

ЭНЕРГОЗАВИСИМОЕ НЕФОТОХИМИЧЕСКОЕ ТУШЕНИЕ: PsbS, LhcSR И ДРУГИЕ ИГРОКИ

Обзор

© 2025 В.В. Птушенко^{1,2*}, А.П. Разживин¹

¹ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
119992 Москва, Россия; электронная почта: ptush@belozersky.msu.ru

² Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН, 119334 Москва, Россия

Поступила в редакцию 17.10.2024

После доработки 15.11.2024

Принята к публикации 15.11.2024

Для растений, обладающих высокочувствительным к свету фотосинтетическим аппаратом, приспособленным к улавливанию энергии света даже при слабых световых потоках, чрезвычайно опасны быстрые и значительные возрастания этого потока. Для решения проблем, вызываемых избыточной энергией падающего света, растения выработали целый ряд защитных механизмов, среди которых чрезвычайно важную роль играет нефотохимическое тушение возбуждённых состояний хлорофилла. Под нефотохимическим тушением, как правило, понимают совокупность различных механизмов, приводящих к сокращению времени жизни возбуждённых состояний хлорофилла в фотосинтетической антенне и тем самым к снижению эффективного воздействия света на весь фотосинтетический аппарат. Наиболее быстродействующий механизм нефотохимического тушения – так называемое энергозависимое тушение, которое активируется образованием трансмембранных протонного потенциала на тилакоидной мембране. Основные молекулярные игроки в этом механизме – кислородсодержащие каротиноиды ксантофиллы и белки тилакоидной мембранны: компонент антенны, LhcSR, у водорослей и мхов и компонент фотосистемы 2, PsbS, у высших растений и эволюционно наиболее близких к ним групп водорослей. Данный обзор посвящён молекулярным механизмам энергозависимого нефотохимического тушения, причём основной акцент сделан на PsbS-зависимом тушении. Установление того факта, что PsbS не связывает пигменты, породило представление о косвенной PsbS-зависимой активации тушения, т.е. о генерации центров тушения в других компонентах фотосинтетической антенны. В качестве механизмов такой активации в настоящее время рассматриваются: влияние PsbS на константы кислотной диссоциации аминокислотных остатков взаимодействующих с ним белков главной и малых антенн фотосистемы 2; влияние на конформацию каротиноидов в антенных белках; наконец, обсуждается роль PsbS как «мембранный смазки», увеличивающей подвижность главных антенн, LHCII, и обеспечивающей им возможность миграции в тилакоидной мембране и агрегации с последующим переходом в затущенное состояние.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: энергозависимое тушение, прямое и косвенное тушение, PsbS, LhcSR, LHCII.

DOI: 10.31857/S0320972525010048 **EDN:** CPYRWS

ВВЕДЕНИЕ

Нефотохимическое тушение (НФТ) возбуждённых состояний хлорофилла (Хл), рассматриваемое в этом обзоре, – это непременный и на первый взгляд неожиданный спутник оксигенного фотосинтеза. С точки зрения первичных процессов

фотосинтеза НФТ является конкурентом фотосинтеза за энергию света. Однако наличие такого конкурента необходимо для безопасной организации всей молекулярной системы фотосинтетического аппарата (ФСА), что связано с тремя обстоятельствами: (а) высокая фотохимическая активность Хл в кислородной атмосфере; (б) существенные и быстрые перепады интенсивности света на поверхности земли даже на открытом

* Адресат для корреспонденции.

пространстве, а в ещё большей степени – под пологом растительного сообщества; (в) необходимость осуществлять фотосинтез даже при низкой интенсивности света, доходящего в этих условиях до растения. А именно, зная коэффициент молярной экстинкции (ε) Хл (порядка 10^5 літр·моль $^{-1}$ ·см $^{-1}$ [1] в зависимости от растворителя, типа Хл и выбора синего или красного пика), нетрудно показать, что при умеренной интенсивности света (100 мкмоль фотонов·м $^{-2}$ ·с $^{-1}$) средняя частота поглощения квантов света одной молекулой Хл будет составлять порядка 1 с $^{-1}$, что на 2 порядка ниже скорости переноса электрона по электрон-транспортной цепи. Учитывая, что такая интенсивность примерно соответствует естественной освещённости на открытом пространстве в пасмурный день, а под пологом леса или в толще воды на глубине всего нескольких метров может быть ещё в 10–100 раз ниже [2, 3], можно оценить, что как минимум 99,0–99,9% времени ФСА будет простоять в ожидании очередного кванта света, если поглощение света и фотохимическую реакцию обеспечивает одна и та же молекула Хл. Таким образом, фотосинтез в этих условиях лимитируется доступностью света, и естественный способ повышения его интенсивности – увеличение светосбора за счёт создания большой (содержащей как минимум 10^2 молекул Хл и/или других эффективных пигментов) светособирающей антенны вокруг каждого реакционного центра (РЦ). И действительно, практически все фотосинтезирующие организмы (если не считать архебактерий, использующие бактериородопсин в качестве светозависимого генератора мембранных потенциала) имеют фотосинтетические антенны – пигмент-белковые комплексы приблизительно с таким количеством пигментных молекул.

Однако оборотной стороной наличия фотосинтетической антенны и высокой эффективности светосбора оказывается уязвимость ФСА перед воздействием интенсивного света. Как уже было сказано, для интенсивности света в природных условиях характерны существенные и быстрые флуктуации – более чем на порядок величины на открытых пространствах в силу изменения одной лишь облачности; под пологом леса смена условий затенения и солнечных бликов может давать 10^2 – 10^3 -кратные флуктуации освещённости с характерными временами порядка минут [2, 4]. Если

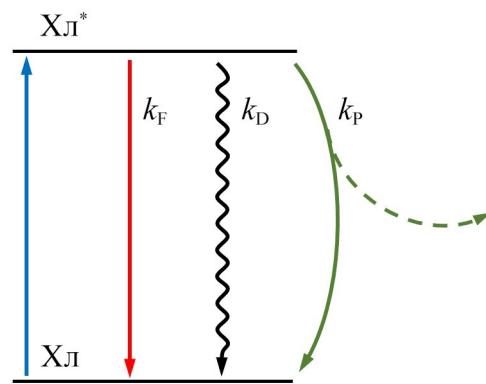
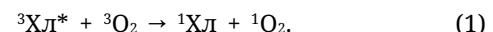


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая пути дезактивации возбуждённого состояния Хл антенны. Показаны пути дезактивации и их эффективные константы для всего пула молекул Хл антенны: через фотохимическую реакцию (k_p , дугообразная зелёная стрелка), безызлучательную тепловую диссипацию (k_D , чёрная волнистая стрелка) и флуоресценцию (k_F , вертикальная красная стрелка). Синей вертикальной стрелкой, направленной вправо, показан переход Хл в возбуждённое состояние при поглощении кванта света

при некоторой интенсивности света его поглощение антенной и последующие реакции переноса электрона по цепи были сбалансированы, то при её многократном возрастании антenna насытит поток электронов, скорость которого теперь уже станет лимитирующей, и возрастёт время жизни возбуждённых состояний Хл антенны (Хл^*), которые окажутся более невостребованными для обеспечения энергией фотохимической реакции разделения зарядов в РЦ (рис. 1). В результате возрастёт и вероятность синглет-триплетного перехода $^3\text{Хл}^* \rightarrow ^1\text{Хл}^*$ [5], а вместе с ним и вероятность образования синглетного кислорода в реакции (1) с триплетным Хл антенны [6–12]:



В подобных условиях избыточной энергии света необходим механизм, который позволит снизить время жизни Хл^* и тем самым генерацию синглетного кислорода. Иными словами – необходим иной «потребитель» запасённой в антенне энергии. Такой потребитель всегда доступен и готов поглотить любое количество энергии – это тепловой резервуар. И необходимо только открыть канал для тепловой диссипации энергии

Принятые сокращения: Вио – виолаксантин; Зеа – зеаксантин; Кар – каротиноиды; Кс – ксантофиллы; НФТ – нефотохимическое тушение; ПБК – пигмент-белковый комплекс; РЦ – реакционный центр; ФС1 и ФС2 – фотосистемы 1 и 2; ФСА – фотосинтетический аппарат; Хл – хлорофилл; Хл^* – возбуждённое состояние Хл антенны; DGDG – дигалактозил-диацилглицерол; LHCII (LHCII) – главный светособирающий комплекс фотосистемы 1 (2); LhcSR – фотопротекторный белок водорослей; ОСР – оранжевый каротиноидный белок; PsbS – фотопротекторная субъединица S фотосистемы 2; qE – энергозависимый компонент нефотохимического тушения.

возбуждённых состояний молекул Хл. Механизм, открывающий такой канал, получил название «нефотохимическое тушение». Слово «тушение» здесь происходит из оптического способа его наблюдения: с сокращением времени жизни Хл* снижается (тушится) и интенсивность его флуоресценции. Эпитет «нефотохимическое» означает несвязанность этого канала с фотохимической реакцией, запускающей цепь реакций переноса электронов. Этот канал дезактивации Хл*, как было отмечено в начале статьи, конкурирует с энергозапасающими фотосинтетическими процессами, однако он необходим для защиты ФСА от синглетного кислорода в условиях избытка света. Ключевым требованием к нему в таком случае оказывается его регулируемость – возможность (частичного) открытия/закрытия при изменении условий освещения и/или других условий, которые приводят к нарушению баланса между поглощённой и использованной в реакциях фотосинтеза энергией света. В самом тушении и его регуляции участвуют каротиноидные пигменты ксантофиллы (Кс) и белки, среди которых, по крайней мере у высших растений, центральную роль играет субъединица S фотосистемы 2 (ФС2), обозначаемая PsbS, а у большинства групп водорослей – очень близкий к антенным комплексам белок LhcSR (у мохообразных в НФТ участвуют оба белка).

В то время как роль LhcSR в НФТ как центра тушения в достаточной мере ясна, несмотря на почти четверть века изучения PsbS-зависимого НФТ, механизм этого процесса остаётся не вполне ясным. Появляющиеся новые данные об индукции НФТ в некоторых мутантах или модельных системах претендуют на опровержение сложившихся представлений о центрах тушения в ФСА. В последние годы появился большой объём новой информации как о макромолекулярных структурах суперкомплексов реакционных центров и светособирающих антенн, так и о взаимодействиях отдельных аминокислотных остатков, лежащих в основе процессов индукции НФТ. Данный обзор посвящён в первую очередь роли PsbS в НФТ. Тем не менее для цельности изложения мы также приводим здесь данные и о функциях ксантофиллов в этом процессе.

Изложение существующих на сегодня представлений о механизмах НФТ мы предварим описанием тех пигмент-белковых комплексов (ПБК) тилакоидной мембранны, в которых реализуется тушение – антенных комплексов ФС2 и фотосистемы 1 (ФС1). Поскольку их строение различается у разных фотосинтетических организмов, мы сделаем акцент в первую очередь на организации ПБК в «зелёной ветви» эукариотических фотосинтетиков (Viridiplantae).

ХЛОРОФИЛЛ-СОДЕРЖАЩИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПИГМЕНТ-БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ

В тилакоидной мембране хлоропласта Хл и каротиноиды (Кар) локализованы как в самих фотосинтетических реакционных центрах ФС1 и ФС2, так и в антенных комплексах. В ФС2 молекулы Хл содержатся в белках D1 и D2 (продукты генов *psbA* и *psbD*), образующих реакционный центр (по 6 молекул Хл *a*), и в белках CP47 и CP43 (продукты генов *psbB* и *psbC*; содержат 16 и 13 Хл *a*, а также 5 и 3–4 молекулы Кар соответственно [13, 14]), образующих внутреннюю антенну ФС2. Внешние антенные комплексы, ассоциированные преимущественно с ФС2, образованы продуктами большого семейства генов *lhcB*. Главный антенный комплекс LHCII представляет собой гомо- или гетеротример, состоящий из трёх очень похожих друг на друга белков LhcB1, -2 и -3 (гомотример LhcB1 или гетеротример LhcB1 с LhcB2 и LhcB3), каждый из которых содержит 8 Хл *a*, 6 Хл *b* и 4 Кс: 2 лютеина, неоксантины и виолаксантин (Вио), который может заменяться на зеаксантины (Зеа) [15]. (У зелёной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* несколько больший набор гомологичных белков: LhcB1–LhcB9 [16].) Непосредственно на периферии реакционных центров ФС2, между ними и комплексами главных антенн, располагаются малые мономерные антенны CP29, CP26 и CP24 (CP24 отсутствует у зелёных водорослей) – продукты генов *lhcB4*, *lhcB5* и *lhcB6*, содержащие по 14 (11 Хл *a* + 3 Хл *b*), 13 (10 + 3) и 11 (7 + 4) молекул Хл и по 3 Кар соответственно [15]. В наземных растениях перечисленные ПБК существуют в виде суперкомплексов: двух комплексов ФС2 (обозначаемых С), двух прочно связанных (S) и двух умеренно связанных (M) главных антенных комплексов; такие суперкомплексы обозначают C₂S₂M₂. При высокой освещённости часть антенн может диссоциировать, оставляя «редуцированные» суперкомплексы C₂S₂ и C₂S [17]. В хлоропластах шпината [18], а также водорослей *C. reinhardtii* [19] и *Chlorella sorokiniana* [20] были обнаружены более крупные комплексы C₂S₂M₂L₂, включающие дополнительно два слабо связанных антенных комплекса (L). Таким образом, на один суперкомплекс ФС2 приходится до 200 молекул Хл (рис. 2).

