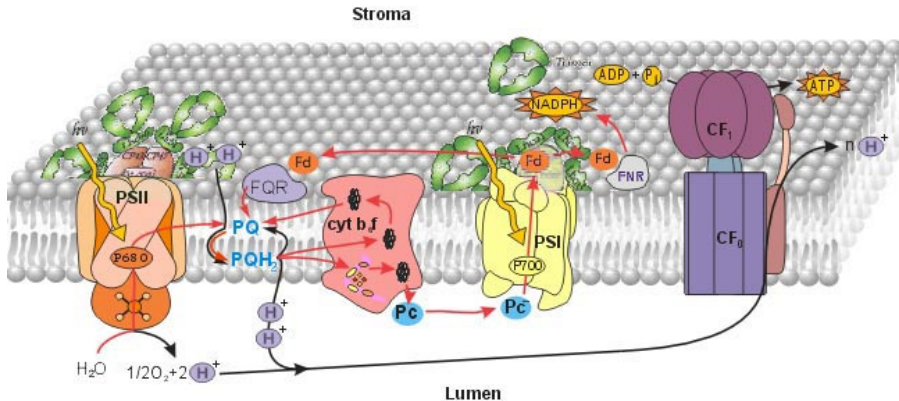


# Энерго-преобразующие мембраны



## Модели первичных процессов фотосинтеза

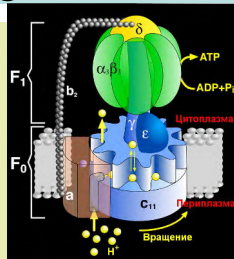
# Нано-электростанции в живой клетке

- Дыхание
- Митохондрии

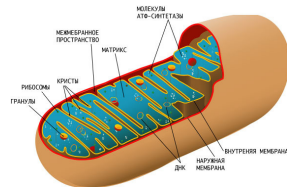
- Производство энергии

АТФ из энергии солнечного света

- Хлоропласты (зеленые растения и водоросли)  
и хроматофоры (бактерии)

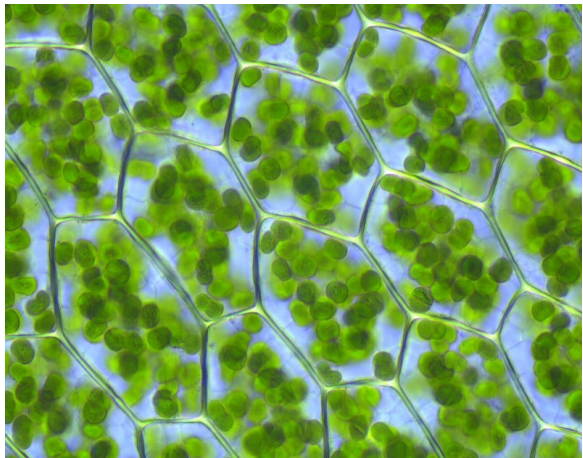
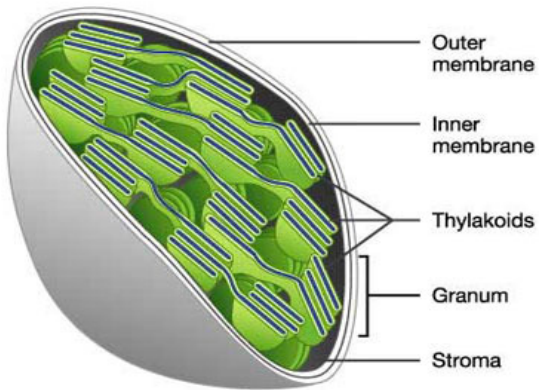


