы мобильного переносчика (что приведет к кинетике реакции первого порядка) или же отстыковка мобильного переносчика от комплекса (что также приводит к кинетике первого порядка). В связи с этим в данной работе мы отказались от упрощенного рассмотрения таких реакций и рассматриваем реакции с участием мобильных переносчиков электрона как трехстадийные.

Следует отметить, что в димере цитохромного  $b_6f$ -комплекса между мономерами образуется полость, которая может способствовать направленной диффузии пластохинонов между  $Q_p$ - и  $Q_n$ -сайтами. Полученные в 2023 году данные о структуре комплекса [Sarewicz et al., 2023] позволяют предположить, что сам  $Q_p$ -сайт также имеет сложную организацию и для осуществления реакций Q-цикла необходим перенос семипластохинона внутри канала, ведущего от внешнего края цитохромного комплекса к внутренней полости обмена хинонов. В данной работе мы принимали во внимание, что перенос электрона между пластогидрохиноном и железосерным центром Риске и между пластосемихиноном и цитохромом  $b_p$  происходит при разном расположении подвижного переносчика, однако в явном виде движение молекулы по каналу не рассматривали.

### **Параметры элементарных реакций в цитохромном $b_6f$ -комплексе**

Сопоставление имеющихся в литературе данных о константах скорости происходящих в цитохромном  $b_6f$ -комплексе реакций с конкретными элементарными реакциями затруднительно, а разброс опубликованных значений весьма значителен (таблица 1). В связи с этим в данной работе для оценки констант скорости элементарных реакций мы используем оценки, полученные на основе полученных в 2022–2023 годах данных [Szwalec et al., 2022; Sarewicz et al., 2023] о структуре цитохромного  $b_6f$ -комплекса и величине окислительно-восстановительных потенциалов входящих в его состав кофакторов.

К. Мозером и П. Даттоном [Moser, Dutton, 1992] на основе теории Маркуса предложена полуэмпирическая формула

$$\log k_{\text{et}} = 15 - 0,6R - \frac{3,1(\Delta G - \lambda)^2}{\lambda}, \quad (13)$$

Таблица 1. Расстояние  $R$  между донором и акцептором электрона, движущая сила реакции  $\Delta G$ , константа равновесия реакции  $K$ , константы скорости прямой ( $k_{пр}$ ) и обратной ( $k_{обр}$ ) реакции переноса электрона между компонентами цитохромного  $b_6f$ -комплекса по данным различных источников и по оценкам, полученным в данной работе. Если не указано иное, расстояния приведены для структуры комплекса PDB ID: 7QRM [Sarewicz et al., 2023]. Полу жирным шрифтом выделены значения, использованные в данной работе. Pc — пластоцианин; Fd — ферредоксин;  $FeS_b$  и  $FeS_c$  — железосерный центр Риска пластохиноном в сближенной с  $Q_p$ -сайтом b-конформации и сближенной с гемом  $f$  с-конформации;  $b_p(1)$  и  $b_p(2)$  — гемы  $b_p$  двух мономеров в димере;  $(Q^-/QH_2)_p$  — окисление пластогидрохинона до пластосемихинона в  $Q_p$ -сайте;  $(Q/Q^-)_{p1}$  — окисление пластосемихинона до пластохинона в гипотетическом положении, соответствующем его максимальному сближению с гемом  $b_p$ ;  $(Q/Q^-)_n$  и  $(Q^-/QH_2)_n$  — двухстадийное восстановление пластохинона в  $Q_n$ -сайте

Донор	Акцептор	$R, \text{Å}$	$\Delta G, \text{мэВ}$	$K$	$k_{пр}, \text{с}^{-1}$	$k_{обр}, \text{с}^{-1}$	Источник
$(Q^-/QH_2)_p$	$FeS_b$	7,2	+85	0,04 0,18 1	<b><math>4 \cdot 10^7</math></b> 500 476 200 7850	<b><math>10^9</math></b>	оценка по формуле (13) [Камали и др., 2004] <sup>#</sup> [Демин, Вестерхофф, Холоденко, 1998] <sup>#</sup> [Hope et al., 1992] <sup>#</sup> [Berry, Rumberg, 2000] <sup>#</sup>
$(Q/Q^-)_{p1}$	гем $b_p$	$\sim 14^{\&}$	-85	28 1,29 108 1	<b><math>8 \cdot 10^4</math></b> 900 7668 650	<b>3000</b>	оценка по формуле (13) [Камали и др., 2004] <sup>#</sup> [Демин, Вестерхофф, Холоденко, 1998] <sup>#</sup> [Berry, Rumberg, 2000] <sup>#</sup>
гем $c_n$	$(Q/Q^-)_n$	4,2	+210	$3 \cdot 10^{-4}$	<b><math>7 \cdot 10^8</math></b>	<b><math>2 \cdot 10^{12}</math></b>	оценка по формуле (13)
гем $c_n$	$(Q^-/QH_2)_n$	4,2	-340	$6 \cdot 10^5$	<b><math>8 \cdot 10^{11}</math></b>	<b><math>10^6</math></b>	оценка по формуле (13)
гем $b_n$	$(Q/Q^-)_n$	9,5	+55	0,1 450 3,2 2,4 1,25	<b><math>6 \cdot 10^6</math></b> 1500 $1,6 \cdot 10^4$ 407 2000	<b><math>5 \cdot 10^7</math></b>	оценка по формуле (13) [Камали и др., 2004] <sup>#</sup> [Демин, Вестерхофф, Холоденко, 1998] <sup>#</sup> [Hope et al., 1992] <sup>#</sup> [Berry, Rumberg, 2000] <sup>#</sup>
гем $b_n$	$(Q^-/QH_2)_n$	9,5	-495	$2 \cdot 10^8$ 5 5,07 1,25	<b><math>10^9</math></b> 1370 7605 2000	<b>5</b>	оценка по формуле (13) [Камали и др., 2004] <sup>#</sup> [Демин, Вестерхофф, Холоденко, 1998] <sup>#</sup> [Berry, Rumberg, 2000] <sup>#</sup>
$FeS_c$	гем $f$	$\sim 11^*$	-70	15	<b><math>4 \cdot 10^6</math></b> 200	<b><math>3 \cdot 10^5</math></b>	оценка по формуле (13) [Soriano et al., 2002]
гем $f$	Pc	12,4	+30	0,3	<b><math>2 \cdot 10^5</math></b> 3000 62 2,8 26	<b><math>5 \cdot 10^5</math></b>	оценка по формуле (13) [Soriano et al., 2002] [Modi et al., 1992] [Meyer et al., 1993] [Kannt, Young, Bendall, 1996]
гем $b_p$	гем $b_n$	12,9	+30	0,3 10 22,6 7 40	<b><math>8 \cdot 10^4</math></b> 527 8224 7 $10^5$	<b><math>3 \cdot 10^5</math></b> 2300	оценка по формуле (13) [Камали и др., 2004] [Демин, Вестерхофф, Холоденко, 1998] <sup>#</sup> [Crofts, Wraight, 1983] [Hope et al., 1992] <sup>#</sup>
гем $b_p$	гем $c_n$	18,1	-125	130	<b>500</b>	<b>4</b>	оценка по формуле (13)
гем $b_n$	гем $c_n$	5,0	-155	400	<b><math>5 \cdot 10^{10}</math></b>	<b><math>10^8</math></b>	оценка по формуле (13)
гем $b_p(1)$	гем $b_p(2)$	16,0	0	1	1700	1700	оценка по формуле (13)
$FeS_b$	$FeS_c$	—	—	1	<b><math>8 \cdot 10^4</math></b>	<b><math>8 \cdot 10^4</math></b>	[Millett, Durham, 2004]
Fd	гем $c_n$	?	-475	$10^8$	?	?	оценка по формуле (13)

& — расстояние в гипотетическом положении, соответствующем максимальному сближению пластосемихинона с гемом  $b_p$ .

\* — расстояние для структуры  $bc_1$  комплекса PDB ID: 1BE3 [Iwata et al., 1998].

# — значения для эффективной реакции, включающей пристыковку переносчика к комплексу и собственно перенос электрона.

Таблица 2. Среднеточечные окислительно-восстановительные потенциалы  $\varphi$  редокс-центров цитохромного  $b_6f$ -комплекса и мобильных переносчиков электрона

Редокс-центр	$\varphi$ , мВ	Источник
цитохромный $b_6f$ -комплекс		
FeS	+300	[Sarewicz et al., 2021]
гем $f$	+370	[Szwalec et al., 2022]
гем $b_p$	-80	[Szwalec et al., 2022]
гем $b_n$	-110	[Szwalec et al., 2022]
гем $c_n$	+45	[Szwalec et al., 2022]
пластохинон		
$PQ^{\cdot-}/PQH_2$	+385	[Hauska al., 1983]
$PQ/PQ^{\cdot-}$	-165	[Hauska al., 1983]
ферредоксин	-430	[Batie, Kamin, 1981]
пластоцианин	+340	[Malkin, Knaff, Bearden, 1973]

где  $k_{et}$  — скорость переноса электрона,  $s^{-1}$ ;  $R$  — расстояние,  $\text{Å}$ ;  $\Delta G$  — движущая сила реакции, эВ;  $\lambda$  — энергия, необходимая для изменения ядерных координат при переходе от реагента к переходному состоянию (энергии внутрисферной реорганизации), эВ. Эта формула позволяет, зная расстояние между редокс-центрами, разность их окислительно-восстановительных потенциалов и энергию внутрисферной реорганизации, оценить константу скорости туннельного переноса электрона между ними. В данной работе значение параметра  $\lambda$  принимали равным 700 мэВ [Moser et al., 2006]. Движущую силу реакции рассчитывали исходя из среднеточечных окислительно-восстановительных потенциалов (таблица 2).