Где-то на границе ФС2 располагается субъединица S (PsbS), ответственная за индукцию НФТ, имеющаяся у всех групп «зелёной ветви» фотосинтезирующих организмов (Viridiplantae). Её точная локализация представляет пока неразрешённую проблему: её не удается увидеть с помощью криоэлектронной микроскопии, что говорит о том, что она либо очень слабо связана с ФС2,

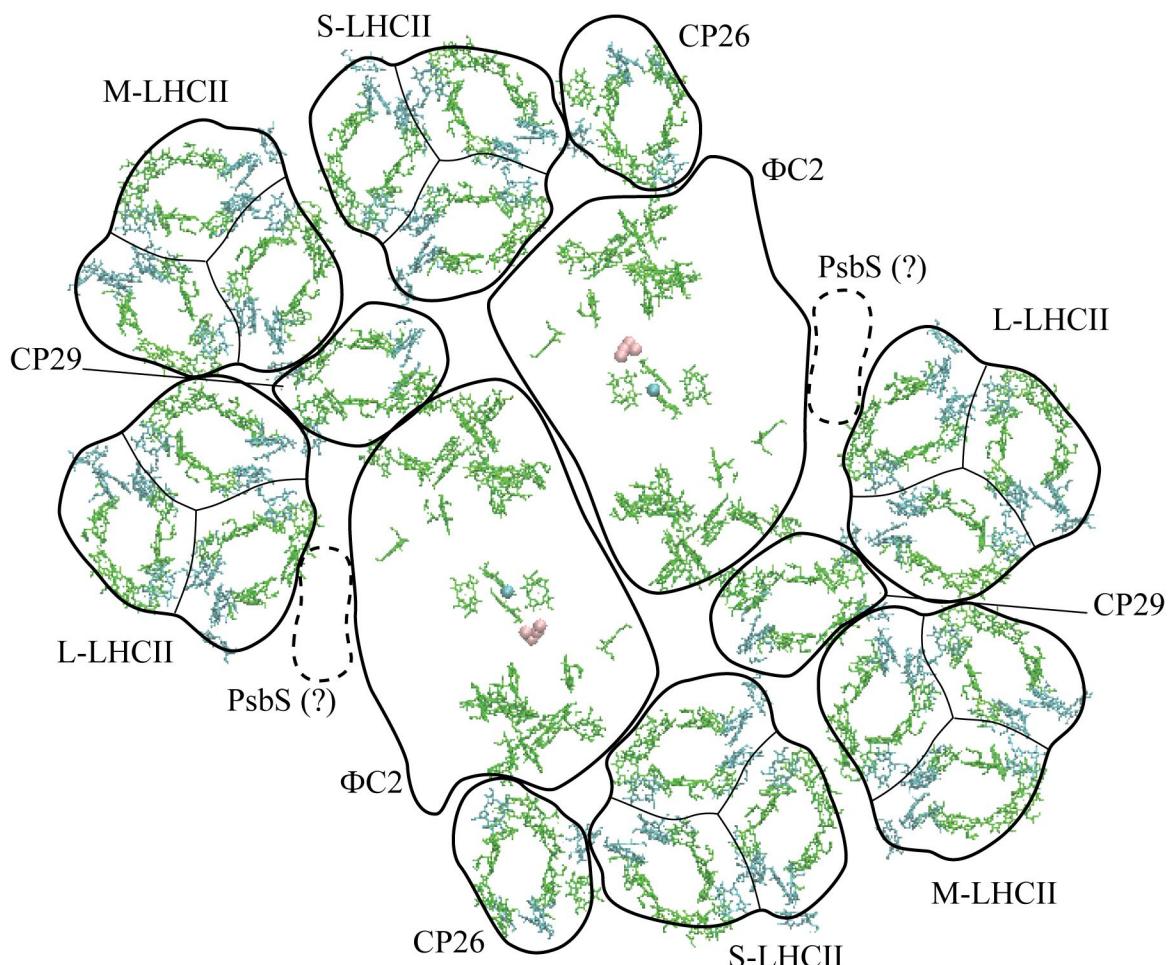


Рис. 2. Схематичное изображение суперкомплекса ФС2, $C_2S_2M_2L_2$, включающего димер комплексов ФС2 (обозначаемых С) и по паре прочно (S), умеренно (M) и слабо связанных (L) главных антенных комплексов LHCII. Суперкомплекс стабилизируется малыми антеннами CP29, CP26, CP24 (последняя имеется у высших растений, но отсутствует у зелёных водорослей); вид в плоскости мембранны (со стороны стромы). Приблизительные контуры белковых субъединиц показаны сплошной линией, расположение молекул Хл (без фитольных «хвостов») – зелёным (Хл a) или бирюзовым цветом (Хл b). Бирюзовой и розовыми точками показано расположение атомов железа и марганца в ФС2 соответственно. Пересекающиеся в проекции на плоскость мембранны фрагменты белков (в частности, длинное плечо белка CP29, контактирующее с ФС2 со стороны стромы) не показаны. За основу схемы взяты данные криоэлектронной микроскопии о структуре суперкомплекса из *C. reinhardtii* (код pdb: 6KAD [16]). Предполагаемое место расположения субъединицы PsbS соответствует гипотезе Su et al. [17] для высших растений

либо может связываться с ней в различных позициях [21]. Эта ситуация сохраняется вплоть до самого последнего времени [22]. У всех групп водорослей и у мхов в тилакоидной мембране присутствует также другой белок, вызывающий НФТ, LhcSR (Light-Harvesting Complex Stress-Related protein). Показано, что у мха *Physcomitrella patens* LhcSR связан с комплексами LHCII и локализуется преимущественно в тилакоидах стромы и немногого – на краях гран [23].

Вторым основным местом локализации Хл в ФСА являются РЦ и антенны ФС1. Как и в случае ФС2, они образуют суперкомплексы, причём весьма различные у разных групп фотосинтетических организмов. Для цианобактерий характерны три-

меры и в некоторых случаях тетрамеры ФС1, для которых роль светособирающих антенн выполняют водорастворимые фикобилины, но в некоторых условиях (при дефиците железа) это могут быть и хлорофилл-содержащие белки IsiA, обладающие некоторым сходством с белком внутренней антенны ФС2, CP43, и образующие кольцо вокруг тримера ФС1 [24]. Для эукариотических фотосинтетиков характерны хлорофилл-содержащие мембранные антенны Lhcr в линии красных водорослей или гомологичные им Lhca – в линии зелёных водорослей и высших растений. Количество таких антенн на один РЦ ФС1 у высших растений – 4, а у зелёных водорослей – 10 (возможно, что это количество может меняться при акклиматации

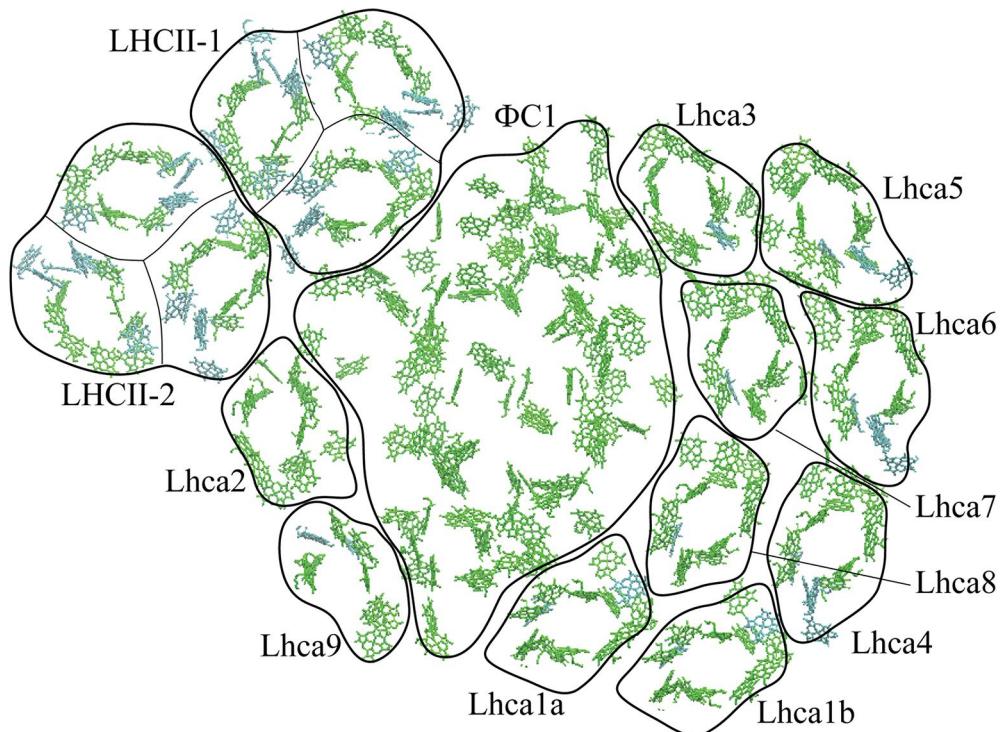


Рис. 3. Схематичное изображение суперкомплекса ФС1 (в литературе обозначаемого как PSI-LHCl-LHCII), включающего комплекс ФС1, несколько антенных комплексов LHCII (продукты генов *lhca1–lhca9*) и два главных антенных комплекса ФС2, LHCII; вид в плоскости мембраны. В зависимости от вида и условий освещения суперкомплексы ФС1 могут содержать меньшее число антенн. За основу схемы взяты данные криоэлектронной микроскопии о структуре суперкомплекса из *C. reinhardtii* (код pdb: 7D0J [28])

к изменению интенсивности света), причём антенны в пределах каждого суперкомплекса представляют собой различные, хотя и близкие белки (Lhcr1, Lhcr2 и Lhcr3 – у красных водорослей, Lhca1–Lhca9 – у зелёных, Lhca1–Lhca6 – у наземных растений). Кроме того, главный антенный комплекс ФС2, LHCII, также может пристыковываться к антенным комплексам ФС1 (рис. 3). По-видимому, именно эти антенны, окружающие РЦ ФС1, препятствуют их три- или тетрамеризации, в связи с чем у эукариотов суперкомплексы ФС1 с антенной содержат только один комплекс ФС1 [24]. Содержание Хл и Кар в одном антенном белке Lhca составляет, в зависимости от вида и белка, от 12 до 19 молекул Хл (9–19 Хл а и 1–5 Хл б) и от 2 до 5 молекул Кар (лютеин, бета-каротин, а также Вио или Зеа) [25–27]. В целом же можно оценить, что с учётом 96 молекул Хл а в РЦ ФС1 такие суперкомплексы содержат до 250 молекул Хл у зелёных водорослей и 150 Хл – у наземных растений (или приблизительно до 330 и 190 соответственно – при наличии в суперкомплексе LHCII).

Комплексы ФС1 располагаются в стромальных участках тилакоидов. Как упоминалось выше, у организмов, обладающих белком НФТ LhcSR (по крайней мере у *P. patens*), он также присутствует в тилакоидах стромы и, следовательно, может тушить возбуждённые состояния Хл в суперком-

плексах ФС1 за счёт взаимодействия с антеннами LHCII, связанными с ФС1 [29]. Однако заметное снижение роли LHCII в светосборе для ФС1, произошедшее при переходе от водорослей к высшим растениям, вероятно, сделало LhcSR-зависимое НФТ ненужным и привело к исчезновению этого белка у сосудистых растений [30]. Кроме того, экспериментальные данные и результаты модельных расчётов показывают, что при наиболее обычных условиях (при умеренно высоких интенсивностях света, характерных для естественного освещения) интенсивность флуоресценции ФС1 относительно невелика – от ~5 до 14% (см. подробное обсуждение в статье Schreiber и Klughammer [31]; флуоресценция ФС1 может достигать 25–30%, по крайней мере у цианобактерий и эукариотических водорослей, однако это происходит лишь при интенсивностях порядка 5000–8000 мкмоль фотонов $\text{m}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ [32], т.е. примерно в 2,5–4 раза выше, чем максимально возможная интенсивность света на поверхности Земли в субтропической зоне [33]). Это указывает на относительно низкую стационарную концентрацию возбуждённых состояний Хл в ФС1 в естественных условиях освещения, не требующую привлечения дополнительных эффективных механизмов тушения. Поэтому рассматриваемые ниже механизмы тушения в основном относятся к Хл антенн, связанных с ФС2.