# Производство энергии осуществляется в субклеточных системах



Митохондрия

# Хлоропласт.






1. Поглощение света   $10^{-15}$  с

2. Разделение зарядов в реакционном центре   $10^{-12}$  с

3. Электронный транспорт   $10^{-10}$  –  $10^{-2}$  с

4. Фиксация углерода (цикл Кальвина)  **секунды-минуты**

5. Транспорт веществ в растении  **минуты-часы**

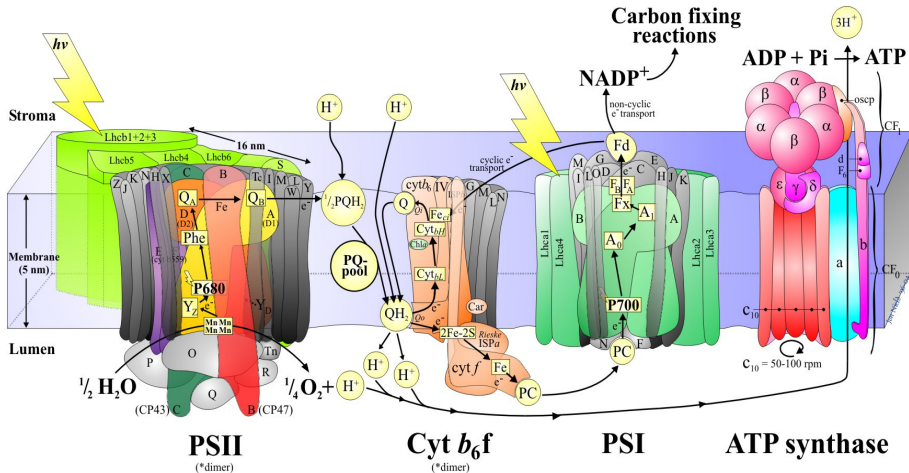
6. Рост растения  **дни**



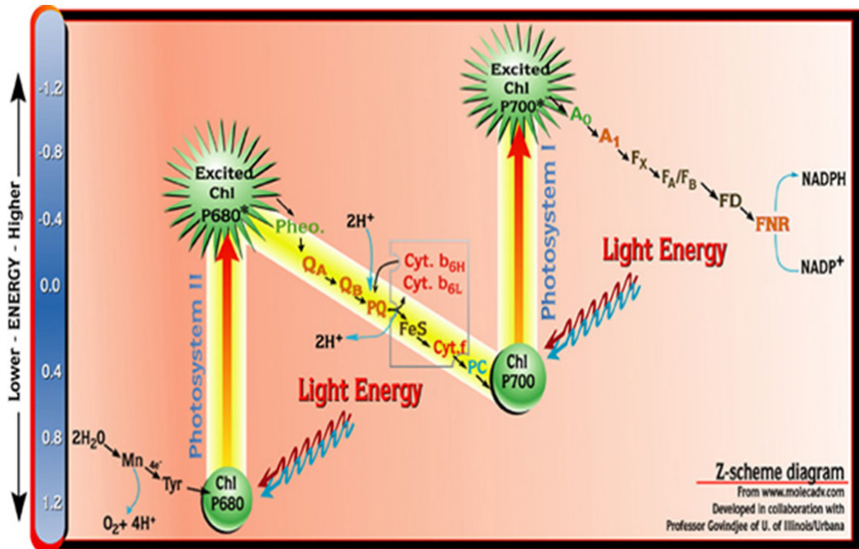
## ФОТОСИНТЕЗ

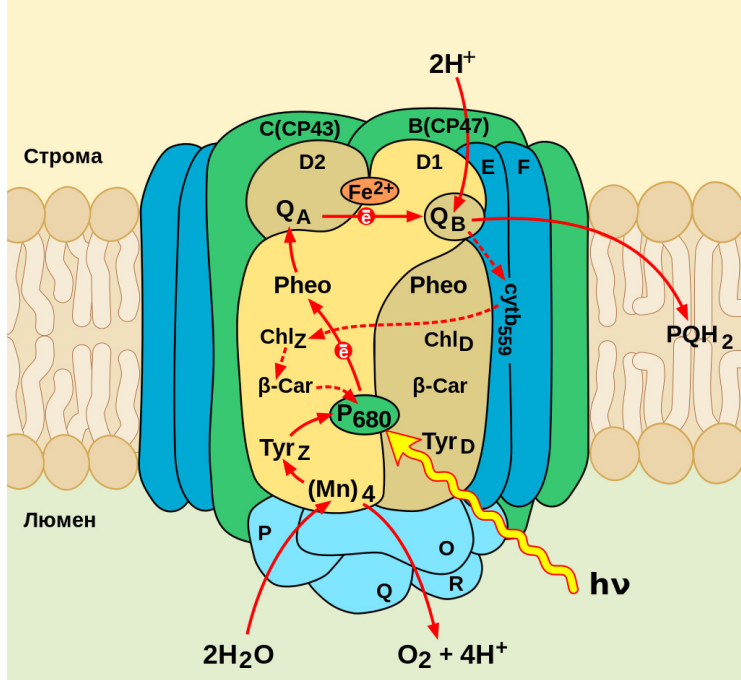
Иерархия  
фотосинте-  
тических  
процессов