Полученные по формуле (13) оценки констант скоростей также приведены в таблице 1. Следует отметить, что окислительно-восстановительные потенциалы пластохинона сильно зависят от его окружения. Приведенные в таблице 1 значения используют среднеточечные потенциалы пластохинона, оцененные в липидном окружении, поэтому оценки констант скорости реакций с его участием следует расценивать как значительно более грубые по сравнению с остальными.

В настоящее время сайт связывания ферредоксина на цитохромном  $b_6f$ -комплексе неизвестен. Хотя распределение электростатических зарядов на стромальной поверхности комплекса очень похоже на распределение зарядов у других белков, получающих электроны от ферредоксина, прямая передача электронов между ферредоксином и цитохромным  $b_6f$ -комплексом не доказана. Предполагается, что важную роль во взаимодействии ферредоксина с цитохромным  $b_6f$ -комплексом могут играть белки семейства PGR (proton gradient regulation) Pgr5 и PgrL1 [Hertle et al., 2013; Munekage et al., 2002; DalCorso et al., 2008], однако структуру соответствующих комплексов установить пока не удалось. В данной работе мы исходили из предположения, что ферредоксин передает электроны на гем  $c_n$  цитохромного комплекса. Поскольку достоверные сведения о механизме и параметрах этой реакции отсутствуют, мы рассматривали перенос электрона как практически необратимую реакцию с константами скорости прямой и обратной реакции  $10^5 s^{-1}$  и  $10^{-3} s^{-1}$  соответственно (принимая во внимание константу равновесия реакции, рассчитанную исходя из окислительно-восстановительных потенциалов донора и акцептора электрона).

Оценка констант скорости пристыковки и отстыковки пластоцианина в модели основывается на экспериментальных данных по взаимодействию пластоцианина с растворимой формой цитохрома  $f$  [Hope, 2000; Kannt, Young, Bendall, 1996; Modi et al., 1992]. Параметры пристыковки и отстыковки ферредоксина были взяты по аналогии с пластоцианином, поскольку молекулярные массы и размеры этих белков близки между собой. Параметры биомолекулярного взаимодействия пластохинона с каждым из сайтов взяты по аналогии с параметрами взаимодействия

пластохинона с фотосистемой 2 [Lazár, 2003; Stiehl, Witt, 1969; Crofts et al., 1993]. Поскольку основное кинетическое уравнение записано для вероятностей нахождения комплекса в каждом из состояний, в модели использовали относительные концентрации мобильных переносчиков электрона, то есть отношение концентрации переносчика к концентрации цитохромного  $b_6f$ -комплекса. Соответственно, константы скорости для бимолекулярных реакций были нормированы исходя из концентрации цитохромного  $b_6f$ -комплекса 1 мМ [Antal et al., 2013]:

$$k_1 = k_2 \cdot [\text{cyt } b_6f], \quad (14)$$

где  $k_1$  — нормированная константа скорости,  $\text{с}^{-1}$ ;  $k_2$  — константа скорости реакции второго порядка,  $\text{М}^{-1}\text{с}^{-1}$ ;  $[\text{cyt } b_6f]$  — концентрация цитохромного  $b_6f$ -комплекса, М.

### *Модель перехода между состояниями цитохромного $b_6f$ -комплекса*

Общее число возможных состояний цитохромного  $b_6f$ -комплекса весьма велико и даже без явного рассмотрения реакций протонирования/депротонирования пластохинона составляет 9216 для мономера. Учет возможности переноса электрона между гемами  $b_p$  разных мономеров в димере (оценка константы скорости реакции — порядка  $2 \cdot 10^3 \text{ с}^{-1}$ ) квадратично увеличивает число состояний — до почти 85 миллионов для димера. Соответствующий граф состояний и дифференциальные уравнения модели динамики состояний этого комплекса составлены на основе представленной на рис. 2 схемы реакций. Для генерации графа состояний и уравнений модели мы использовали пакет PySB [Lopez et al., 2013; Lopez, Garbett, 2014]. В данной работе мы рассматриваем модель мономера цитохромного  $b_6f$ . Переменными модели являются вероятности нахождения комплекса в каждом из 9216 состояний, а также концентрации окисленных и восстановленных мобильных переносчиков электрона. При ненулевых концентрациях окисленных и восстановленных форм мобильных переносчиков электрона граф состояний состоит из одной компоненты сильной связности.

Принимая во внимание размерность системы (9216 уравнений), нахождение решений уравнений (6') и (10) в аналитическом виде представляется невозможным. Нами разработано программное обеспечение, позволяющее в автоматическом режиме по заданной схеме элементарных реакций в комплексе сгенерировать функцию на языке программирования Python, принимающую в качестве параметров константы скорости элементарных реакций и концентрации окисленных и восстановленных форм мобильных переносчиков электрона и возвращающую матрицу соответствующего основного кинетического уравнения в численном виде. Для символьных операций с уравнениями используется пакет SymPy [Meurer et al., 2017].

Для нахождения квазистационарных состояний  $\bar{\mathbf{p}}$  и для нахождения множителей  $\mathbf{m}$  мы решали уравнения вида (6') и (10) с помощью функции `linalg.solve` пакета SciPy [Virtanen et al., 2020]. Эта функция использует для нахождения решения LU-факторизацию матрицы с помощью функций `dgetrf` и `dgetrs` пакета LAPACK [Anderson et al., 1999]. На тестовой системе с шестиядерным процессором i5-8600K, работающим на частоте 3,6 ГГц (Ubuntu 18.04, Python 3.10, SciPy 1.11.2 из дистрибутива Anaconda), поиск решения для одного набора параметров занимает примерно 4 с, при этом LAPACK полностью использует ресурсы всех ядер процессора. Для нахождения собственных векторов и собственных значений использовали функцию `linalg.eig` пакета SciPy, использующую функцию `dgeev` пакета LAPACK; вычисления на той же тестовой системе занимали в среднем 330 с. Для рассмотренной модели проведение вычислений в арифметике двойной точности позволяет получить решение с невязкой не более  $10^{-3}$  при относительной концентрации каждого из мобильных переносчиков (как в окисленной, так и в восстановленной форме)  $10^{-2}$  и выше. В дополнение к расчетам с двойной точностью разработанное программное обеспечение позволяет проводить расчеты с произвольной точностью с использованием пакетов `mpmath` [mpmath, 2023] или FLINT [FLINT, 2023; Johansson, 2024], однако время выполнения

расчета и требования к объему оперативной памяти в таком случае многократно возрастают. Так, нахождение решения уравнения (6') при 128-битной мантиссе с помощью пакета FLINT занимает 160 минут, а нахождение собственных векторов и собственных значений — около двух недель, при этом все вычисления ведутся в однопоточном режиме.

### **Функции отклика для потока электронов через цитохромный $b_6f$ -комплекс**

Для каждой из стадий переноса электрона в цитохромном  $b_6f$ -комплексе были определены векторы  $c_i$ , позволяющие по уравнению (12) рассчитать скорость электронного транспорта  $v_i$  на этом участке электрон-транспортной цепи. Однако для того, чтобы охарактеризовать квазистационарный поток электронов через цитохромный  $b_6f$ -комплекс, достаточно определить только три скорости потоков: скорость окисления пластохинона  $\bar{v}_{PQ \rightarrow b_6f}$ , скорость окисления ферредоксина  $\bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$  и скорость восстановления пластоцианина  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$ . Поскольку все реакции являются обратимыми, скорость каждого из этих потоков может быть отрицательной. Направления потоков выбраны таким образом, чтобы при большинстве рассматриваемых условий его скорость была положительной. Поскольку сумма входящих и исходящих потоков электронов равна нулю,  $\bar{v}_{PQ \rightarrow b_6f} = \bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc} - \bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$ . Для определения скорости потоков  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  и  $\bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$  мы использовали вектора коэффициентов для элементарных реакций переноса электрона между цитохромом  $f$  и пластоцианином  $c_{b_6f \rightarrow Pc} = c_{\text{cyt } f \rightarrow Pc}$  и между ферредоксином и цитохромом  $c_{Fd \rightarrow b_6f} = c_{Fd \rightarrow \text{cyt } c_n}$ .