ОСНОВНЫЕ ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ

Формально открытие канала тепловой дезактивации Хл* описывается возрастанием константы тепловой диссипации k_{D} (рис. 1) и связано с переносом возбуждения на пигмент (или группу пигментов) с короткоживущим возбуждённым состоянием. Оказавшись на этом пигменте-ловушке, энергия возбуждения быстро перераспределяется по тепловым (колебательным) степеням свободы молекулы и её окружения, не представляющим опасности с точки зрения химической активности. Такие пигменты или группы пигментов называют центрами тушения; фактически они действительно играют роль стоков для возбуждения, мигрирующего по антенне. Неоднократно было показано, что в безызлучательной тепловой диссипации избыточной энергии, поглощённой фотосинтетической антенной, активно участвуют каротиноиды [34, 35], что связано с коротким временем жизни их возбуждённого состояния (порядка 10 пс [36], что много меньше, чем у Хл – порядка 1 нс в зависимости от состояния ФСА [37]). Однако роль конкретного каротиноида в индукции НФТ может быть различной: он может сам становиться центром тушения (в этом случае говорят о прямом тушении (direct quenching)) либо способствовать формированию других центров тушения, т.е. косвенно активировать НФТ (indirect activation of quenching).

Не останавливаясь здесь подробно на механизмах прямого тушения, отметим только, что одной из ключевых гипотез здесь была модель молекулярного переключения передач (molecular gear shift model), рассматривающая каротиноид Зеа как основной тушитель [38]. Оценки энергий «тёмного» (спектрально запрещённого, но активно участвующего в переносе энергии) возбуждённого состояния S1 Зеа и Вио, сделанные Frank et al. [38], говорили о том, что для Зеа (с энергией S1 более низкой, чем энергия первого электронно-возбуждённого состояния Хл) предпочтителен перенос энергии с Хл на Зеа с последующим тушением; в то же время для Вио (с более высокой энергией S1) предпочтителен перенос в направлении Вио → Хл, что делало его более эффективным светосборщиком (рис. 4). Эта фотофизическая модель прекрасно увязывалась с представлениями о фотозащитной роли Кар виолаксантинового цикла, которая незадолго до того была показана Demmig-Adams [39] после трёх десятилетий неясности этой функции со времён открытия виолаксантинового цикла Сапожниковым и др. [40]. Позже эта модель подвергалась критике: появлялись данные о том, что энергии S1 Зеа и Вио *in situ* (в LHCII) значительно меньше различаются, чем *in vitro*

(в растворителях) [41]; что перенос энергии, скорее всего, происходит не на Зеа, а на лютеин, по крайней мере в LHCII [42]; наконец, что величина (и даже знак) разности энергий Кар и Хл практически не влияют на возникновение Кар-зависимого тушения [43]. В качестве альтернативы модели молекулярного переключения передач с переносом энергии возбуждения на Зеа в литературе также фигурировала модель НФТ по механизму с переносом заряда (charge transfer, CT) [44]. Фактически это тоже Зеа-зависимое тушение, но за счёт переноса не энергии нейтрального возбуждения, а электрона от Зеа на Хл, в результате которого образуется быстро рекомбинирующая пара Хл[–]–Зеа⁺. В этом механизме также предполагается особенная роль Зеа в НФТ за счёт его низкого потенциала ионизации (наиболее низкого из всех каротиноидов виолаксантинового цикла). В настоящее время, по-видимому, СТ-механизм перестал рассматриваться как существенный механизм НФТ в LHCII [45], однако его участие в тушении в малых антенных ФС2, СР24, СР26, СР29 [46], и в LhcSR [47] не вызывает сомнений.

Представление о возможности косвенной Зеа-зависимой активации НФТ в антенные возникло вскоре после первой модели прямого тушения в силу иных (не согласующихся с моделью молекулярного переключения передач) результатов расчёта энергий состояния S1 Вио и Зеа [41, 48]. Предполагалось, что Зеа может облегчать конформационный переход LHCII в потушенную форму [41] либо повышать чувствительность LHCII к закислению люмена, стимулирующему НФТ [49].

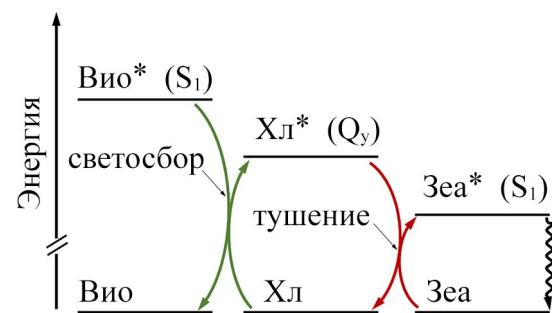


Рис. 4. Схема взаимодействия пигментов виолаксантинового цикла с Хл антенны в соответствии с моделью молекулярного переключения передач Frank et al. [38]. Дугообразные стрелки показывают перенос нейтрального возбуждения между молекулами пигментов, при котором возбуждённая молекула-донор переходит в основное состояние, а невозбуждённая молекула-акцептор – в возбуждённое. В соответствии с моделью перенос энергии между рассматриваемыми пигментами (Хл, Вио и Зеа) происходит преимущественно в направлении Вио → Хл → Зеа. Волнистой стрелкой показан безызлучательный и не сопровождающийся переносом энергии переход Зеа* в основное состояние (тепловая диссипация энергии возбуждения)

Выше мы упоминали, что в регуляции НФТ, наряду с Кс, центральную роль играет белок PsbS. С момента обнаружения этой роли [50] представления о механизме его участия в НФТ эволюционировали от прямого тушения до косвенного. В силу значения этого белка для НФТ мы посвятим ему (а также его древнему аналогу LhcSR) отдельный раздел.

ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ БЕЛКОВ PsbS И LhcSR В НЕФОТОХИМИЧЕСКОМ ТУШЕНИИ

Белок PsbS был впервые выделен из тилакоидов шпината в 1986 г. как субъединица ФС2 [51], выполняющая неизвестную функцию, и первоначально упоминался в литературе как 22-kDa polypeptide или PSII-S. Вскоре была установлена его аминокислотная последовательность, показавшая его сходство с антенными белками, но, в отличие от них, вероятное наличие в его составе четырёх трансмембранных спиралей [52, 53]. В 1995 г. появились сведения – как стало впоследствии ясно, ошибочные – что этот белок связывает 5 молекул Хл *a* и *b* и несколько типов каротиноидов; в связи с этим было высказано предположение, что его функция связана с дополнительным и/или альтернативным светосбором [54]. Эта ошибка в дальнейшем имела большое влияние на представления о механизме его работы. Спустя 5 лет в ходе исследований мутантов *Arabidopsis thaliana*, полученных путём ненаправленного мутагенеза (облучение быстрыми нейтронами), удалось установить, что этот белок является ключевым для НФТ [50]. Позже было показано, что, в дополнение к подавлению НФТ и повышенной чувствительности ФСА к фотоиндуцированным повреждениям при отсутствии PsbS, при его сверхэкспрессии НФТ и защита от повреждений ФСА избыточным светом выражены сильнее, чем в диком типе [55, 56]. Как было известно уже к концу 2000-х гг., многие организмы, принадлежащие к зелёной линии (Viridiplantae), имеют в своём геноме предполагаемые ортологи PsbS высших растений. Несмотря на это, первоначально белок PsbS не был обнаружен ни в классической модельной зелёной водоросли *C. reinhardtii*, ни в одном из других исследованных видов микроскопических зелёных водорослей (современные представления о распространении этого белка среди фотосинтезирующих организмов см. в разделе «Распространение механизмов нефотохимического тушения в различных систематических (эволюционных) группах» настоящего обзора). Как ни странно, при этом он был обнаружен в многоклеточной зелёной водоросли *Ulva laetevirens*, а в харовой водоросли *Chara corallina*

его присутствие было чрезвычайно незначительным [57]. Тот факт, что тем не менее некоторые одноклеточные виды демонстрировали высокую активность НФТ, заставил предположить, что в них работает некий независимый от PsbS механизм. И действительно, вскоре у *C. reinhardtii* был обнаружен белок LhcSR (Light-Harvesting Complex Stress-Related protein, ранее описанный как LI818 [58]), ответственный за НФТ и распространённый (если говорить об ортологах его гена) у всех эукариотических водорослей, кроме красных водорослей (Rhodophyta), а также у мхов [59].

Оба белка, LhcSR и PsbS, относятся к большому суперсемейству LHC – антенных белков, связывающих Хл и Кс [30]. Белок LhcSR имеет пространственную структуру, схожую со структурой малой антенны ФС2 (CP29) или мономеров комплекса LHCII (т.е. структуру, включающую три трансмембранных альфа-спиральных столба; рис. 5), и, подобно им, также связывает молекулы Хл и Кс: 8 молекул Хл (8 Хл *a* в изоформе LhcSR1, 7 Хл *a* и 1 Хл *b* в LhcSR3) и 3 или 4 молекулы Кс, включая лютеин и Вио [47, 60]. Существуют различные представления о том, каким образом LhcSR (и близкие к нему белки LHCX) вызывает тушение электронного возбуждения Хл в антенне: за счёт переноса возбуждения с Хл на Кс с последующей быстрой конверсией Кс* в Кс; за счёт переноса электрона с Кс на Хл или за счёт образования экситонного сопряжения между молекулами Хл и Кс (выше мы обсуждали различные предполагаемые механизмы прямого Кар-зависимого тушения), однако в любом из этих случаев предполагается, что именно LhcSR является центром тушения [47, 61].

Какое-то время аналогичный механизм прямого тушения предполагался и для PsbS [50, 64]. Однако появившиеся в 2000-х гг. данные о биохимических свойствах PsbS [65], а также данные по мутагенезу PsbS [57], а затем и данные о трёхмерной структуре этого белка [62] показали, что, вопреки первым сообщениям [50, 54], он не содержит молекул пигментов. В отличие от LhcSR и антенных белков, PsbS имеет дополнительную (четвёртую) трансмембранный спираль (рис. 5) и более компактную структуру, которая не оставляет достаточного пространства для связывания Хл и Кс [62]. Интересно отметить, что при достаточно высокой вариабельности аминокислотной последовательности PsbS (так, белки шпината и зелёной водоросли *Lobosphaera incisa* имеют лишь около трети общих остатков [66]), трёхмерная структура PsbS весьма консервативна.

В связи с этим высказывались различные гипотезы о возможном косвенном механизме участия PsbS в тушении возбуждения в антенне,

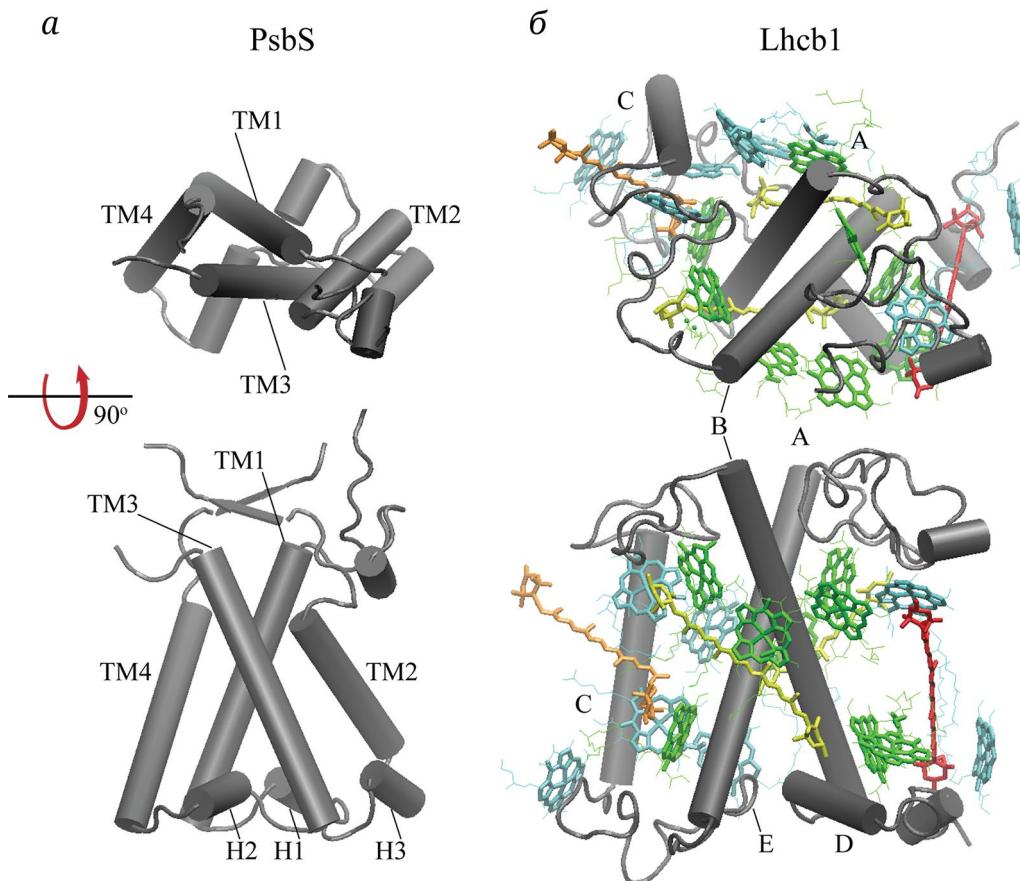


Рис. 5. Структура субъединицы S ФС2, PsbS (а), по данным рентгеноструктурного анализа (код pdb: 4R12 [62]), и мономера комплекса главной антенны LHCII, Lhcbl (б), по данным криоэлектронной микроскопии (код pdb: 8IX0 [63]); последовательность белков, составляющих LHCII, близка к последовательности LhcSR, для которого на сегодняшний день пока не получена экспериментальная трёхмерная структура. Спиральные участки (а и 3₁₀) показаны цилиндрами и подписаны для обоих белков (TM1–TM4 – трансмембранные спирали, H1–H3 – амфи菲尔ные спирали PsbS; у Lhcbl их общепринятые обозначения А–С и Е–Д соответственно). Молекулы Хл, связанные с Lhcbl, выделены зелёным (Хл а) или бирюзовым цветом (Хл б; фитольные «хвосты» показаны тонкой линией), каротиноиды – жёлтым (лютеин), оранжевым (неоксантин) и красным (виолаксантин)

реализующемся через его взаимодействие (непосредственное или с участием молекул Кс) с белками внешней и внутренней антенн и переключение самих этих антенн в «тушащее» состояние.