# Структура мультиферментных комплексов



# Z- схема фотосинтеза





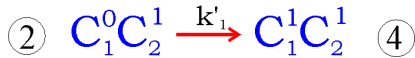
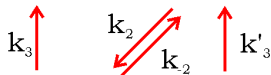
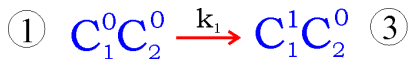
# Описание состояний комплекса из двух компонентов $C_1C_2$

уравнения для вероятностей  
состояний

$$\frac{dp_i}{dt} = \sum_{j=1}^l (p_j k_{ji} - p_i k_{ij}),$$

Начальные условия

$$p_i(0) = b_i, \quad i = 1, \dots, l.$$



$$\dot{p}_1 = k_3 p_2 - k_1 p_1$$

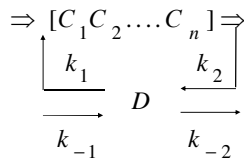
$$\dot{p}_2 = k_2 p_3 - (k'_1 + k_3 + k_{-2}) p_2$$

$$\dot{p}_3 = k_1 p_1 + k'_3 p_4 + k_{-2} p_2 - k_2 p_3$$

$$\dot{p}_4 = k'_1 p_2 - k'_3 p_4$$

$$p_1 + p_2 + p_3 + p_4 = 1$$

# Взаимодействие комплекса с мобильным переносчиком D



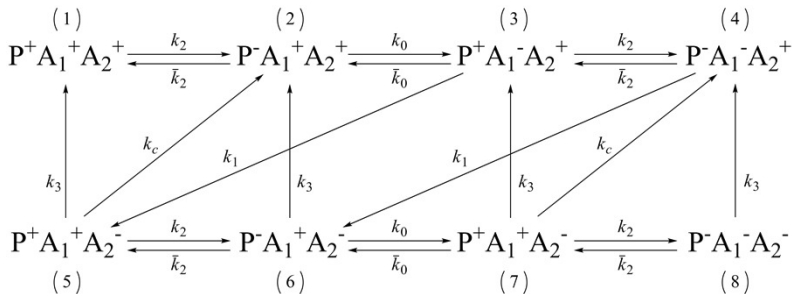
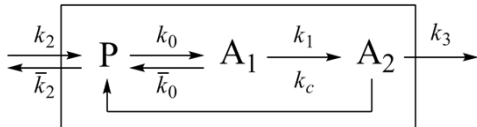
$$\frac{d[D^-]}{dt} = k_2 [C_n^-] [D^+] - k_{-2} [D^-] [C_n^+] - k_1 [D^-] [C_1^+] + k_{-1} [C_1^-] [D^+]$$

$[D^+]$ ,  $[D^-]$  - концентрации мобильного переносчика в окисленной и восстановленной форме;

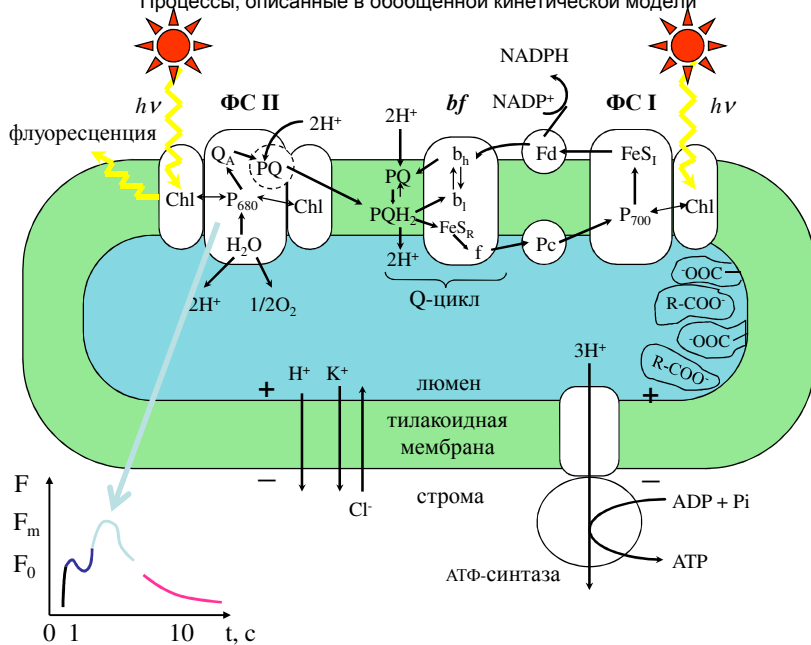
$[C_1^+]$ ,  $[C_1^-]$ ,  $[C_n^+]$ ,  $[C_n^-]$  - концентрации компонентов комплекса