### **Зависимость квазистационарного потока электронов через цитохромный $b_6f$ -комплекс от концентрации окисленных и восстановленных переносчиков электрона пластохинона, пластоцианина и ферредоксина**

Проведен расчет значений скорости восстановления пластоцианина  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  и скорости окисления ферредоксина  $\bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$  при различных концентрациях окисленных и восстановленных форм мобильных переносчиков электрона. Полученные результаты показаны в виде линий равной скорости на рис. 3–5. Для большей наглядности на рис. 3 зависимость скорости восстановления пластоцианина  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  от концентрации окисленного (PQ) и восстановленного (PQH<sub>2</sub>) пластохинона дополнительно показана в виде графиков. Для визуализации результатов моделирования использовали пакет matplotlib [Hunter, 2007; Caswell et al., 2021].

На рис. 3 показана зависимость скорости переноса электронов с пластохинона на пластоцианин через цитохромный  $b_6f$ -комплекс ( $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$ ) от концентрации мобильных переносчиков электрона. Можно видеть, что зависимость  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  от концентрации как окисленного, так и восстановленного пластохинона имеет немонокотный характер: при низких концентрациях скорость возрастает при увеличении концентрации, а при высоких, наоборот, убывает. Уменьшение концентрации окисленного пластоцианина с 3 до 1 (рис. 3, *з*) не приводит к изменению скорости электронного транспорта, что согласуется с представлениями о том, что взаимодействие с пластоцианином не является лимитирующей стадией работы цитохромного  $b_6f$ -комплекса. Добавление окисленного ферредоксина (рис. 3, *б*) также не изменяет скорость переноса электронов на пластоцианин. В то же время добавление восстановленного ферредоксина (рис. 3, *в*) приводит к небольшому снижению скорости переноса электронов на пластоцианин. Это связано с тем, что появление дополнительного донора электронов, передающего электроны в низкопотенциальную цепь цитохромного  $b_6f$ -комплекса (гемы  $b_p$ ,  $b_n$  и  $c_n$ ), препятствует окислению пластосемихина на Q<sub>p</sub>-сайте и за счет этого тормозит перенос электронов по высокопотенциальной цепи.

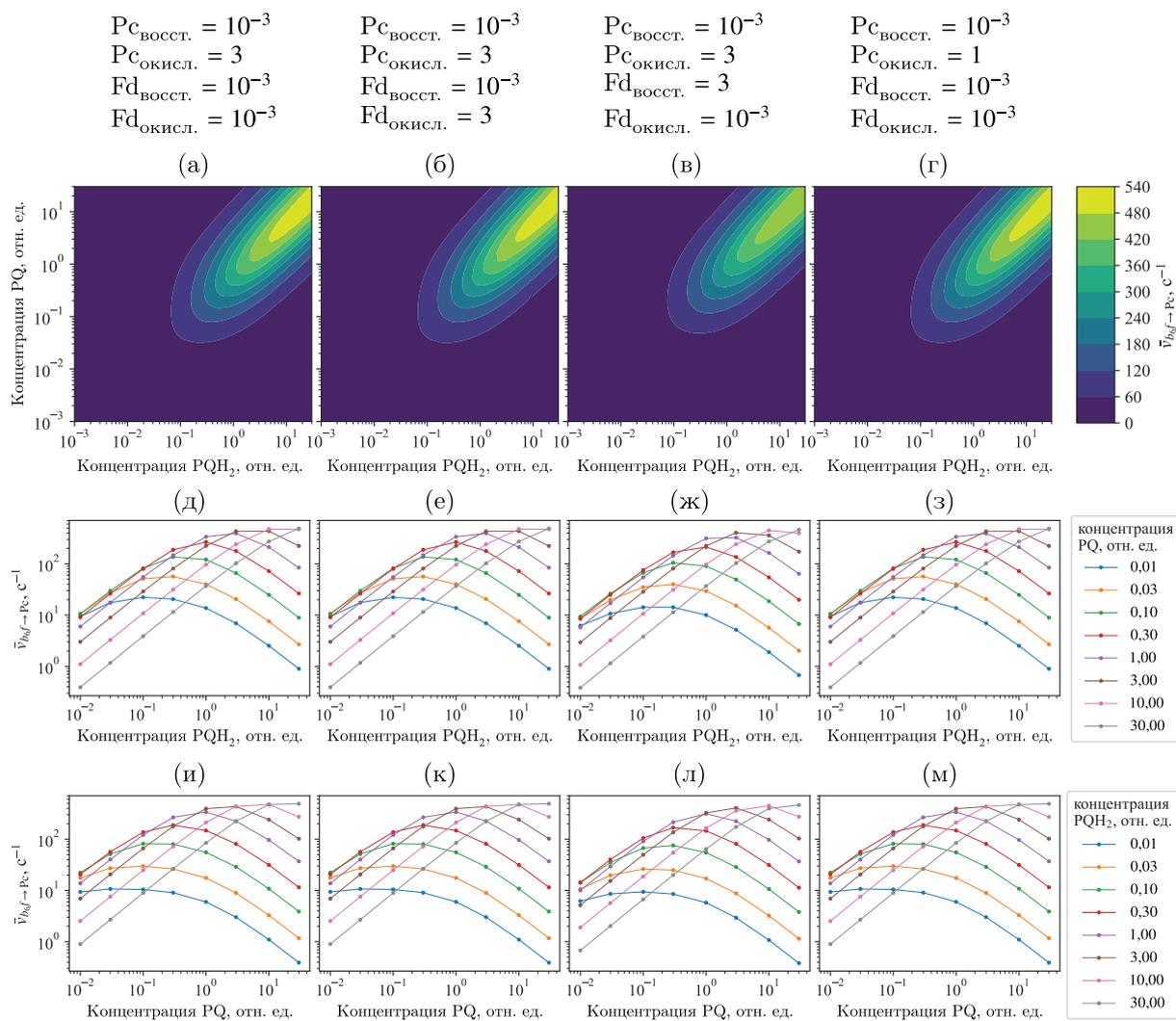


Рис. 3. Зависимость скорости восстановления пластоцианина цитохромным  $b_6f$ -комплексом  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  от концентрации окисленного (PQ) и восстановленного ( $PQH_2$ ) пластохинона. На панелях  $a$ – $г$  показаны линии равной скорости, на панелях  $д$ – $ж$  — графики зависимости  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  от концентрации  $PQH_2$  при фиксированной концентрации PQ, на панелях  $и$ – $м$  — графики зависимости  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  от концентрации PQ при фиксированной концентрации  $PQH_2$ . Концентрация восстановленного пластоцианина  $Pc_{восст.}$   $10^{-3}$  (все панели); окисленного пластоцианина  $Pc_{окисл.}$  3 ( $a$ – $в$ ,  $д$ – $ж$ ,  $и$ – $л$ ), 1 ( $з$ ,  $з$ ,  $м$ ); восстановленного ферредоксина  $Fd_{восст.}$   $10^{-3}$  ( $a$ ,  $б$ ,  $з$ – $е$ ,  $з$ – $к$ ), 3 ( $в$ ,  $ж$ ,  $л$ ); окисленного ферредоксина  $Fd_{окисл.}$   $10^{-3}$  ( $a$ ,  $в$ – $д$ ,  $ж$ – $и$ ,  $л$ ,  $м$ ), 3 ( $б$ ,  $е$ ,  $к$ ). Все концентрации нормированы на концентрацию цитохромных  $b_6f$ -комплексов

Зависимость скорости переноса электронов с ферредоксина на пластохинон ( $\bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$ ) от концентрации мобильных переносчиков электрона (рис. 4) монотонная: увеличение концентрации восстановленного ферредоксина или окисленного пластохинона приводит к увеличению скорости транспорта. При наличии окисленного пластоцианина добавление восстановленного пластохинона снижает скорость окисления ферредоксина при низкой концентрации окисленного пластохинона, однако практически не влияет на эту скорость (и может даже несколько увеличивать относительной ее) при концентрации окисленного пластохинона от 2 и выше (рис. 4,  $a$ – $в$ ). Если окисленный пластоцианин отсутствует, то вызванное добавлением восстановленного пластохинона снижение скорости окисления ферредоксина оказывается менее выражен-