Отметим, однако, что независимо от молекулярных механизмов, которыми обеспечивается LhcSR- и PsbS-зависимое тушение, полагают, что каждый из этих белков служит детектором pH в тилакоидном люмене и, следовательно, обеспечивает энергозависимый компонент НФТ (qE; в настоящем обзоре мы используем это общепринятое обозначение не для физической величины – меры затушеванной флуоресценции с помощью механизма энергозависимого тушения, а для самого этого механизма) [30]. Закисление люмена приводит к протонированию экспонированных в люмене аминокислотных остатков и образованию центра тушения в самом белке или в контактирующих с ним антенных комплексах.

ПРЕДПОЛАГАЕМЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ЦЕНТР PsbS-ЗАВИСИМОГО НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ

Отсутствие пигментов в составе PsbS означает, что он не может служить центром тушения, а может лишь стимулировать формирование центров тушения в соседних ПБК. Имеются экспериментальные доказательства того, что по крайней мере у высших растений центр тушения формируется в пределах тримера главной антенны LHCII [67–69]. Хотя незатушенная (светособирающая) конформация LHCII является термодинамически несколько более выгодной при комнатной температуре, чем затушенная, свободная энергия перехода между ними очень невелика: всего лишь около $2,5 kT$ (k – постоянная Больцмана; T – абсолютная температура), т.е. близка к характерной энергии теплового движения [70]. Видимо, поэтому переключение LHCII в затушенное состояние

(т.е. формирование в нём центра тушения) может происходить под действием разнообразных относительно «слабых» стимулов [71]. Среди этих стимулов: изменение жёсткости тилакоидной мембранны [72, 73]; истончение тилакоидной мембранны [74]; возникновение трансмембранный асимметрии – накопление дигалактозил-диацилглицерола (DGDG) на стороне люмена [74]; агрегация LHCII [75, 76]; присутствие Зеа [77] или PsbS [78–81]. Однако не вполне ясно, какие из этих причин первичны. В физиологических условиях главной причиной развития тушения в антенне является тилакоидная трансмембранный ДрН, как необходимое и достаточное условие для qE , тогда как Зеа и PsbS с аддитивными эффектами [80] могут регулировать чувствительность qE к ДрН. При этом в LHCII можно получить полноценное qE за счёт увеличения ДрН до нефизиологически высоких значений (более 3 единиц) даже при отсутствии Зеа или PsbS [68, 80] и при отсутствии малых антенн [68].

Считается, что непосредственный механизм индукции тушения связан со сближением связанных в LHCII пигментов, Хл α 612 и лютеин-620 (сайт его связывания в белке также обозначается Lut1; рис. 6), что усиливает их экситонное взаимодействие [82–84]. Действительно, по данным молекулярного моделирования, при закислении меняется экситонное сопряжение между Хл α 612 и лютеином-620 с $5–9\text{ cm}^{-1}$ (максимум распределения) до $12–15\text{ cm}^{-1}$ [71]. Их сближение, в свою очередь, может быть вызвано нейтрализацией (за счёт протонирования) амфи菲尔ной (amphipathic) спиралей D, параллельной мемbrane, что позволяет ей расположиться ближе к гидрофобному ядру LHCII [85]. Другой предполагаемый вариант конформационных перестроек, ответственных за переход LHCII в затущенное состояние – изменение угла между трансмембранными спиральами A и B [83, 84]. Наконец, возможно также, что из-за закисления люмена и протонирования Glu-94 меняется его партнёр по водородной связи – с Lys-99 на Gln-103 (рис. 6) [84], что ведёт к уменьшению среднего расстояния в LHCII между спиральами E и D.

В этих конформационных изменениях играют роль белок-липидные взаимодействия и локальный липидный состав мембранны вблизи LHCII. Так, было показано, что при нейтральном рН тример LHCII окружён большим количеством мембранныго галактолипида моногалактозил-диацилглицерола (MGDG) [86], имеющего коническую форму и не характерного для плоских бислойных мембран. При низком значении рН люмена в тилакоидной мембрани, в её люменальном листке вблизи LHCII, может накапливаться липид цилиндрической формы DGDG. Молекуляр-

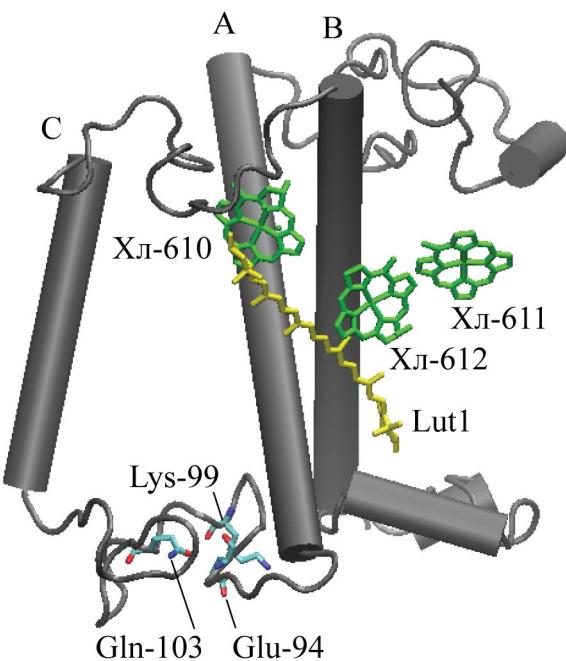


Рис. 6. Структура Lhc1, по данным криоэлектронной микроскопии (код pdb: 8IX0 [63]); показан только кластер хлорофиллов Хл α 610, -611, -612 и лютеин (в сайте связывания Lut1), предположительно, образующие центр тушения. Цветом показаны боковые цепи Glu-94, Lys-99 и Gln-103, предположительно, связанные с переходом LHCII в затущенное состояние. Остальные пояснения см. в подписи к рис. 5

ное моделирование показывает, что это связано с компактизацией LHCII на люменальной стороне и с тем, что DGDG имеет в этом случае лучшее стерическое соответствие и заполняет образовавшиеся полости [74]. Однако он снижает подвижность LHCII, тем самым препятствуя его комплексообразованию, необходимому для индукции НФТ [69]. Предполагается, что PsbS, связываясь с LHCII и вытесняя DGDG, восстанавливает подвижность LHCII в мембране. При этом и сам PsbS при закислении люмена изменяет свою конформацию для связывания с LHCII [87, 88]. Иными словами, PsbS может играть роль «мембранный смазки» [74, 89, 90]. Об этом говорят также экспериментальные данные: отсутствие PsbS (в мутанте *prq4*) способствует образованию упорядоченных (кристаллических) фаз, в которых белки иммобилизованы [81]. В этой функции PsbS возможно участие Зеа, который обеспечивает эффективное связывание между LHCII и PsbS в фотозащитном состоянии [87, 90, 91]. В то же время несвязанный Зеа может вызывать изменение жёсткости тилакоидной мембрани, что изменяет латеральное давление в мембране; в результате меняются белок-липидные взаимодействия и также индуцируются конформационные изменения в LHCII, переводящие его в диссипативное состояние [72, 73].

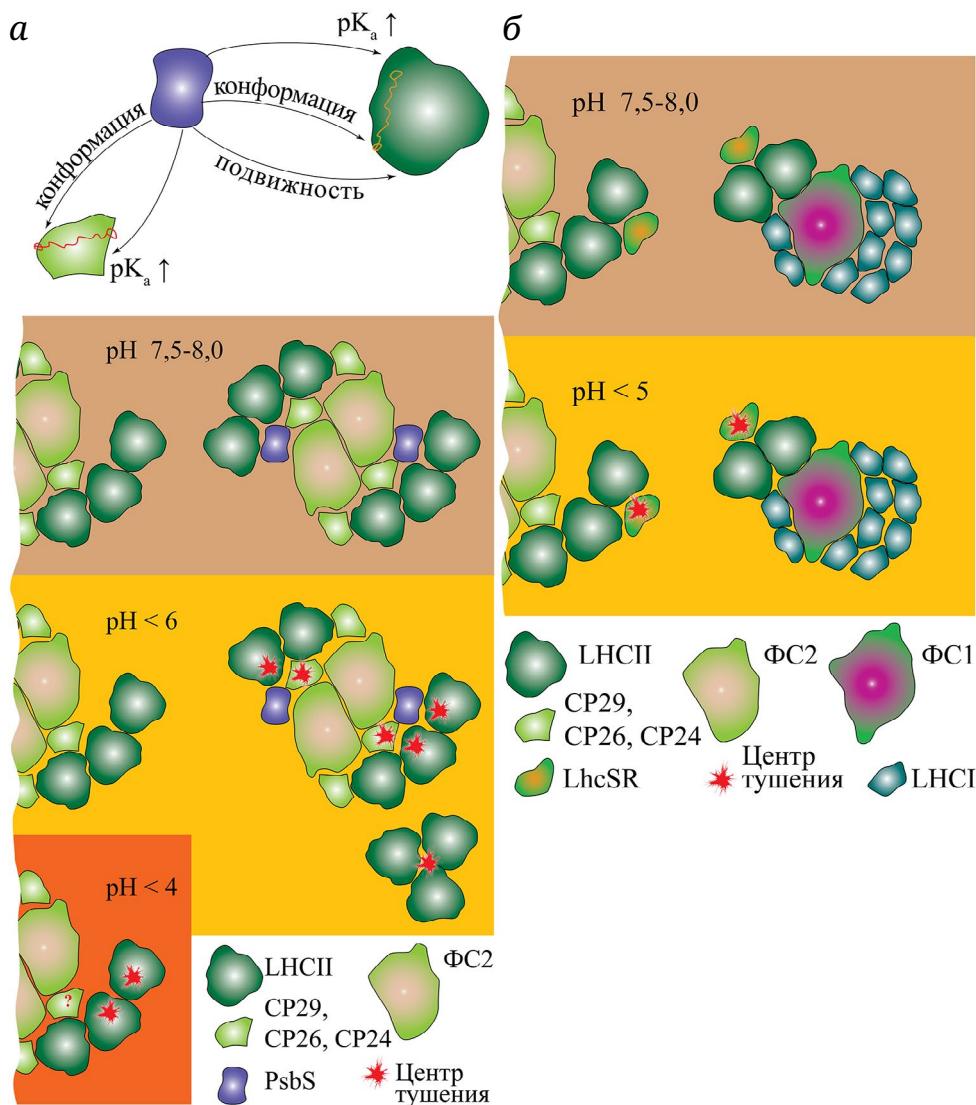


Рис. 7. Схематичное изображение основных представлений о механизме PsbS- (а) и LhcSR-зависимого тушения (б). Схематично показаны изображения суперкомплексов ФС2 и ФС1 (в проекции на плоскость мембраны), образуемые комплексами одного из реакционных центров (ФС2 или ФС1) и окружающими его антенными комплексами главных светособирающих антенн, LHCII и/или LHCI, и малых антенн (CP29, CP26, CP24). Изображения на разном цветовом фоне соответствуют разным характерным значениям pH. Подчёркивается, что в слабокислых условиях (pH < 6) PsbS активирует НФТ в антенных комплексах за счёт непосредственного взаимодействия с ними, либо стимулируя их отделение от суперкомплексов ФС2 и последующую агрегацию. В то же время значительное закисление среды (pH < 4) вызывает образование центров тушения в главных антенных комплексах LHCII даже при отсутствии PsbS. На панели (б) отражены представления о том, что LhcSR сам образует центр тушения (стока энергии) для возбуждения в главной антенне LHCII независимо от того, связана она с ФС2 или ФС1. Схема вверху панели (а) иллюстрирует предполагаемые механизмы косвенной PsbS-зависимой активации НФТ в LHCII и малых антенных комплексах. В изображении суперкомплексов реакционных центров и антенн не отражено различие между их строением у водорослей и наземных растений, конкретное расположение PsbS и LhcSR показано условно, обозначение центра тушения не указывает на его локализацию внутри отдельного антеннного ПБК или их агрегатов

При отсутствии Зеа активация qE требует снижения значения pH в люмене до 4,7–5,0 [49].