$k_i$  - бимолекулярные константы скоростей.

# Комплекс из трех переносчиков



Процессы, описанные в обобщенной кинетической модели





Кинетические уравнения для вероятностей состояний ФСII имеют вид:

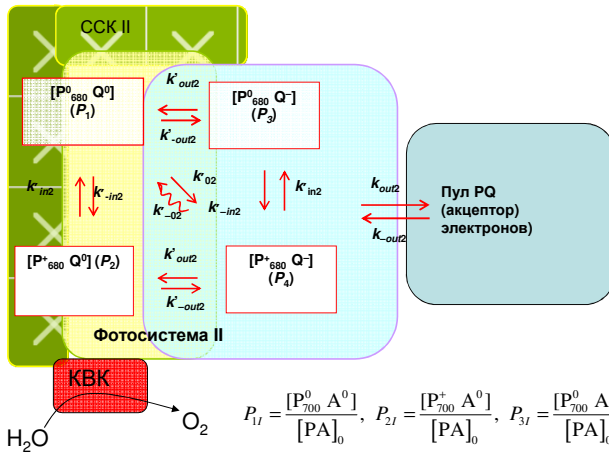
$$\frac{dP_{1II}}{dt} = -(k'_{-out2} + k_{-in2} + k'_{02})P_{1II} + k'_{in2}P_{1II} + k'_{out2}P_{3II} + k'_{-02}P_{4II},$$

$$\frac{dP_{2II}}{dt} = k'_{-in2} \cdot P_{1II} - (k'_{in2} + k'_{-out2})P_{2II} + k'_{out2}P_{4II},$$

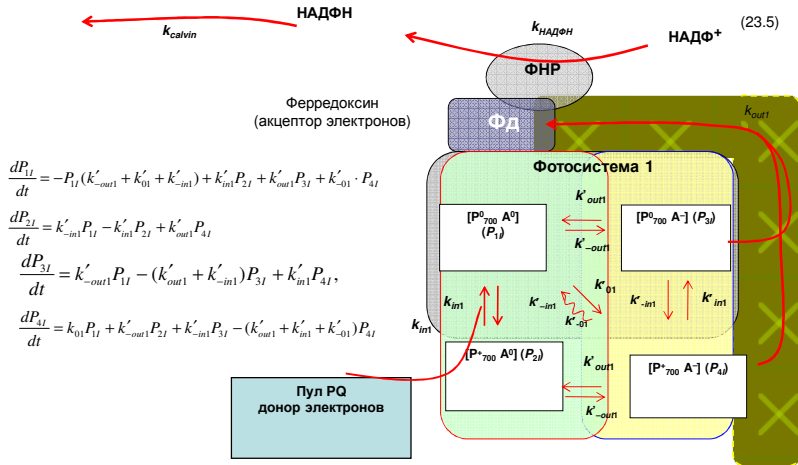
$$\frac{dP_{3II}}{dt} = k'_{-out2}P_{1II} - (k'_{out2} + k'_{-in2})P_{3II} + k'_{in2}P_{4II}$$

$$\frac{dP_{4II}}{dt} = k'_{02}P_{1II} + k'_{-out2}P_{2II} + k'_{-in2}P_{3II} - (k'_{in2} + k'_{-02} + k'_{out2})P_{4II}.$$