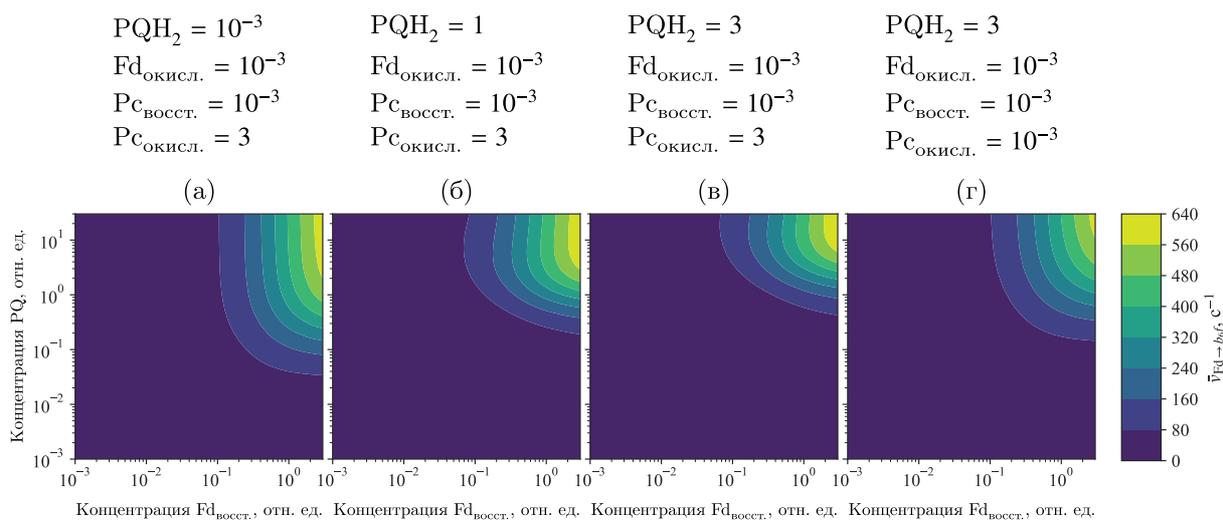


Рис. 4. Линии равных скоростей для зависимости скорости окисления ферредоксина цитохромным  $b_6f$ -комплексом  $\bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$  от концентрации окисленного пластохинона (PQ) и восстановленного ферредоксина ( $Fd_{восст.}$ ). Концентрация восстановленного пластохинона  $PQH_2 = 10^{-3}$  (а), 1 (б), 3 (в, г); окисленного ферредоксина  $Fd_{окисл.} = 10^{-3}$  (все панели); восстановленного пластоцианина  $Pc_{восст.} = 10^{-3}$  (все панели), окисленного пластоцианина  $Pc_{окисл.} = 3$  (а-в),  $Pc_{окисл.} = 10^{-3}$  (г). Все концентрации нормированы на концентрацию цитохромных  $b_6f$ -комплексов

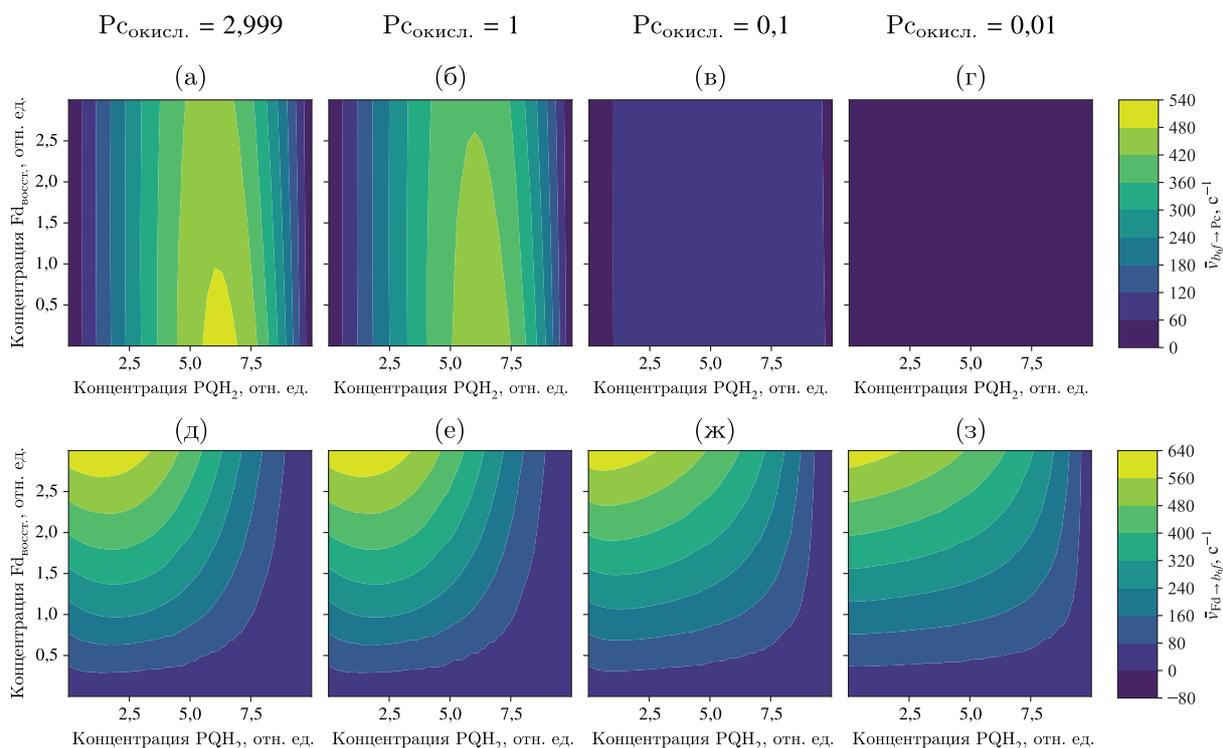


Рис. 5. Линии равных скоростей для зависимости скоростей восстановления пластоцианина  $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$  (а-г) и окисления ферредоксина  $\bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$  (д-з) цитохромным  $b_6f$ -комплексом от концентрации окисленного пластохинона (PQ) и восстановленного ферредоксина ( $Fd_{восст.}$ ) при постоянной суммарной концентрации окисленных и восстановленных форм переносчиков электронов в каждом из пулов:  $PQ + PQH_2 = 10$ ,  $Fd_{восст.} + Fd_{окисл.} = 3$ ,  $Pc_{восст.} + Pc_{окисл.} = 3$ . Концентрация окисленного пластоцианина  $Pc_{окисл.}$  3 (а, д), 1 (б, е), 0,1 (в, ж) и 0,01 (г, з). Все концентрации нормированы на концентрацию цитохромных  $b_6f$ -комплексов

ным (рис. 4,  $\varepsilon$ ), что указывает на конкуренцию электронного потока от ферредоксина с потоком Q-цикла.

На рис. 5 показана зависимость скорости электронного транспорта через цитохромный  $b_6f$ -комплекс с пластохинона на пластоцианин ( $\bar{v}_{b_6f \rightarrow Pc}$ , панели  $a-\varepsilon$ ) и с ферредоксина на пластохинон ( $\bar{v}_{Fd \rightarrow b_6f}$ , панели  $\delta-\varepsilon$ ) от степени восстановленности пулов пластохинона, ферредоксина и пластоцианина. Размер пула пластохинонов принят равным 10 молекулам на один  $b_6f$ -комплекс, размеры пулов пластоцианина и ферредоксина — по три молекулы на один  $b_6f$ -комплекс, что приблизительно соответствует соотношению количества этих переносчиков к количеству цитохромных  $b_6f$ -комплексов у высших растений [Antal et al., 2013]. Можно видеть, что максимальная скорость восстановления пластоцианина достигается, когда пул пластохинонов восстановлен приблизительно на 60%. Восстановление пластоцианина практически полностью прекращается, при степени восстановленности пула пластохинонов меньше 10% и больше 95%. В условиях, когда большая часть молекул пластоцианина восстановлена, наблюдается некоторое увеличение скорости восстановления пластохинона за счет окисления ферредоксина.

### Моделирование переходного процесса в цитохромном $b_6f$ -комплексе при изменении степени восстановленности пула пластохинонов

Проведено моделирование переходных процессов в цитохромном  $b_6f$ -комплексе при изменении степени восстановленности пула пластохинонов. При моделировании предполагалось, что изменение концентрации не связанных с комплексом окисленных и восстановленных форм пластохинона происходит скачкообразно в нулевой момент времени. Состояние связанных с цитохромным комплексом молекул пластохинона при этом соответствует состоянию равновесия с пулом в начальном состоянии.

Показано (рис. 6,  $a-\varepsilon$ ), что при увеличении восстановленности пула пластохинонов с 0,1% уже на первой наносекундных временах начинается окисление пластохинона в  $Q_p$ -сайте, однако вплоть до микросекундных времен скорость его окисления невысока. Скорость окисления пластохинона достигает своего максимума через одну или несколько микросекунд после увеличения степени восстановленности пула, после чего наблюдается снижение скорости к стационарной скорости потока, соответствующей этим условиям. Установление стационарной скорости происходит через 10 мс после увеличения степени восстановленности пула. Максимальная скорость окисления увеличивается с увеличением степени восстановленности пула, ее величина при увеличении восстановленности пула пластохинонов с 0,1% до 60% примерно на 20% больше стационарной скорости потока, соответствующей 60%-й восстановленности пула. Рост скорости переноса электрона с железосерного центра Риске на цитохром  $f$  начинается позже — на 100 мкс, однако уже к 1 мс эта скорость становится равной скорости окисления пластохинона. Характерное время увеличения скорости восстановления пластоцианина составляет около 1 мс после увеличения восстановленности пула. После достижения максимума все скорости постепенно уменьшаются и к 10 мс достигают стационарного уровня.