Кроме влияния на агрегацию LHCII, предполагается, что PsbS также может регулировать значения pK_a остатков LHCII, экспонированных в люмене, а также и других антенных белков (например, минорной антенны CP29, взаимодействуя с которой, PsbS может увеличить значение pK_a

остатка Glu-128 с 4,46 до 5,24 [92]). Не исключено, что подобную функцию может выполнять и Зеа, наиболее гидрофобный ксантофилл, располагаясь как внутри, так и на периферии LHCII; тем самым он может повышать pH-чувствительность LHCII, обеспечивая его протонирование и индукцию qE при умеренных ДрН [49]. Наконец, высказываются предположения, что PsbS вызывает тушение,

изменяя конформации каротиноидов в LHCII, поскольку было показано, что эти изменения могут быть ответственны за переключение между режимами светосбора и фотозащиты [93].

Однако каков бы ни был механизм PsbS-зависимой активации НФТ, он должен включаться при понижении pH в тилакоидном люмене. После того как было обнаружено, что PsbS может существовать в тилакоидной мемbrane как в форме мономера, так и димера (причём равновесие между мономерной и димерной формами обратимо изменяется светоиндуцированным образом, сдвигаясь в сторону мономерной формы при снижении pH), в качестве одной из основных рассматривается гипотеза, что pH-зависимая активация PsbS обусловлена его превращением из димера в мономер [94]. Предполагалось, что эта мономеризация сопровождается изменением расположения PsbS внутри суперкомплекса ФС2, а именно ассоциацией мономеров со светособирающими антеннами, в то время как димеры имеют тенденцию ассоциироваться с ядром ФС2. Недавно было высказано предположение, что переходы димер \leftrightarrow мономер, в свою очередь, связаны с изменениями в двух коротких амфи菲尔ных спиралях H2 и H3 на люменальной стороне белка. Так, данные ЯМР- и ИК-спектроскопии выявили перемещение спирали H2 в белке PsbS мха *P. patens* из водной фазы в мембранный и переход H3 из сегмента петли в спираль, вызванный протонированием ключевых остатков глутамата [95]. В то же время в ходе рентгеноструктурного исследования PsbS было показано, что активная форма PsbS также является димером [62].

Схема, обобщающая основные представления о PsbS- и LhcSR-зависимом тушении, приведена на рис. 7.

НЕФОТОХИМИЧЕСКОЕ ТУШЕНИЕ КАК РЕГУЛЯЦИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ФЛУКТУАЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Пока сложно сказать, все ли описанные механизмы НФТ и в какой мере реализуются *in vivo*, но многообразие и сложность молекулярных механизмов регуляции НФТ несомненны. На причины такого многообразия и происхождение НФТ, возможно, проливают свет исследования флюктуации флуоресценции (fluorescence intermittency или blinking). Это универсальное явление было открыто в середине 1990-х гг. для широкого класса флуоресцирующих систем: от органических пигментов до квантовых точек [96, 97].

Внедрение в спектральные исследования метода спектроскопии одиночных молекул позволило обнаружить явление, маскируемое усреднен-

ием по ансамблю: стохастическое переключение молекулярной флуоресцирующей системы между «яркими» и «тусклыми» состояниями (bright and dim states), т.е. состояниями с различным квантовым выходом флуоресценции. Предполагается, что переходы между этими состояниями связаны с флюктуирующим микроокружением флуорофора. Это мерцание было обнаружено и в фотосинтетических белковых комплексах – в главных фотосинтетических антеннах ФС2 растений LHCII [98], в антеннах пурпурных бактерий LH-2 [99], в аллофикациицинах цианобактерий [100], в В-фикаэритеине красных водорослей [101]. Исследования главного антенного комплекса высших растений LHCII показали, что, в отличие от простых систем, в подобных комплексах с плотной упаковкой большого числа пигментов (8 Хл а, 6 Хл б и 4 Кар) возникает целый ряд состояний с различными уровнями «светимости» [98]. Переходы между этими состояниями происходят спонтанно, и время жизни LHCII в каждом из них составляет от десятков миллисекунд до десятков секунд (хотя большая часть времён лежит в секундном и субсекундном диапазонах). При этом как частота переходов, так и время жизни в каждом из состояний зависят от условий среды: величины pH и интенсивности возбуждающего света [98]. Таким образом, как светособирающее, так и «затущенное» состояние антенны изначально присущи этому и многим другим ПБК и не требуют каких-либо специальных модификаций белка (за счёт связывания дополнительных пигментов или протонирования аминокислотных остатков); последние необходимы лишь для стабилизации одного из этих состояний. Иными словами, можно сказать, что растение не «конструирует» новый канал тушения возбуждения в антенне, а использует внутренне присущие ей состояния с разными уровнями тушения и лишь создаёт условия для сдвига динамического равновесия в сторону того из них, которое необходимо в данных физиологических условиях. Универсальность явления флюктуаций флуоресценции, далеко не ограничивающегося фотосинтетическими антеннами, но лежащего в основе регуляции процессов сбора света в фотосинтезе, создаёт основы для понимания эволюции этих адаптивных процессов.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ В РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАТИЧЕСКИХ (ЭВОЛЮЦИОННЫХ) ГРУППАХ

Наличие множественных регуляторных и, в частности, фотозащитных механизмов характерно для всех оксигенных фототрофных организмов,

причём многие из них универсальны (т.е. характерны для всех или почти всех фототрофов). В то же время при сравнении между собой крупных эволюционных групп можно видеть, что есть и определённая специфичность в выборе механизмов представителями разных групп организмов. Выше мы говорили об антенно-подобных белках LhcSR и PsbS, ответственных за тушение: прямое НФТ в случае LhcSR и косвенное – в случае PsbS. Однако распространение этих белков и, следовательно, LhcSR- и PsbS-зависимого тушения существенно различно. LhcSR распространён среди водорослей (у большинства организмов, принадлежащих к линии красных водорослей, гомологичные LhcSR белки обозначают LHCX), а также встречается у мхов, но утерян у высших растений. Наоборот, PsbS является характерным белком наземных (высших) растений и наиболее близких к ним харовых водорослей, но отсутствует у большинства других групп водорослей [30, 102, 103]. Ещё недавно считалось, что хотя ген этого белка и присутствует в модельной зелёной водоросли (*Chlorophyta*) *C. reinhardtii*, но сам белок в ней не экспрессируется или, по крайней мере, не накапливается [102]. Лишь в 2016 г. одновременно две группы обнаружили у *C. reinhardtii* и стресс-индуцированную дифференциальную экспрессию PsbS-кодирующих генов *psbs1* и *psbs2* [104], и сам белок [104, 105]. Позже временное образование этого белка и индукцию его экспрессии обнаружили в ходе суточных изменений интенсивности освещения культуры *C. reinhardtii* [106]. Однако во всех случаях, в отличие от LhcSR, появление PsbS и его транскриптов было относительно кратковременным (часы), что заставило исследователей сделать вывод лишь о вспомогательной функции и не слишком существенной роли PsbS в тушении у этого организма [104, 105]. Незначительные суточные колебания экспрессии LhcSR- и PsbS-кодирующих генов, соответствующие суточным колебаниям температуры и освещённости, также были обнаружены у *Ulva prolifera* [107].

Наконец, недавно нами была обнаружена долговременная (сохраняющаяся в течение нескольких суток) стресс-индуцированная дифференциальная экспрессия PsbS-кодирующего гена у зелёной микроводоросли *L. incisa* [108]. Столь длительное и значительное по величине (на 3–4 порядка) возрастание количества транскриптов этого белка может свидетельствовать о его существенной и самостоятельной роли в индукции НФТ по крайней мере у некоторых представителей *Chlorophyta*. Все эти последние данные существенно расширяют распространение PsbS среди оксигенных фототрофов и удревняют историю его фотозащитной функции в растительном мире.

Необходимо также отметить, что недавно было сообщение об обнаружении дифференциальной экспрессии PsbS у красной водоросли *Kappaphycus alvarezii* [109]. Кодирующая последовательность гена, любезно предоставленная нам авторами, обнаруживает заметное сходство с последовательностями *psbs* зелёных водорослей. Однако в других красных водорослях обнаружить гомологичный ген нам пока не удалось. В соответствии с существующими сегодня представлениями, PsbS присутствует только в «зелёной линии» растений (*Viridiplantae*) [103], в то время как у красных водорослей, антенны которых содержат фикобилин, а не Хл [110], функция PsbS как индуктора НФТ лишена смысла. Если в будущем присутствие гомологов *psbs* в различных представителях красных водорослей (*Rhodophyta*) подтвердится, то это будет поворотным моментом в развитии наших представлений об эволюции функции этого белка.

Несмотря на различные механизмы, которыми LhcSR и PsbS индуцируют тушение флуоресценции, в обоих случаях сигналом для индукции НФТ служит продукт световых реакций – закисление тилакоидного люмена. В цианобактериях (в значительной их части, хотя не во всех), для которых характерна другая система светосбора с использованием развёрнутых тетрапиррольных пигментов, локализованных в крупных растворимых белковых комплексах – фикобилисомах – используется и иная молекулярная система НФТ. Сигналом для её запуска служит непосредственно высокая освещённость, а главным участником – оранжевый каротиноидный белок (ОСР) и связанный с ним кетокаротиноид (эхиненон, гидроксиэхиненон или кантааксантин) [111]. При этом уровень чувствительности триггерного механизма к интенсивности света определяется в этом случае очень низким квантовым выходом фотоконверсии ОСР в фотоактивную форму; в результате фотоконверсия происходит только при высокой интенсивности излучения [112]. ОСР-зависимый механизм НФТ характерен даже для наиболее примитивной из ныне существующих группы цианобактерий, *Gloeobacteria*, сохранившей многие предковые характеристики [111]. Удивительно, что у красных водорослей, также обладающих фикобилисомами, этот механизм не сохранился (*osr*-подобных генов в них не обнаружено) [113], и действуют рН-зависимые механизмы НФТ [114, 115].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

НФТ – один из основных механизмов защиты ФСА от опасной избыточной световой энергии. Мы рассмотрели здесь только одну из его составляющих – так называемое энергозависимое

тушение (qE), и только один из его аспектов – роль фотозащитной субъединицы FC2 , белка PsbS . Несмотря на интенсивные исследования в этой области в течение всех 25 лет с момента открытия НФТ-индуцирующего эффекта PsbS [50] и обилие новых данных, кажется, пока ещё трудно интегрировать их в общую непротиворечивую картину. Так, механизм непрямой PsbS -зависимой активации НФТ – через влияние на $\text{p}K_a$ люменальных протонируемых остатков в LHCII и/или малых антенных [92], через изменение конформации связанных с ними пигментов [93] или через изменение подвижности LHCII [74] – остаётся гипотетическим и требующим способа согласовать его с недавно сформулированной моделью тушения, регулируемого изменениями полярности окружения [45]. Несмотря на, казалось бы, давно и надёжно показанную роль мономерных малых антенн в НФТ как центров тушения [46, 116], взаимодействующих с PsbS [117], недавние данные о НФТ в штаммах *A. thaliana*, дефицитных по этим антенным, оказываются основанием делать вывод о том, что они не играют никакой роли в qE [68]. Возможно, что наличие подобных взаимоисключающих данных о механизмах НФТ говорит о том, что все они в той или иной мере могут реализовываться *in vivo*; система же в целом обладает достаточно высокой «буферной ёмкостью» своих защитных механизмов, чтобы отключение одного из них в модельной системе не влияло бы существенно на общий уровень НФТ.

Наконец, требует осмыслиения тот парадоксальный факт, что основным участником НФТ оказался PsbS – именно тот представитель суперсемейства антенных (т.е. хлорофилл-связывающих) белков, который лишён каких бы то ни было пигментов, а вместе с ними – и возможности непосредственно осуществлять тушение. Можно предположить, что это ещё один кандидат в копилку примеров несовершенства эволюционных решений, которые основываются на использовании «подручного» материала и связаны со сменой функций.