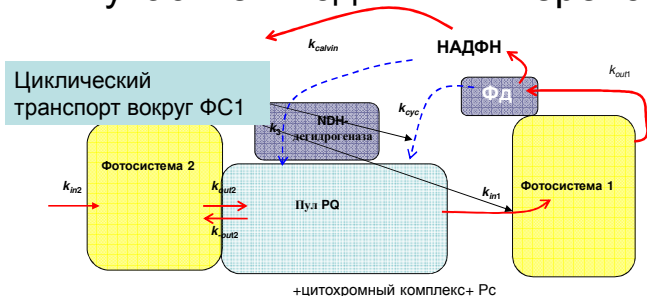
## Фотосистема 2



# Фотосистема 1



# Взаимодействие двух фотосистем с участием подвижных переносчиков



$$\frac{d[PQ^-]}{dt} = k_{out2} \cdot (P_{3II} + P_{4II}) \cdot [P_{680}] \cdot [PQ] + k_3 \cdot [НАДФН] \cdot [PQ] + k_{cyc} \cdot [\Phi^-] [PQ^-] -$$

$$- (k_{in1} \cdot (P_{1I} + P_{3I}) \cdot [P_{700}] + k_{out2} \cdot (P_{1II} + P_{2II}) \cdot [P_{680}]) [PQ^-],$$

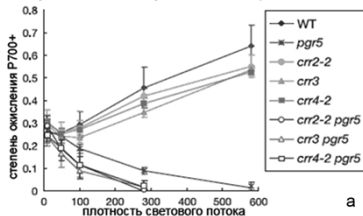
$$\frac{d[\Phi^-]}{dt} = k_{out1} (P_{3I} + P_{4I}) [P_{700}] \cdot [\Phi] + k_{-НАДФН} [НАДФН] \cdot [\Phi] -$$

$$- (k_{НАДФН} [НАДФ^+] + k_{cyc} [PQ] + k_{out1} (P_{1I} + P_{2I}) [P_{700}]) [\Phi^-],$$

$$\frac{d[НАДФН]}{dt} = k_{НАДФН} [\Phi^-] [НАДФ^+] - (k_{-НАДФН} [\Phi] + k_3 [PQ] - k_{calvin}) [НАДФН].$$

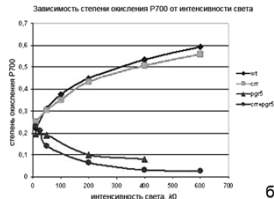
# Изучение влияния мутаций

Зависимость степени окисления P700 в зависимости от интенсивности освещения у дикого типа и мутантов *Arabidopsis Thaliana*