Процессы в низкопотенциальной ветви электронного транспорта (рис. 6,  $\delta-\varepsilon$ ) имеют близкие характерные времена. Характерное время нарастания скорости окисления пластосемихинона в  $Q_p$ -сайте составляет порядка 100 мкс. Немного быстрее начинается окисление пластохинона в  $Q_n$ -сайте (характерное время — около 10 мкс). После 100 мкс окисление пластохинона в  $Q_n$ -сайте сменяется его восстановлением, характерным для нормального режима функционирования Q-цикла. На графике показана суммарная скорость переноса двух электронов между цитохромами  $b_n$  и  $c_n$  и пластохиноном в  $Q_n$ -сайте, поскольку кривые для пластохинона и пластосемихинона полностью совпадают.

При уменьшении восстановленности пула пластохинонов скорости процессов в высокопотенциальной ветви электронного транспорта изменяются монотонно с характерными временами

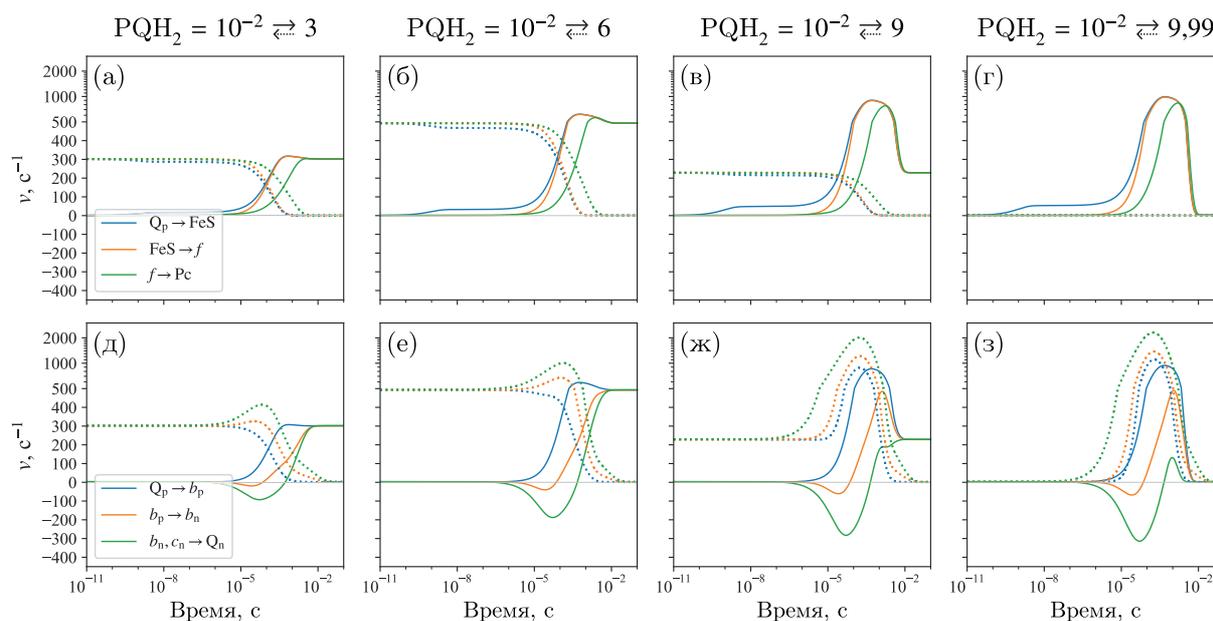


Рис. 6. Динамика изменения скорости отдельных стадий электронного транспорта в высокопотенциальной (*a–z*) и низкопотенциальной (*d–z*) ветвях цитохромного  $b_6f$ -комплекса в ответ на изменение степени восстановления пула пластохинонов: с 0,1 % до 30 % (*a, d*, сплошные линии), с 0,1 % до 60 % (*б, e*, сплошные линии), с 0,1 % до 90 % (*в, жс*, сплошные линии), с 0,1 % до 99,9 % (*z, з*, сплошные линии), с 30 % до 0,1 % (*a, d*, пунктирные линии), с 60 % до 0,1 % (*б, e*, пунктирные линии), с 90 % (*в, жс*, пунктирные линии), с 99,9 % до 0,1 % (*z, з*, пунктирные линии). Суммарная концентрация окисленных и восстановленных форм пластохинона в пуле:  $PQ + PQH_2 = 10$ . Концентрация ферредоксина: восстановленного —  $Fd_{\text{восст.}} = 0,01$ , окисленного —  $Fd_{\text{окисл.}} = 2,99$ ; концентрация пластоцианина: восстановленного —  $Pc_{\text{восст.}} = 0,01$ , окисленного —  $Pc_{\text{окисл.}} = 2,99$ . Значения скорости выше  $500 \text{ c}^{-1}$  приведены в логарифмическом масштабе

порядка 100 мс. Однако в низкопотенциальной ветви ситуация отличается: через 100 мс после уменьшения восстановленности пула скорости достигают своего максимума, после чего начинают снижаться к стационарным значениям.

Кинетические параметры реакций таковы, что время жизни пластосемихинона в  $Q_n$ -сайте очень мало, и его накопление не происходит. Это можно видеть на рис. 7, на котором показана динамика содержания разных форм пластохинона в  $Q_p$ - и  $Q_n$ -сайтах в ходе переходных процессов с разными начальными и конечными условиями. Ни в стационарном состоянии, ни в ходе переходных процессов содержание пластосемихинона в  $Q_n$ -сайте не отличается заметно от нуля (рис. 7, *d–z*). В то же время в  $Q_p$ -сайте увеличение восстановленности пула приводит к накоплению семихинон-радикала. Так, при восстановленности пула хинонов 60 %, соответствующей максимальной скорости переноса электронов на пластоцианин, содержание пластосемихинона достигает 19 % (рис. 7, *б*). Это согласуется с данными спектроскопии электронного парамагнитного резонанса [Sarewicz et al., 2017], указывающими на образование пластосемихинона в  $Q_p$ -сайте при нормальном функционировании цитохромного  $b_6f$ -комплекса. Эксперименты показали, что образующийся пластосемихинон находится в спиновом сопряжении с восстановленным железосерным кластером, что способствует его стабилизации. При максимальной восстановленности пула модель предсказывает увеличение содержания пластосемихинона до почти 100 %, что является крайне маловероятным, поскольку семихинон-радикал обладает высокой неспецифической реакционной активностью. Полное восстановление пула приводит к восстановлению низкопотенциальной ветви электронного транспорта в цитохромном  $b_6f$ -комплексе

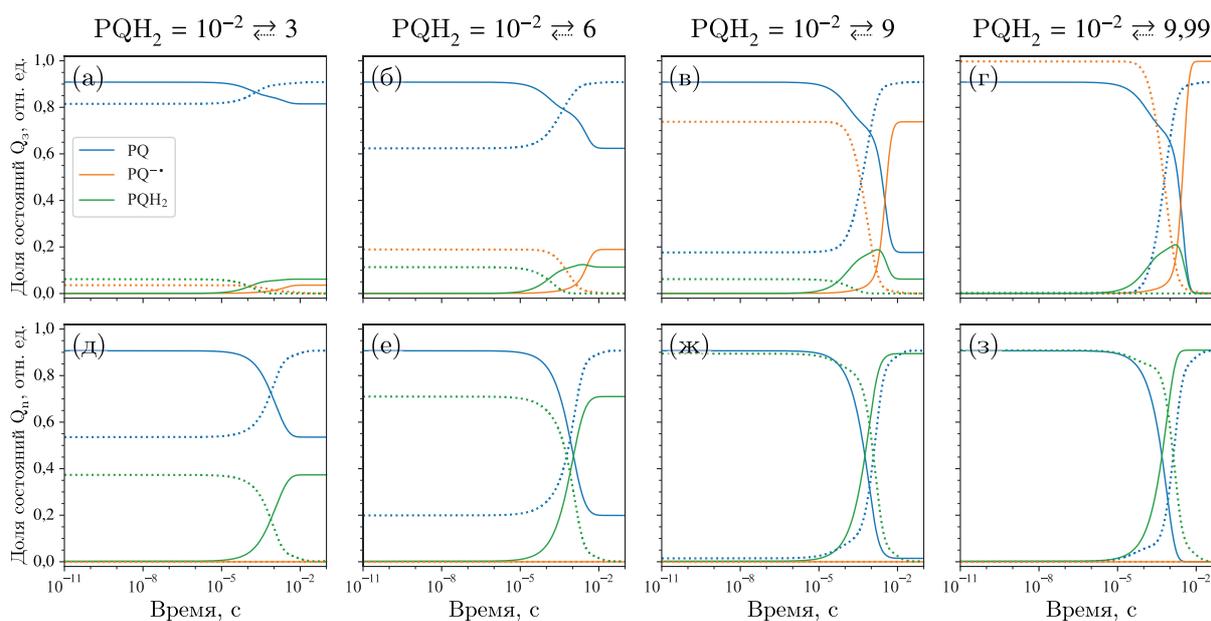


Рис. 7. Динамика содержания пластохинона в окисленном состоянии (PQ, синий), в состоянии семихинона ( $PQ^{\cdot-}$ , оранжевый) и в восстановленном состоянии ( $PQH_2$ , зеленый) в сайтах связывания  $Q_p$  (a–d) и  $Q_n$  (e–h) цитохромного  $b_6f$ -комплекса в ходе переходного процесса, вызванного изменением степени восстановленности пула пластохинонов: с 0,1 % до 30 % (a, d, сплошные линии), с 0,1 % до 60 % (б, e, сплошные линии), с 0,1 % до 90 % (в, ж, сплошные линии), с 0,1 % до 99,9 % (z, з, сплошные линии), с 30 % до 0,1 % (a, d, пунктирные линии), с 60 % до 0,1 % (б, e, пунктирные линии), с 90 % (в, ж, пунктирные линии), с 99,9 % до 0,1 % (z, з, пунктирные линии). Суммарная концентрация окисленных и восстановленных форм пластохинона в пуле:  $PQ + PQH_2 = 10$ . Концентрация ферредоксина: восстановленного —  $Fd_{\text{восст.}} = 0,01$ , окисленного —  $Fd_{\text{окисл.}} = 2,99$ ; концентрация пластоцианина: восстановленного —  $Pc_{\text{восст.}} = 0,01$ , окисленного —  $Pc_{\text{окисл.}} = 2,99$