За пределами подробного рассмотрения остались фотофизические механизмы тушения, связанные с взаимодействием пигментов (Хл и Кар) в пикосекундных масштабах времени. Несмотря на длительную историю исследования этих механизмов, консенсус в их понимании тоже ещё не достигнут. Мы оставили в стороне и другие фотозащитные механизмы, также сокращающие время жизни возбуждённого состояния Хл

в фотосинтетической антенне и потому полно-правно относимые к НФТ. Это в первую очередь механизм, модулирующий интенсивность qE за счёт синтеза дополнительного количества Зеа и обозначаемый qZ [118]. Ключевыми для этого механизма являются ферменты виолаксантин-депоксидаза и зеаксантин-епоксидаза, осуществляющие виолаксантиновый цикл и отвечающие за квазистационарную концентрацию Зеа [119]. Это также механизм, до сих пор не получивший удовлетворительного названия в русскоязычной литературе и известный как «переход состояний» (state transition, qT). Триггером для этого механизма служит не трансмембранный АргН, а перевосстановление пула пластохинонов на акцепторной стороне FC2 [120], которое активирует киназу, фосфорилирующую комплексы LHCII . В результате они теряют сродство к FC2 и мигрируют в менее гидрофобную область, богатую комплексами FC1 [121], в контакте с которой находят эффективный сток поглощённой энергии света. Можно предположить, что многообразие этих защитных механизмов, так же как и разнообразие возможных путей реализации одного только энергозависимого тушения, говорит о важности этой функции и стремлении фотосинтетического организма использовать любой механизм защиты ФСА, оказавшийся достаточно эффективным.

Вклад авторов. Анализ литературы – А.Р. и В.П.; концепция обзора, написание текста – В.П.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00195).

Благодарности. Мы благодарны профессору Jianguo Liu и доктору Qianqian Li за предоставленную кодирующую последовательность гена красной водоросли *Karraphycus alvarezii*, гомологичного *psbs* зелёных водорослей. Авторы признательны ЦКП «Фенотипирование фототрофных организмов» МГУ имени М.В. Ломоносова, на оборудовании которого были получены собственные экспериментальные результаты авторов, обсуждаемые в данном обзоре.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в финансовой или какой-либо иной сфере.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, in *Methods in Enzymology*, Elsevier, p. 350-382, [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

2. Dengel, S., Grace, J., and MacArthur, A. (2015) Transmissivity of solar radiation within a *Picea sitchensis* stand under various sky conditions, *Biogeosciences*, **12**, 4195-4207, <https://doi.org/10.5194/bg-12-4195-2015>.
3. Краснова Е. Д., Лобышев В. И., Лабунская Е. А., Воронов Д. А., Соколовская Ю. Г., Жильцова А. А., Пацаева С. В. (2024) Спектральный состав света в хемоклине стратифицированных водоемов, находящихся на разных стадиях изоляции от Белого моря, *Оптика Атмосферы Океана*, **37**, 307-315, <https://doi.org/10.15372/AOO20240407>.
4. Demmig-Adams, B., Cohu, C. M., Muller, O., and Adams, W. W. (2012) Modulation of photosynthetic energy conversion efficiency in nature: from seconds to seasons, *Photosynth. Res.*, **113**, 75-88, <https://doi.org/10.1007/s11120-012-9761-6>.
5. Santabarbara, S., Agostini, A., Petrova, A. A., Bortolus, M., Casazza, A. P., and Carbonera, D. (2024) Chlorophyll triplet states in thylakoid membranes of *Acaryochloris marina*. Evidence for a triplet state sitting on the photosystem I primary donor populated by intersystem crossing, *Photosynth. Res.*, **159**, 133-152, <https://doi.org/10.1007/s11120-023-01023-z>.
6. Dogra, V., and Kim, C. (2020) Singlet oxygen metabolism: from genesis to signaling, *Front. Plant Sci.*, **10**, 500205, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01640>.
7. Dmitrieva, V. A., Tyutereva, E. V., and Voitsekhovskaja, O. V. (2020) Singlet oxygen in plants: Generation, detection, and signaling roles, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 3237, <https://doi.org/10.3390/ijms21093237>.
8. Bornhütter, T., Pohl, J., Fischer, C., Saltsman, I., Mahammed, A., Gross, Z., and Röder, B. (2016) Development of singlet oxygen luminescence kinetics during the photodynamic inactivation of green algae, *Molecules*, **21**, 485, <https://doi.org/10.3390/molecules21040485>.
9. Telfer, A. (2014) Singlet oxygen production by PSII under light stress: mechanism, detection and the protective role of β-carotene, *Plant Cell Physiol.*, **55**, 1216-1223, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu040>.
10. Krieger-Liszakay, A., Fufezan, C., and Trebst, A. (2008) Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism, *Photosynth. Res.*, **98**, 551-564, <https://doi.org/10.1007/s11120-008-9349-3>.
11. Ledford, H. K., and Niyogi, K. K. (2005) Singlet oxygen and photo-oxidative stress management in plants and algae, *Plant Cell Environ.*, **28**, 1037-1045, <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01374.x>.
12. Krieger-Liszakay, A. (2005) Singlet oxygen production in photosynthesis, *J. Exp. Botany*, **56**, 337-346, <https://doi.org/10.1093/jxb/erh237>.
13. Lokstein, H., and Grimm, B. (2007) Chlorophyll-binding proteins, *eLS*, <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0020085>.
14. Caffarri, S., Tibiletti, T., C Jennings, R., and Santabarbara, S. (2014) A comparison between plant photosystem I and photosystem II architecture and functioning, *Curr. Protein Peptide Sci.*, **15**, 296-331, <https://doi.org/10.2174/1389203715666140327102218>.
15. Wang, W., and Shen, J.-R. (2021) Structure, organization and function of light-harvesting complexes associated with photosystem II, in *Photosynthesis: Molecular Approaches to Solar Energy Conversion*, Springer, pp. 163-194, https://doi.org/10.1007/978-3-030-67407-6_6.
16. Sheng, X., Watanabe, A., Li, A., Kim, E., Song, C., Murata, K., Song, D., Minagawa, J., and Liu, Z. (2019) Structural insight into light harvesting for photosystem II in green algae, *Nat. Plants*, **5**, 1320-1330, <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0543-4>.
17. Su, X., Ma, J., Wei, X., Cao, P., Zhu, D., Chang, W., Liu, Z., Zhang, X., and Li, M. (2017) Structure and assembly mechanism of plant C2S2M2-type PSII-LHCII supercomplex, *Science*, **357**, 815-820, <https://doi.org/10.1126/science.aan0327>.
18. Boekema, E. J., van Roon, H., Calkoen, F., Bassi, R., and Dekker, J. P. (1999) Multiple types of association of photosystem II and its light-harvesting antenna in partially solubilized photosystem II membranes, *Biochemistry*, **38**, 2233-2239, <https://doi.org/10.1021/bi9827161>.
19. Tokutsu, R., Kato, N., Bui, K. H., Ishikawa, T., and Minagawa, J. (2012) Revisiting the supramolecular organization of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii*, *J. Biol. Chem.*, **287**, 31574-31581, <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.331991>.
20. Watanabe, A., and Minagawa, J. (2020) Structural characterization of the photosystems in the green alga *Chlorella sorokiniana*, *Planta*, **252**, 79, <https://doi.org/10.1007/s00425-020-03487-y>.
21. Van Bezouwen, L. S., Caffarri, S., Kale, R. S., Kouřil, R., Thunnissen, A.-M. W., Oostergetel, G. T., and Boekema, E. J. (2017) Subunit and chlorophyll organization of the plant photosystem II supercomplex, *Nat. Plants*, **3**, 17080, <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.80>.
22. Valencia, W. M., and Pandit, A. (2024) Photosystem II subunit S (PsbS): a nano regulator of plant photosynthesis, *J. Mol. Biol.*, **436**, 168407, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2023.168407>.
23. Pinnola, A., Cazzaniga, S., Alboresi, A., Nevo, R., Levin-Zaidman, S., Reich, Z., and Bassi, R. (2015) Light-harvesting complex stress-related proteins catalyze excess energy dissipation in both photosystems of *Physcomitrella patens*, *Plant Cell*, **27**, 3213-3227, <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00443>.

24. Suga, M., and Shen, J.-R. (2020) Structural variations of photosystem I-antenna supercomplex in response to adaptations to different light environments, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **63**, 10-17, <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.02.005>.
25. Caspy, I., Borovikova-Sheinker, A., Klaiman, D., Shkolnisky, Y., and Nelson, N. (2020) The structure of a triple complex of plant photosystem I with ferredoxin and plastocyanin, *Nat. Plants*, **6**, 1300-1305, <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00779-9>.
26. Shen, L., Tang, K., Wang, W., Wang, C., Wu, H., Mao, Z., An, S., Chang, S., Kuang, T., and Shen, J.-R. (2022) Architecture of the chloroplast PSI-NDH supercomplex in *Hordeum vulgare*, *Nature*, **601**, 649-654, <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04277-6>.
27. Fadeeva, M., Klaiman, D., and Nelson, N. (2023) Cryo-EM structure of the Photosystem I – LHCI supercomplex from *Coelastrella* sp., in press.
28. Huang, Z., Shen, L., Wang, W., Mao, Z., Yi, X., Kuang, T., Shen, J.-R., Zhang, X., and Han, G. (2021) Structure of photosystem I-LHCI-LHCII from the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in State 2, *Nat. Commun.*, **12**, 1100, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21362-6>.
29. Girolomoni, L., Cazzaniga, S., Pinnola, A., Perozeni, F., Ballottari, M., and Bassi, R. (2019) LHCIII is a nonphotochemical quencher of both photosystems in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 4212-4217, <https://doi.org/10.1073/pnas.1809812116>.
30. Pinnola, A. (2019) The rise and fall of Light-Harvesting Complex Stress-Related proteins as photoprotection agents during evolution, *J. Exp. Botany*, **70**, 5527-5535, <https://doi.org/10.1093/jxb/erz317>.
31. Schreiber, U., and Klughammer, C. (2021) Evidence for variable chlorophyll fluorescence of photosystem I *in vivo*, *Photosynth. Res.*, **149**, 213-231, <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00814-y>.
32. Schreiber, U. (2023) Light-induced changes of far-red excited chlorophyll fluorescence: further evidence for variable fluorescence of photosystem I *in vivo*, *Photosynth. Res.*, **155**, 247-270, <https://doi.org/10.1007/s11120-022-00994-9>.
33. Ritchie, R. (2010) Modelling photosynthetic photon flux density and maximum potential gross photosynthesis, *Photosynthetica*, **48**, 596-609, <https://doi.org/10.1007/s11099-010-0077-5>.
34. Niyogi, K. K., Björkman, O., and Grossman, A. R. (1997) The roles of specific xanthophylls in photoprotection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 14162-14167, <https://doi.org/10.1073/pnas.94.25.14162>.
35. Niyogi, K. K., Shih, C., Soon Chow, W., Pogson, B. J., DellaPenna, D., and Björkman, O. (2001) Photoprotection in a zeaxanthin-and lutein-deficient double mutant of *Arabidopsis*, *Photosynth. Res.*, **67**, 139-145, <https://doi.org/10.1023/A:1010661102365>.
36. Niedzwiedzki, D. M., Sullivan, J. O., Polívka, T., Birge, R. R., and Frank, H. A. (2006) Femtosecond time-resolved transient absorption spectroscopy of xanthophylls, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 22872-22885, <https://doi.org/10.1021/jp0622738>.
37. Lee, T.-Y., Lam, L., Patel-Tupper, D., Roy, P. P., Ma, S. A., Lucas-DeMott, A., Karavolias, N. G., Niyogi, K. K., and Fleming, G. R. (2023) Chlorophyll to zeaxanthin energy transfer in non-photochemical quenching: an exciton annihilation-free transient absorption study, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.10.11.561813>.
38. Frank, H. A., Cua, A., Chynwat, V., Young, A., Gosztola, D., and Wasielewski, M. R. (1994) Photophysics of the carotenoids associated with the xanthophyll cycle in photosynthesis, *Photosynth. Res.*, **41**, 389-395, <https://doi.org/10.1007/BF02183041>.
39. Demmig-Adams, B. (1990) Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin, *Biochim. Biophys. Acta*, **1020**, 1-24, [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(90\)90088-L](https://doi.org/10.1016/0005-2728(90)90088-L).
40. Сапожников Д., Красовская Т., Маевская А. (1957) Изменение соотношения основных каротиноидов пластид зеленых листьев при действии света, *Докл. АН СССР*, **113**, 465.
41. Polívka, T., Zigmantas, D., Sundström, V., Formaggio, E., Cinque, G., and Bassi, R. (2002) Carotenoid S1 state in a recombinant light-harvesting complex of photosystem II, *Biochemistry*, **41**, 439-450, <https://doi.org/10.1021/bi011589x>.
42. Son, M., Pinnola, A., and Schlau-Cohen, G. S. (2020) Zeaxanthin independence of photophysics in light-harvesting complex II in a membrane environment, *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 148115, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.148115>.
43. Balevičius, V., and Duffy, C. D. (2020) Excitation quenching in chlorophyll-carotenoid antenna systems: 'coherent' or 'incoherent', *Photosynth. Res.*, **144**, 301-315, <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00737-8>.
44. Holt, N. E., Zigmantas, D., Valkunas, L., Li, X.-P., Niyogi, K. K., and Fleming, G. R. (2005) Carotenoid cation formation and the regulation of photosynthetic light harvesting, *Science*, **307**, 433-436, <https://doi.org/10.1126/science.1105833>.
45. Ostroumov, E. E., Götze, J. P., Reus, M., Lambrev, P. H., and Holzwarth, A. R. (2020) Characterization of fluorescent chlorophyll charge-transfer states as intermediates in the excited state quenching of light-harvesting complex II, *Photosynth. Res.*, **144**, 171-193, <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00745-8>.

46. Ahn, T. K., Avenson, T. J., Ballottari, M., Cheng, Y.-C., Niyogi, K. K., Bassi, R., and Fleming, G. R. (2008) Architecture of a charge-transfer state regulating light harvesting in a plant antenna protein, *Science*, **320**, 794-797, <https://doi.org/10.1126/science.1154800>.
47. Pinnola, A., Staleva-Musto, H., Capaldi, S., Ballottari, M., Bassi, R., and Polívka, T. (2016) Electron transfer between carotenoid and chlorophyll contributes to quenching in the LHCSR1 protein from *Physcomitrella patens*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1857**, 1870-1878, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.09.001>.
48. Polívka, T., Herek, J. L., Zigmantas, D., Åkerlund, H.-E., and Sundström, V. (1999) Direct observation of the (forbidden) S1 state in carotenoids, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 4914-4917, <https://doi.org/10.1073/pnas.96.9.4914>.
49. Ruban, A. V., Johnson, M. P., and Duffy, C. D. (2012) The photoprotective molecular switch in the photosystem II antenna, *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 167-181, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.007>.
50. Li, X.-P., BjoÈrkman, O., Shih, C., Grossman, A. R., Rosenquist, M., Jansson, S., and Niyogi, K. K. (2000) A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting, *Nature*, **403**, 391-395, <https://doi.org/10.1038/35000131>.
51. Ljungberg, U., Åkerlund, H. E., and Andersson, B. (1986) Isolation and characterization of the 10-kDa and 22-kDa polypeptides of higher plant photosystem 2, *Eur. J. Biochem.*, **158**, 477-482, <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1986.tb09779.x>.
52. Wedell, N., Klein, R., Ljungberg, U., Andersson, B., and Herrmann, R. (1992) The single-copy gene psbS codes for a phylogenetically intriguing 22 kDa polypeptide of photosystem II, *FEBS Lett.*, **314**, 61-66, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)81462-U](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)81462-U).
53. Kim, S., Sandusky, P., Bowlby, N. R., Aebersold, R., Green, B. R., Vlahaskis, S., Yocum, C. F., and Pichersky, E. (1992) Characterization of a spinach psbS cDNA encoding the 22 kDa protein of photosystem II, *FEBS Lett.*, **314**, 67-71, [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)81463-V](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)81463-V).
54. Funk, C., Schroeder, W. P., Napiwotzki, A., Tjus, S. E., Renger, G., and Andersson, B. (1995) The PSII-S protein of higher plants: a new type of pigment-binding protein, *Biochemistry*, **34**, 11133-11141, <https://doi.org/10.1021/bi00035a019>.
55. Külheim, C., and Jansson, S. (2005) What leads to reduced fitness in non-photochemical quenching mutants? *Phys. Plant.*, **125**, 202-211, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00547.x>.
56. Crouchman, S., Ruban, A., and Horton, P. (2006) PsbS enhances nonphotochemical fluorescence quenching in the absence of zeaxanthin, *FEBS Lett.*, **580**, 2053-2058, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.03.005>.
57. Bonente, G., Passarini, F., Cazzaniga, S., Mancone, C., Buia, M. C., Tripodi, M., Bassi, R., and Caffarri, S. (2008) The occurrence of the psbS gene product in *Chlamydomonas reinhardtii* and in other photosynthetic organisms and its correlation with energy quenching, *Photochem. Photobiol.*, **84**, 1359-1370, <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00456.x>.
58. Gagné, G., and Guertin, M. (1992) The early genetic response to light in the green unicellular alga *Chlamydomonas eugametos* grown under light/dark cycles involves genes that represent direct responses to light and photosynthesis, *Plant Mol. Biol.*, **18**, 429-445, <https://doi.org/10.1007/BF00040659>.
59. Peers, G., Truong, T. B., Ostendorf, E., Busch, A., Elrad, D., Grossman, A. R., Hippler, M., and Niyogi, K. K. (2009) An ancient light-harvesting protein is critical for the regulation of algal photosynthesis, *Nature*, **462**, 518-521, <https://doi.org/10.1038/nature08587>.
60. Liguori, N., Novoderezhkin, V., Roy, L. M., van Grondelle, R., and Croce, R. (2016) Excitation dynamics and structural implication of the stress-related complex LHCSR3 from the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1857**, 1514-1523, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.04.285>.
61. Park, S., Steen, C. J., Lyska, D., Fischer, A. L., Endelman, B., Iwai, M., Niyogi, K. K., and Fleming, G. R. (2019) Chlorophyll-carotenoid excitation energy transfer and charge transfer in *Nannochloropsis oceanica* for the regulation of photosynthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 3385-3390, <https://doi.org/10.1073/pnas.1819011116>.
62. Fan, M., Li, M., Liu, Z., Cao, P., Pan, X., Zhang, H., Zhao, X., Zhang, J., and Chang, W. (2015) Crystal structures of the PsbS protein essential for photoprotection in plants, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **22**, 729-735, <https://doi.org/10.1038/nsmb.3068>.
63. Ruan, M., Li, H., Zhang, Y., Zhao, R., Zhang, J., Wang, Y., Gao, J., Wang, Z., Wang, Y., and Sun, D. (2023) Cryo-EM structures of LHCII in photo-active and photo-protecting states reveal allosteric regulation of light harvesting and excess energy dissipation, *Nat. Plants*, **9**, 1547-1557, <https://doi.org/10.1038/s41477-023-01500-2>.
64. Aspinall-O'Dea, M., Wentworth, M., Pascal, A., Robert, B., Ruban, A., and Horton, P. (2002) *In vitro* reconstitution of the activated zeaxanthin state associated with energy dissipation in plants, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 16331-16335, <https://doi.org/10.1073/pnas.252500999>.

65. Dominici, P., Caffarri, S., Armenante, F., Ceolto, S., Crimi, M., and Bassi, R. (2002) Biochemical properties of the PsbS subunit of photosystem II either purified from chloroplast or recombinant, *J. Biol. Chem.*, **277**, 22750-22758, <https://doi.org/10.1074/jbc.M200604200>.
66. Ptushenko, V. V., Knorre, D. D., and Glagoleva, E. S. (2023) The photoprotective protein PsbS from green microalga *lobosphaera incisa*: the amino acid sequence, 3D structure and probable pH-sensitive residues, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 15060, <https://doi.org/10.3390/ijms242015060>.
67. Nicol, L., Nawrocki, W. J., and Croce, R. (2019) Disentangling the sites of non-photochemical quenching in vascular plants, *Nat. Plants*, **5**, 1177-1183, <https://doi.org/10.1038/s41477-019-0526-5>.
68. Saccon, F., Giovagnetti, V., Shukla, M. K., and Ruban, A. V. (2020) Rapid regulation of photosynthetic light harvesting in the absence of minor antenna and reaction centre complexes, *J. Exp. botany*, **71**, 3626-3637, <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa126>.
69. Ruban, A. V., and Wilson, S. (2021) The mechanism of non-photochemical quenching in plants: localization and driving forces, *Plant Cell Physiol.*, **62**, 1063-1072, <https://doi.org/10.1093/pcp/pcaa155>.
70. Santabarbara, S., Horton, P., and Ruban, A. V. (2009) Comparison of the thermodynamic landscapes of unfolding and formation of the energy dissipative state in the isolated light harvesting complex II, *Biophys. J.*, **97**, 1188-1197, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.06.005>.
71. Navakoudis, E., Stergiannakos, T., and Daskalakis, V. (2023) A perspective on the major light-harvesting complex dynamics under the effect of pH, salts, and the photoprotective PsbS protein, *Photosynth. Res.*, **156**, 163-177, <https://doi.org/10.1007/s11120-022-00935-6>.
72. Tietz, S., Leuenberger, M., Höhner, R., Olson, A. H., Fleming, G. R., and Kirchhoff, H. (2020) A proteoliposome-based system reveals how lipids control photosynthetic light harvesting, *J. Biol. Chem.*, **295**, 1857-1866, <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.011707>.
73. Azadi-Chegeni, F., Thallmair, S., Ward, M. E., Perin, G., Marrink, S. J., Baldus, M., Morosinotto, T., and Pandit, A. (2022) Protein dynamics and lipid affinity of monomeric, zeaxanthin-binding LHCII in thylakoid membranes, *Biophys. J.*, **121**, 396-409, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.12.039>.
74. Daskalakis, V., Papadatos, S., and Kleinekathöfer, U. (2019) Fine tuning of the photosystem II major antenna mobility within the thylakoid membrane of higher plants, *Biochim. Biophys. Acta*, **1861**, 183059, <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2019.183059>.
75. Ruban, A., Rees, D., Pascal, A., and Horton, P. (1992) Mechanism of Δ pH-dependent dissipation of absorbed excitation energy by photosynthetic membranes. II. The relationship between LHCII aggregation *in vitro* and qE in isolated thylakoids, *Biochim. Biophys. Acta*, **1102**, 39-44, [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(92\)90062-7](https://doi.org/10.1016/0005-2728(92)90062-7).
76. Tutkus, M., Chmeliov, J., Trinkunas, G., Akhtar, P., Lambrev, P. H., and Valkunas, L. (2021) Aggregation-related quenching of LHCII fluorescence in liposomes revealed by single-molecule spectroscopy, *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, **218**, 112174, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112174>.
77. Shukla, M. K., Watanabe, A., Wilson, S., Giovagnetti, V., Moustafa, E. I., Minagawa, J., and Ruban, A. V. (2020) A novel method produces native light-harvesting complex II aggregates from the photosynthetic membrane revealing their role in nonphotochemical quenching, *J. Biol. Chem.*, **295**, 17816-17826, <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.016181>.
78. Li, X.-P., Müller-Moulé, P., Gilmore, A. M., and Niyogi, K. K. (2002) PsbS-dependent enhancement of feedback de-excitation protects photosystem II from photoinhibition, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 15222-15227, <https://doi.org/10.1073/pnas.232447699>.
79. Johnson, M. P., Goral, T. K., Duffy, C. D., Brain, A. P., Mullineaux, C. W., and Ruban, A. V. (2011) Photoprotective energy dissipation involves the reorganization of photosystem II light-harvesting complexes in the grana membranes of spinach chloroplasts, *Plant Cell*, **23**, 1468-1479, <https://doi.org/10.1105/tpc.110.081646>.
80. Johnson, M. P., and Ruban, A. V. (2011) Restoration of rapidly reversible photoprotective energy dissipation in the absence of PsbS protein by enhanced Δ pH, *J. Biol. Chem.*, **286**, 19973-19981, <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.237255>.
81. Goral, T. K., Johnson, M. P., Duffy, C. D., Brain, A. P., Ruban, A. V., and Mullineaux, C. W. (2012) Light-harvesting antenna composition controls the macrostructure and dynamics of thylakoid membranes in *Arabidopsis*, *Plant J.*, **69**, 289-301, <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04790.x>.
82. Daskalakis, V., Maity, S., Hart, C. L., Stergiannakos, T., Duffy, C. D., and Kleinekathöfer, U. (2019) Structural basis for allosteric regulation in the major antenna trimer of photosystem II, *J. Phys. Chem. B*, **123**, 9609-9615, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.9b09767>.
83. Daskalakis, V., Papadatos, S., and Stergiannakos, T. (2020) The conformational phase space of the photoprotective switch in the major light harvesting complex II, *Chem. Commun.*, **56**, 11215-11218, <https://doi.org/10.1039/D0CC04486E>.