и, следовательно, невозможности переноса электрона с пластосемихинона на гем  $b_p$ . В таких условиях пластосемихинон должен взаимодействовать с молекулярным кислородом с образованием супероксидного анион-радикала [Baniulis et al., 2013; Rutherford, Osyczka, Rappaport, 2012], поэтому для корректного воспроизведения состояний цитохромного  $b_6f$ -комплекса в модели необходимо учитывать эту реакцию.

## Заключение

Предложен основанный на методах линейной алгебры подход к анализу скорости электронного транспорта через цитохромный  $b_6f$ -комплекс. Зависимость квазистационарного потока электронов через комплекс от степени восстановленности пулов мобильных переносчиков электрона рассматривается как функция отклика, характеризующая этот процесс. Разработано программное обеспечение на языке программирования Python, позволяющее построить основное кинетическое уравнение для комплекса по схеме элементарных реакций и вычислить квазистационарные скорости электронного транспорта через комплекс и динамику их изменения в ходе переходного процесса. Вычисления проводятся в многопоточном режиме, что позволяет эффективно использовать ресурсы современных вычислительных систем и за сравнительно небольшое время получать данные о функционировании комплекса в широком диапазоне параметров. Разработанное программное обеспечение доступно в качестве дополнительной информации к статье, является свободно распространяемым и может быть использовано на условиях лицензии GPL версии 3 [Free Software Foundation, 2007].

Для параметризации модели цитохромного  $b_6f$ -комплекса использованы взятые из литературы данные криоэлектронной микроскопии и окислительно-восстановительного титрования. Несмотря на то что полученные таким образом оценки констант скорости элементарных реакций являются весьма приближительными, результаты моделирования находятся в хорошем согласовании с имеющимися экспериментальными данными: максимальная стационарная скорость переноса электронов на пластоцианин в модели составляет около  $500 \text{ с}^{-1}$ , в то время как экспериментальные оценки указывают на скорость в несколько сот (но не более 1000) электронов в секунду (см. обзор [Sarewicz et al., 2021]). Тем не менее с точки зрения биологии и физической химии разработанную модель следует рассматривать лишь в качестве простейшего подтверждения применимости предложенного математического подхода. Это связано с тем, что в модели не учитывается один из основных аспектов функционирования цитохромного  $b_6f$ -комплекса — его участие в транспорте протонов из стромы хлоропласта в люмен тилакоидов, что чрезвычайно важно для синтеза АТФ. Реакции протонирования и депротонирования пластохинона тесно сопряжены с окислительно-восстановительными реакциями и могут оказывать значительное влияние на скорость электронного транспорта через цитохромный  $b_6f$ -комплекс [Устынюк, Тихонов, 2022]. В рамках предложенного подхода схема реакций модели может быть легко расширена для явного учета протонирования и депротонирования пластохинона и перемещения пласто-семихинона в  $Q_p$ -сайте, однако корректная параметризация этих реакций может потребовать дополнительных исследований.

Предложенный подход может быть легко адаптирован для анализа электронного транспорта в других компонентах фотосинтетической и дыхательной электрон-транспортной цепи, а также других процессов в сложных мультиферментных комплексах, содержащих несколько реакционных центров. В дальнейшем мы планируем, используя предложенный подход, разработать модели остальных компонентов фотосинтетической электрон-транспортной цепи и использовать разработанные модели в качестве компонентов детальной модели электронного транспорта в тилакоидах хлоропластов. При расчете стационарной скорости электронного транспорта в интегральной модели детальные модели отдельных комплексов могут быть заменены на соответствующие функции отклика, что приведет к существенному ускорению вычислений. Другим важным применением предложенной модели представляется ее использование для анализа чувствительности максимальной скорости электронного транспорта через цитохромный  $b_6f$ -комплекс к изменению параметров элементарных реакций. Проведение такого анализа позволит лучше понять механизм функционирования этого комплекса.

## Список литературы (References)

- Демин О. В., Вестерхофф Х. В., Холоденко Б. Н. Математическое моделирование процессов генерации супероксида  $bc_1$  комплексом митохондрий // Биохимия. — 1998. — Т. 63, вып. 6. — С. 755–772.
- Demin O. V., Westerhoff H. V., Kholodenko B. N. Mathematical modelling of superoxide generation with the  $bc_1$  complex of mitochondria // Biochemistry (Moscow). — 1998. — Vol. 63, No. 6. — P. 634–649. (Original Russian paper: Demin O. V., Vesterkhoff Kh. V., Kholodenko B. N. Matematicheskoe modelirovanie protsessov generatsii superoksida  $bc_1$  kompleksom mitokhondrii // Biokhimiya. — 1998. — Vol. 63, No. 6. — P. 755–772.)*
- Камали М. Д., Лебедева Г. В., Демин О. В., Беляева Н. Е., Ризниченко Г. Ю., Рубин А. Б. Кинетическая модель цитохромного  $bf$ -комплекса. Оценка кинетических параметров // Биофизика. — 2004. — Т. 49, № 6. — С. 1061–1068.
- Kamali M. J., Lebedeva G. V., Demin O. V., Beliaeva N. E., Riznichenko G. Yu., Rubin A. B. Kineticheskaya model' tsitokhromnogo  $bf$ -kompleksa. Otsenka kineticheskikh parametrov [A kinetic model of the cytochrome  $bf$ -complex. Evaluation of kinetic parameters] // Biofizika. — 2004. — Vol. 49, No. 6. — P. 1061–1068 (in Russian).*
- Ризниченко Г. Ю., Беляева Н. Е., Коваленко И. Б., Антал Т. К., Горячев С. Н., Маслаков А. С., Плюснина Т. Ю., Федоров В. А., Хрущев С. С., Яковлева О. В., Рубин А. Б. Математическое моделирование электронного транспорта в первичных процессах фотосинтеза // Биохимия. — 2022. — Т. 87, № 10. — С. 1350–1371. — DOI: 10.31857/S0320972522100037