84. Li, H., Wang, Y., Ye, M., Li, S., Li, D., Ren, H., Wang, M., Du, L., Li, H., and Veglia, G. (2020) Dynamical and allosteric regulation of photoprotection in light harvesting complex II, *Sci. China Chem.*, **63**, 1121-1133, <https://doi.org/10.1007/s11426-020-9771-2>.
85. Papadatos, S., Charalambous, A. C., and Daskalakis, V. (2017) A pathway for protective quenching in antenna proteins of Photosystem II, *Sci. Rep.*, **7**, 2523, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02892-w>.
86. Thallmair, S., Vainikka, P. A., and Marrink, S. J. (2019) Lipid fingerprints and cofactor dynamics of light-harvesting complex II in different membranes, *Biophys. J.*, **116**, 1446-1455, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.03.009>.
87. Daskalakis, V., and Papadatos, S. (2017) The photosystem II subunit S under stress, *Biophys. J.*, **113**, 2364-2372, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.09.034>.
88. Liguori, N., Campos, S. R., Baptista, A. N. M., and Croce, R. (2019) Molecular anatomy of plant photoprotective switches: the sensitivity of PsbS to the environment, residue by residue, *J. Phys. Chem. Lett.*, **10**, 1737-1742, <https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.9b00437>.
89. Dall'Osto, L., Cazzaniga, S., Bressan, M., Paleček, D., Žídek, K., Niyogi, K. K., Fleming, G. R., Zigmantas, D., and Bassi, R. (2017) Two mechanisms for dissipation of excess light in monomeric and trimeric light-harvesting complexes, *Nat. Plants*, **3**, 17033, <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.33>.
90. Sacharz, J., Giovagnetti, V., Ungerer, P., Mastroianni, G., and Ruban, A. V. (2017) The xanthophyll cycle affects reversible interactions between PsbS and light-harvesting complex II to control non-photochemical quenching, *Nat. Plants*, **3**, 16225, <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.225>.
91. Correa-Galvis, V., Poschmann, G., Melzer, M., Stühler, K., and Jahns, P. (2016) PsbS interactions involved in the activation of energy dissipation in *Arabidopsis*, *Nat. Plants*, **2**, 15225, <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.225>.
92. Daskalakis, V. (2018) Protein–protein interactions within photosystem II under photoprotection: the synergy between CP29 minor antenna, subunit S (PsbS) and zeaxanthin at all-atom resolution, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **20**, 11843-11855, <https://doi.org/10.1039/C8CP01226A>.
93. Liguori, N., Xu, P., Van Stokkum, I. H., Van Oort, B., Lu, Y., Karcher, D., Bock, R., and Croce, R. (2017) Different carotenoid conformations have distinct functions in light-harvesting regulation in plants, *Nat. Commun.*, **8**, 1994, <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02239-z>.
94. Bergantino, E., Segalla, A., Brunetta, A., Teardo, E., Rigoni, F., Giacometti, G. M., and Szabò, I. (2003) Light- and pH-dependent structural changes in the PsbS subunit of photosystem II, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 15265-15270, <https://doi.org/10.1073/pnas.2533072100>.
95. Krishnan-Schmieden, M., Konold, P. E., Kennis, J. T., and Pandit, A. (2021) The molecular pH-response mechanism of the plant light-stress sensor PsbS, *Nat. Commun.*, **12**, 2291, <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22530-4>.
96. Ambrose, W. P., Goodwin, P. M., Martin, J. C., and Keller, R. A. (1994) Single molecule detection and photochemistry on a surface using near-field optical excitation, *Phys. Rev. Lett.*, **72**, 160, <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.72.160>.
97. Basché, T., Kummer, S., and Bräuchle, C. (1995) Direct spectroscopic observation of quantum jumps of a single molecule, *Nature*, **373**, 132-134, <https://doi.org/10.1038/373132a0>.
98. Krüger, T. P., Illoiaia, C., Valkunas, L., and van Grondelle, R. (2011) Fluorescence intermittency from the main plant light-harvesting complex: sensitivity to the local environment, *J. Phys. Chem. B*, **115**, 5083-5095, <https://doi.org/10.1021/jp109833x>.
99. Bopp, M. A., Jia, Y., Li, L., Cogdell, R. J., and Hochstrasser, R. M. (1997) Fluorescence and photobleaching dynamics of single light-harvesting complexes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 10630-10635, <https://doi.org/10.1073/pnas.94.20.10630>.
100. Ying, L., and Xie, X. S. (1998) Fluorescence spectroscopy, exciton dynamics, and photochemistry of single allophycocyanin trimers, *J. Phys. Chem. B*, **102**, 10399-10409, <https://doi.org/10.1021/jp983227d>.
101. Hofkens, J., Schroeyers, W., Loos, D., Cotlet, M., Köhn, F., Vosch, T., Maus, M., Herrmann, A., Müllen, K., and Gensch, T. (2001) Triplet states as non-radiative traps in multichromophoric entities: single molecule spectroscopy of an artificial and natural antenna system, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **57**, 2093-2107, [https://doi.org/10.1016/S1386-1425\(01\)00499-1](https://doi.org/10.1016/S1386-1425(01)00499-1).
102. Gerotto, C., and Morosinotto, T. (2013) Evolution of photoprotection mechanisms upon land colonization: evidence of PSBS-dependent NPQ in late *Streptophyte* algae, *Physiol. Plant.*, **149**, 583-598, <https://doi.org/10.1111/ppl.12070>.
103. Giovagnetti, V., and Ruban, A. V. (2018) The evolution of the photoprotective antenna proteins in oxygenic photosynthetic eukaryotes, *Biochem. Soc. Transact.*, **46**, 1263-1277, <https://doi.org/10.1042/BST20170304>.
104. Tibiletti, T., Auroy, P., Peltier, G., and Caffarri, S. (2016) *Chlamydomonas reinhardtii* PsbS protein is functional and accumulates rapidly and transiently under high light, *Plant Physiol.*, **171**, 2717-2730, <https://doi.org/10.1104/pp.16.00572>.

105. Correa-Galvis, V., Redekop, P., Guan, K., Griess, A., Truong, T. B., Wakao, S., Niyogi, K. K., and Jahns, P. (2016) Photosystem II subunit PsbS is involved in the induction of LHCSR protein-dependent energy dissipation in *Chlamydomonas reinhardtii*, *J. Biol. Chem.*, **291**, 17478-17487, <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.737312>.
106. Strenkert, D., Schmollinger, S., Gallaher, S. D., Salomé, P. A., Purvine, S. O., Nicora, C. D., Mettler-Altmann, T., Soubeyrand, E., Weber, A. P., and Lipton, M. S. (2019) Multiomics resolution of molecular events during a day in the life of *Chlamydomonas*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 2374-2383, <https://doi.org/10.1073/pnas.1815238116>.
107. Zhao, X., Tang, X., Hu, S., Zhong, Y., Qu, T., and Wang, Y. (2019) Photosynthetic response of floating *Ulva prolifera* to diurnal changes of in-situ environments on the sea surface, *J. Oceanol. Limnol.*, **37**, 589-599, <https://doi.org/10.1007/s00343-019-8081-5>.
108. Ptushenko, V. V., Bondarenko, G. N., Vinogradova, E. N., Glagoleva, E. S., Karpova, O. V., Ptushenko, O. S., Shibusukhova, K. A., Solovchenko, A. E., and Lobakova, E. S. (2022) Chilling upregulates expression of the PsbS and LhcSR genes in the chloroplasts of the green microalga *Lobosphaera incisa* IPPAS C-2047, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1699-1706, <https://doi.org/10.1134/S0006297922120240>.
109. Li, Q., Zhang, L., Pang, T., and Liu, J. (2019) Comparative transcriptome profiling of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) in response to two extreme temperature treatments: an RNA-seq-based resource for photosynthesis research, *Eur. J. Phycol.*, **54**, 162-174, <https://doi.org/10.1080/09670262.2018.1536283>.
110. Larkum, A. W. (2020) Light-harvesting in cyanobacteria and eukaryotic algae: an overview, in *Photosynthesis in Algae: Biochemical and Physiological Mechanisms*, pp. 207-260, https://doi.org/10.1007/978-3-030-33397-3_10.
111. Slonimskiy, Y. B., Zupnik, A. O., Varfolomeeva, L. A., Boyko, K. M., Maksimov, E. G., and Sluchanko, N. N. (2022) A primordial orange carotenoid protein: structure, photoswitching activity and evolutionary aspects, *Int. J. Biol. Macromol.*, **222**, 167-180, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.131>.
112. Wilson, A., Punginelli, C., Gall, A., Bonetti, C., Alexandre, M., Routaboul, J.-M., Kerfeld, C. A., Van Grondelle, R., Robert, B., and Kennis, J. T. (2008) A photoactive carotenoid protein acting as light intensity sensor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 12075-12080, <https://doi.org/10.1073/pnas.0804636105>.
113. Kirilovsky, D. (2020) Modulating energy transfer from phycobilisomes to photosystems: state transitions and OCP-related non-photochemical quenching, in *Photosynthesis in Algae: Biochemical and Physiological Mechanisms*, 367-396, https://doi.org/10.1007/978-3-030-33397-3_14.
114. Delphin, E., Duval, J.-C., Etienne, A.-L., and Kirilovsky, D. (1996) State transitions or Δ pH-dependent quenching of photosystem II fluorescence in red algae, *Biochemistry*, **35**, 9435-9445, <https://doi.org/10.1021/bi960528+>.
115. Delphin, E., Duval, J.-C., Etienne, A.-L., and Kirilovsky, D. (1998) Δ pH-dependent photosystem II fluorescence quenching induced by saturating, multturnover pulses in red algae, *Plant Physiol.*, **118**, 103-113, <https://doi.org/10.1104/pp.118.1.103>.
116. Cazzaniga, S., Kim, M., Bellamoli, F., Jeong, J., Lee, S., Perozeni, F., Pompa, A., Jin, E., and Ballottari, M. (2020) Photosystem II antenna complexes CP26 and CP29 are essential for nonphotochemical quenching in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Plant Cell Environ.*, **43**, 496-509, <https://doi.org/10.1111/pce.13680>.
117. Teardo, E., de Laureto, P. P., Bergantino, E., Dalla Vecchia, F., Rigoni, F., Szabò, I., and Giacometti, G. M. (2007) Evidences for interaction of PsbS with photosynthetic complexes in maize thylakoids, *Biochim. Biophys. Acta*, **1767**, 703-711, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.12.002>.
118. Nilkens, M., Kress, E., Lambrev, P., Miloslavina, Y., Müller, M., Holzwarth, A. R., and Jahns, P. (2010) Identification of a slowly inducible zeaxanthin-dependent component of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence generated under steady-state conditions in *Arabidopsis*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1797**, 466-475, <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.01.001>.
119. Yamamoto, H. Y. (1979) Biochemistry of the violaxanthin cycle in higher plants, in *Carotenoids-5*, Elsevier, pp. 639-648, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-022359-9.50017-5>.
120. Subramanyam, R., and Madireddi, S. K. (2021) Perception of state transition in photosynthetic organisms, in *Photosynthesis: Molecular Approaches to Solar Energy Conversion*, Springer, pp. 303-320, https://doi.org/10.1007/978-3-030-67407-6_11.
121. Vetoshkina, D., and Borisova-Mubarakshina, M. (2023) Reversible protein phosphorylation in higher plants: focus on state transitions, *Biophys. Rev.*, **15**, 1079-1093, <https://doi.org/10.1007/s12551-023-01116-y>.

ENERGY DEPENDENT NON-PHOTOSHEMICAL QUENCHING: PsbS, LhcSR AND OTHER PLAYERS

Review

V. V. Ptushenko^{1,2*} and A. P. Razjivin¹

¹ A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University,
119992 Moscow, Russia; e-mail: ptush@belozersky.msu.ru

² N. M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences,
119334 Moscow, Russia

The photosynthetic apparatus of plants is capable of capturing even weak fluxes of light energy. Hence, strong and rapid increase in irradiance should be dangerous for plants. To solve the problems caused by fluctuations of incident radiation (up to excessive), plants have developed a number of protective mechanisms, including non-photochemical quenching (NPQ) of excited chlorophyll states. NPQ is a set of mechanisms that shorten the lifetime of excited chlorophyll states in the photosynthetic antenna, thereby reducing dangerous effects of light. The most rapid mechanism of NPQ is energy-dependent quenching (qE) triggered by the proton potential formation on the thylakoid transmembrane. The main molecular players of qE are xanthophylls (oxygen-containing carotenoids) and proteins of the thylakoid membrane: antenna component LhcSR in algae and mosses and photosystem II component PsbS in higher plants and some groups of “green lineage” alga. This review discusses molecular mechanisms of qE, with a special focus on the PsbS-dependent quenching. The discovery that PsbS does not bind pigments has led to the hypothesis of PsbS-dependent indirect activation of quenching, in which PsbS acts as a relay switching on the quenching sites in the major (LHCII) and/or minor photosynthetic antennae. The suggested mechanisms include the effect of PsbS on carotenoid conformation and/or pK_a values of amino acid residues in PSII antennae. PsbS can also act as a membrane “lubricant” that ensures migration of the major antenna LHCII in the thylakoid membrane and its aggregation followed by transition to the quenched state.

Keywords: energy dependent quenching, direct quenching, indirect activation of quenching, PsbS, LhcSR, LHCII