- Riznichenko G. Yu., Belyaeva N. E., Kovalenko I. B., Antal T. K., Goryachev S. N., Maslakov A. S., Plyusnina T. Yu., Fedorov V. A., Khruschev S. S., Yakovleva O. V., Rubin A. B.* Mathematical simulation of electron transport in the primary photosynthetic processes // *Biochemistry (Moscow)*. — 2022. — Vol. 87, No. 10. — P. 1065–1083. (Original Russian paper: *Riznichenko G. Yu., Belyaeva N. E., Kovalenko I. B., Antal T. K., Goryachev S. N., Maslakov A. S., Plyusnina T. Yu., Fedorov V. A., Khruschev S. S., Yakovleva O. V., Rubin A. B.* Matematicheskoe modelirovanie elektronnoogo transporta v pervichnykh protsessakh fotosinteza // *Biokhimiya*. — 2022. — Vol. 87, No. 10. — P. 1350–1371.)
- Тихонов А. Н.* Электронный транспорт в хлоропластах: регуляция и альтернативные пути переноса электронов // *Биохимия*. — 2023. — Т. 88, № 10. — С. 1742–1760. — DOI: 10.31857/S0320972523100032
- Tikhonov A. N.* Elektronnyi transport v khloroplastakh: regulyatsiya i al'ternativnye puti perenosa elektronov [Electron transport in chloroplasts: regulation and alternative pathways of electron transfer] // *Biokhimiya*. — 2023. — Vol. 88, No. 10. — P. 1742–1760 (in Russian).
- Устынюк Л. Ю., Тихонов А. Н.* Окисление пластохинола — лимитирующая стадия в цепи переноса электронов в хлоропластах // *Биохимия*. — 2022. — Т. 87, вып. 10. — С. 1372–1387.
- Ustyniuk L. Yu., Tikhonov A. N.* Plastoquinol oxidation: rate-limiting stage in the electron transport chain of chloroplasts // *Biochemistry (Moscow)*. — 2022. — Vol. 87, No. 10. — P. 1084–1097. — DOI: 10.1134/S0006297922100029 (Original Russian paper: *Ustyniuk L. Yu., Tikhonov A. N.* Okislenie plastokhinola — limitiruyushchaya stadiya v tsepi perenosa elektronov v khloroplastakh // *Biokhimiya*. — 2022. — Vol. 87, No. 10. — P. 1372–1387.)
- Albertson P.-A.* A quantitative model of the domain structure of the photosynthetic membrane // *Trends in Plant Science*. — 2001. — Vol. 6, No. 8. — P. 349–354. — DOI: 10.1016/s1360-1385(01)02021-0
- Anderson E., Bai Z., Bischof C., Blackford S., Demmel J., Dongarra J., Du Croz J., Greenbaum A., Hammarling S., McKenney A., Sorensen D.* LAPACK Users' Guide (Third). — Philadelphia, PA: Society for Industrial and Applied Mathematics, 1999.
- Antal T. K., Kovalenko I. B., Rubin A. B., Tyustjärvi E.* Photosynthesis-related quantities for education and modeling // *Photosynthesis Research*. — 2013. — Vol. 117. — P. 1–30. — DOI: 10.1007/s11120-013-9945-8
- Baniulis D., Hasan S. S., Stofleth J. T., Cramer W. A.* Mechanism of enhanced superoxide production in the cytochrome b6f complex of oxygenic photosynthesis // *Biochemistry*. — 2013. — Vol. 52, No. 50. — P. 8975–8983. — DOI: 10.1021/bi4013534
- Batie C. J., Kamin H.* The relation of pH and oxidation-reduction potential to the association state of the ferredoxin. ferredoxin: NADP<sup>+</sup> reductase complex // *Journal of biological chemistry*. — 1981. — Vol. 256, No. 15. — P. 7756–7763. — DOI: 10.1016/S0021-9258(18)43341-8
- Berry S., Rumberg B.* Kinetic modeling of the photosynthetic electron transport chain // *Bioelectrochemistry*. — 2000. — Vol. 53, No. 1. — P. 35–53. — DOI: 10.1016/S0302-4598(00)00108-2
- Blankenship R. E., Tiede D. M., Barber J., Brudvig G. W., Fleming G., Ghirardi M., Gunner M. R., Junge W., Kramer D. M., Melis A., Moore T. A.* Comparing photosynthetic and photovoltaic efficiencies and recognizing the potential for improvement // *Science*. — 2011. — Vol. 332 (6031). — P. 805–809. — DOI: 10.1126/science.1200165
- Caswell T. A., Droettboom M., Lee A., Hunter J., Firing E., Sales De Andrade E., Hoffmann T., Stansby D., Klymak J., Varoquaux N., Hedegaard Nielsen J.* matplotlib/matplotlib: REL: v3.3.1. — Zenodo, 2021. — DOI: 10.5281/zenodo.592536
- Crofts A. R., Baroli I., Kramer D., Taoka S.* Kinetics of electron transfer between Q<sub>A</sub> and Q<sub>B</sub> in wild type and herbicide-resistant mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* // *Zeitschrift für Naturforschung C*. — 1993. — Vol. 48, No. 3–4. — P. 259–266. — DOI: 10.1515/znc-1993-3-423
- Crofts A. R., Wraight C. A.* The electrochemical domain of photosynthesis // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Bioenergetics*. — 1983. — Vol. 726, No. 3. — P. 149–185. — DOI: 10.1016/0304-4173(83)90004-6

- DalCorso G., Pesaresi P., Masiero S., Aseeva E., Schünemann D., Finazzi G., Joliot P., Barbato R., Leister D.* A complex containing PGRL1 and PGR5 is involved in the switch between linear and cyclic electron flow in *Arabidopsis* // *Cell*. — 2008. — Vol. 132. — P. 273–285. — DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.028
- Fernengel B., Drossel B.* Obtaining the long-term behavior of master equations with finite state space from the structure of the associated state transition network // *J. Phys. A: Math. Theor.* — 2022. — Vol. 55, No. 11. — P. 115201. — DOI: 10.1088/1751-8121/ac515f
- Finazzi G., Minagawa J., Johnson G.N.* The cytochrome b6f complex: a regulatory hub controlling electron flow and the dynamics of photosynthesis? // *Cytochrome complexes: evolution, structures, energy transduction, and signaling*. — Springer, 2016. — P. 437–452.
- FLINT: Fast Library for Number Theory. Version 3.0.0. — 2023. — [Electronic resource]. — <https://flintlib.org/> (accessed: 21.05.2024).
- Free Software Foundation, Inc. GNU General Public License, version 3. — 2007. — [Electronic resource]. — <https://www.gnu.org/licenses/gpl-3.0.html> (accessed: 21.05.2024).
- Hauska G., Hurt E., Gabellini N., Lockau W.* Comparative aspects of quinol-cytochrome c/plastocyanin oxidoreductases // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Bioenergetics*. — 1983. — Vol. 726, No. 2. — P. 97–133. — DOI: 10.1016/0304-4173(83)90002-2
- Hertle A.P., Blunder T., Wunder T., Pesaresi P., Pribil M., Armbruster U., Leister D.* PGRL1 is the elusive ferredoxin-plastoquinone reductase in photosynthetic cyclic electron flow // *Molecular Cell*. — 2013. — Vol. 49. — P. 511–523. — DOI: 10.1016/j.molcel.2012.11.030
- Hill T.L.* Studies in irreversible thermodynamics IV. Diagrammatic representation of steady state fluxes for unimolecular systems // *Journal of Theoretical Biology*. — 1966. — Vol. 10, No. 3. — P. 442–459. — DOI: 10.1016/0022-5193(66)90137-8
- Hope A.B.* Electron transfers amongst cytochrome f, plastocyanin and photosystem I: kinetics and mechanisms // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. — 2000. — Vol. 1456, No. 1. — P. 5–26. — DOI: 10.1016/S0005-2728(99)00101-2
- Hope A.B., Huilgol R.R., Panizza M., Thompson M., Matthews D.B.* The flash-induced turnover of cytochrome b-563, cytochrome f and plastocyanin in chloroplasts. Models and estimation of kinetic parameters // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. — 1992. — Vol. 1100, No. 1. — P. 15–26. — DOI: 10.1016/0005-2728(92)90121-H
- Hunter J.D.* Matplotlib: A 2D graphics environment // *Computing in science & engineering*. — 2007. — Vol. 9, No. 03. — P. 90–95. — DOI: 10.1109/MCSE.2007.55
- Iwata S., Lee J.W., Okada K., Lee J.K., Iwata M., Rasmussen B., Link T.A., Ramaswamy S., Jap B.K.* Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome bc1 complex // *Science*. — 1998. — Vol. 281 (5373). — P. 64–71. — DOI: 10.1126/science.281.5373.64
- Johansson F.* Python-FLINT: Python extension module wrapping FLINT and Arb. — 2024. — [Electronic resource]. — <https://fredrikj.net/python-flint/> (accessed: 21.05.2024).
- Johnson M.P., Vasilev C., Olsen J.D., Hunter C.N.* Nanodomains of cytochrome b6f and photosystem II complexes in spinach grana thylakoid membranes // *The Plant Cell*. — 2014. — Vol. 26, No. 7. — P. 3051–3061. — DOI: 10.1105/tpc.114.127233
- Kalaji H.M., Schansker G., Brestic M., Bussotti F., Calatayud A., Ferroni L., Goltsev V., Guidi L., Jajoo A., Li P., Losciale P., Mishra V.K., Misra A.N., Nebauer S.G., Pancaldi S., Penella C., Pollastrini M., Suresh K., Tambussi E., Yannicari M., Zivcak M., Cetner M.D., Samborska I.A., Stirbet A., Olsovska K., Kunderlikova K., Shelonzek H., Rusinowski S., Bąba W.* Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel // *Photosynthesis research*. — 2016. — Vol. 132, No. 1. — P. 13–66. — DOI: 10.1007/s11120-016-0318-y

- Kalaji H. M., Schansker G., Ladle R. J., Goltsev V., Bosa K., Allakhverdiev S. I., Brestic M., Bussotti F., Calatayud A., Dąbrowski P., Elsheery N. I.* Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues // *Photosynthesis research*. — 2014. — Vol. 122. — P. 121–158. — DOI: 10.1007/s11120-014-0024-6
- Kannt A., Young S., Bendall D. S.* The role of acidic residues of plastocyanin in its interaction with cytochrome f // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1996. — Vol. 1277. — P. 115–126. — DOI: 10.1016/S0005-2728(96)00090-4
- Keizer J.* On the solutions and the steady states of a master equation // *J. Stat Phys.* — 1972. — Vol. 6. — P. 67–72. — <https://doi.org/10.1007/BF01023679>
- Kirchhoff H., Haase W., Wegner S., Danielsson R., Ackermann R., Albertsson P.-A.* Low-light-induced formation of semicrystalline photosystem II arrays in higher plant chloroplasts // *Biochemistry*. — 2007. — Vol. 46 (39). — P. 11169–11176. — DOI: 10.1021/bi700748y
- Klughammer C., Schreiber U.* An improved method, using saturating light pulses, for the determination of photosystem I quantum yield via P700<sup>+</sup>-absorbance changes at 830 nm // *Planta*. — 1994. — Vol. 192, No. 2. — P. 261–268. — DOI: 10.1007/BF01089043
- Klughammer C., Schreiber U.* Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method // *PAM Application Notes*. — 2008a. — Vol. 1. — P. 27–35.
- Klughammer C., Schreiber U.* Saturation Pulse method for assessment of energy conversion in PS I // *PAM Application Notes*. — 2008b. — Vol. 1. — P. 11–14.
- 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 (OJIP transient) and changes in 820 nm-transmittance signal of photosynthesis // *Photosynthetica*. — 2009. — Vol. 47, No. 4. — P. 483–498. — DOI: 10.1007/s11099-009-0074-8
- Lopez C. F., Garbett S. P.* Pysb: A modeling framework to explore biochemical signaling processes and cell-decisions // *Biophysical Journal*. — 2014. — Vol. 106, No. 2. — P. 643a. — DOI: 10.1016/j.bpj.2013.11.3559
- Lopez C. F., Muhlich J. L., Bachman J. A., Sorger P. K.* Programming biological models in Python using PySB // *Molecular systems biology*. — 2013. — Vol. 9, No. 1. — P. 646. — DOI: 10.1038/msb.2013.1
- Malkin R., Knaff D. B., Bearden A. J.* The oxidation–reduction potential of membrane-bound chloroplast plastocyanin and cytochrome f // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. — 1973. — Vol. 305, No. 3. — P. 675–678. — DOI: 10.1016/0005-2728(73)90091-1
- Meurer A., Smith C. P., Paprocki M., Čertík O., Kirpichev S. B., Rocklin M., Kumar A., Ivanov S., Moore J. K., Singh S., Rathnayake T., Vig S., Granger B. E., Muller R. P., Bonazzi F., Gupta H., Vats S., Johansson F., Pedregosa F., Curry M. J., Terrel A. R., Roučka Š., Saboo A., Fernando I., Kulal S., Cimrman R., Scopatz A.* SymPy: symbolic computing in Python // *PeerJ Computer Science*. — 2017. — Vol. 3. — P. e103. — DOI: 10.7717/peerj-cs.103
- Meyer T. E., Zhao Z. G., Cusanovich M. A., Tollin G.* Transient kinetics of electron transfer from a variety of c-type cytochromes to plastocyanin // *Biochemistry*. — 1993. — Vol. 32 (17). — P. 4552–4559. — DOI: 10.1021/bi00068a010
- Millett F., Durham B.* Kinetics of electron transfer within cytochrome bc1 and between cytochrome bc1 and cytochrome c // *Photosynthesis research*. — 2004. — Vol. 82. — P. 1–16. — DOI: 10.1023/B:PRES.0000040434.77061.ca
- Modi S., He S., Gray J. C., Bendall D. S.* The role of surface-exposed Tyr-83 of plastocyanin in electron transfer from cytochrome c // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. — 1992. — Vol. 1101, No. 1. — P. 64–68. — DOI: 10.1016/0167-4838(92)90467-R

- Moser C. C., Dutton P. L. Engineering protein structure for electron transfer function in photosynthetic reaction centers // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. – 1992. – Vol. 1101, No. 2. – P. 171–176. – DOI: 10.1016/0005-2728(92)90205-G
- Moser C. C., Farid T. A., Chobot S. E., Dutton P. L. Electron tunneling chains of mitochondria // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. – 2006. – Vol. 1757, No. 9–10. – P. 1096–1109. – DOI: 10.1016/j.bbabi.2006.04.015
- mpmath: a Python library for arbitrary-precision floating-point arithmetic (version 1.3.0). – 2023. – [Electronic resource]. – <http://mpmath.org/> (accessed: 21.05.2024).
- Munekage Y., Hojo M., Meurer J., Endo T., Tasaka M., Shikanai T. PGR5 is involved in cyclic electron flow around photosystem I and is essential for photoprotection in *Arabidopsis* // *Cell*. – 2002. – Vol. 110. – P. 361–371. – DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00867-X
- Rutherford A. W., Osyczka A., Rappaport F. Back-reactions, short-circuits, leaks and other energy wasteful reactions in biological electron transfer: redox tuning to survive life in O<sub>2</sub> // *FEBS letters*. – 2012. – Vol. 586, No. 5. – P. 603–616. – DOI: 10.1016/j.febslet.2011.12.039
- Sarewicz M., Bujnowicz L., Bhaduri S., Singh S. K., Cramer W. A., Osyczka A. Metastable radical state, nonreactive with oxygen, is inherent to catalysis by respiratory and photosynthetic cytochromes bc<sub>1</sub>/b<sub>6</sub>f // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – Vol. 114, No. 6. – P. 1323–1328. – DOI: 10.1073/pnas.1618840114
- Sarewicz M., Pintscher S., Pietras R., Borek A., Bujnowicz L., Hanke G., Cramer W. A., Finazzi G., Osyczka A. Catalytic reactions and energy conservation in the cytochrome bc<sub>1</sub> and b<sub>6</sub>f complexes of energy-transducing membranes // *Chemical Reviews*. – 2021. – Vol. 121, No. 4. – P. 2020–2108. – DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00712
- Sarewicz M., Szwalec M., Pintscher S., Indyka P., Rawski M., Pietras R., Mielecki B., Koziej L., Jaciuk M., Glatt S., Osyczka A. High-resolution cryo-EM structures of plant cytochrome b<sub>6</sub>f at work // *Science Advances*. – 2023. – Vol. 9, No. 2. – P. eadd9688. – DOI: 10.1126/sciadv.add9688
- Schnakenberg J. Network theory of microscopic and macroscopic behavior of master equation systems // *Rev. Mod. Phys.* – 1976. – Vol. 48, No. 4. – P. 571–585. – DOI: 10.1103/revmodphys.48.571
- Shapiguzov A., Chai X., Fucile G., Longoni P., Zhang L., Rochaix J. D. Activation of the St7/STN7 kinase through dynamic interactions with the cytochrome b<sub>6</sub>f complex // *Plant Physiol.* – 2016. – Vol. 171. – P. 82–92. – DOI: 10.1104/pp.15.01893
- Singh S. K., Hasan S. S., Zakharov S. D., Naurin S., Cohn W., Ma J., Whitelegge J. P., Cramer W. A. Trans-membrane signaling in photosynthetic state transitions: redox- and structure-dependent interaction in vitro between St7 kinase and the cytochrome b<sub>6</sub>f complex // *J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol. 291. – P. 21740–21750. – DOI: 10.1074/jbc.M116.732545
- Soriano G. M., Guo L. W., De Vitry C., Kallas T., Cramer W. A. Electron transfer from the Rieske iron-sulfur protein (ISP) to cytochrome f in vitro: is a guided trajectory of the ISP necessary for competent docking? // *Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Vol. 277 (44). – P. 41865–41871. – DOI: 10.1074/jbc.M205772200
- Stiehl H. H., Witt H. T. Quantitative treatment of the function of plastoquinone in photosynthesis // *Zeitschrift für Naturforschung B*. – 1969. – Vol. 24, No. 12. – P. 1588–1598. – DOI: 10.1515/znB-1969-1219
- Stroebel D., Choquet Y., Popot J.-L., Picot D. An atypical haem in the cytochrome b<sub>6</sub>f complex // *Nature*. – 2003. – Vol. 426. – P. 413–418. – DOI: 10.1038/nature02155
- Szwalec M., Bujnowicz L., Sarewicz M., Osyczka A. Unexpected heme redox potential values implicate an uphill step in cytochrome b<sub>6</sub>f // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2022. – Vol. 126, No. 47. – P. 9771–9780. – DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c05729

- Tikhonov A. N.* The cytochrome b6f complex at the crossroad of photosynthetic electron transport pathways // *Plant Physiology and Biochemistry*. — 2014. — Vol. 81. — P. 163–183. — DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.12.011
- Tikhonov A. N.* The cytochrome b6f complex: plastoquinol oxidation and regulation of electron transport in chloroplasts // *Photosynthesis Research*. — 2024. — Vol. 159, No. 2. — P. 203–227.
- Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J., van der Walt S.J., Brett M., Wilson J., Jarrod Millman K., Mayorov N., Nelson A.R.J., Jones E., Kern R., Larson E., Carey C.J., Polat İ., Feng Yu, Moore E.W., VanderPlas J., Laxalde D., Perktold J., Cimrman R., Henriksen I., Quintero E.A., Harris C.R., Archibald A.M., Ribeiro A.H., Pedregosa F., van Mulbregt P.* SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python // *Nature methods*. — 2020. — Vol. 17, No. 3. — P. 261–272. — DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2