эксперимент

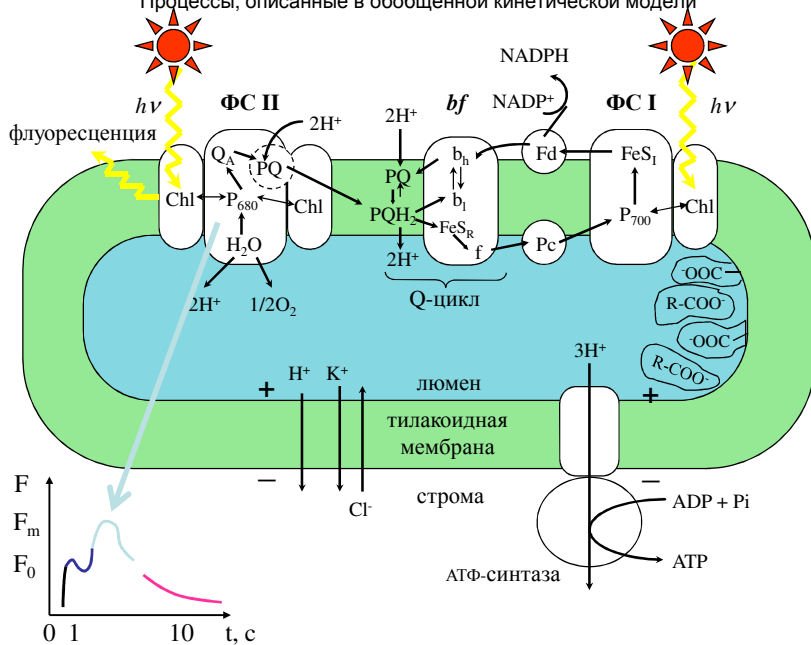
## PGR proton gradient regulation



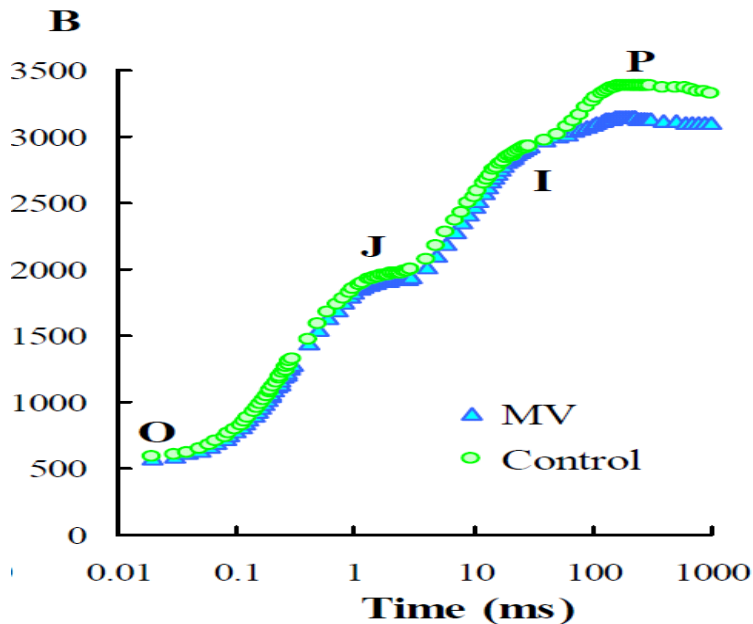
модель

у *crr*-мутантов подавлен только *NDH*-зависимый электронный транспорт, а у *pgr5*- мутантов подавлен как циклический Fd-зависимый электронный транспорт, так и электронный поток в акцепторной части ФСІ.

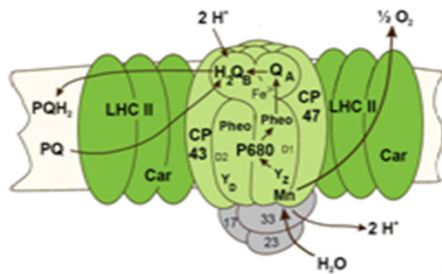
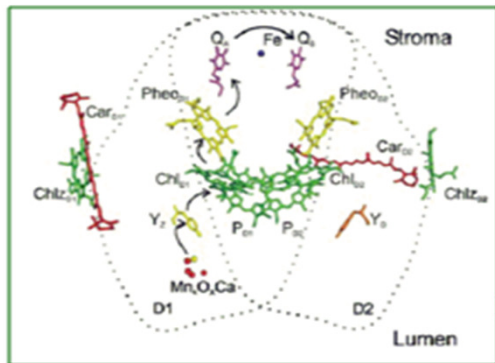
Процессы, описанные в обобщенной кинетической модели



Кинетическая  
кривая  
нарастающего  
участка  
индукции  
флуоресценции

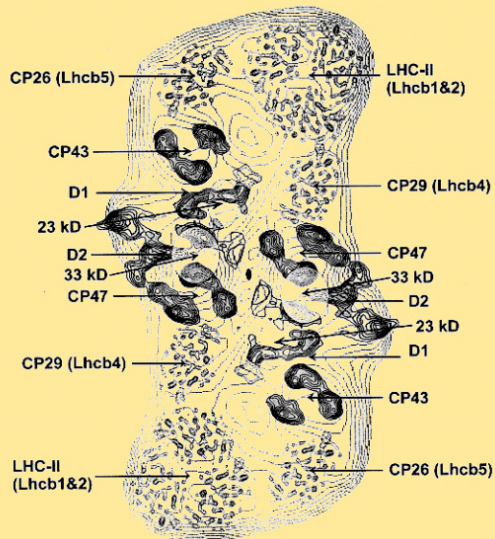
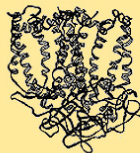
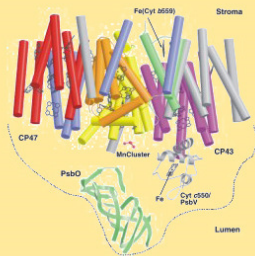


# Photosystem II – the source of fluorescence

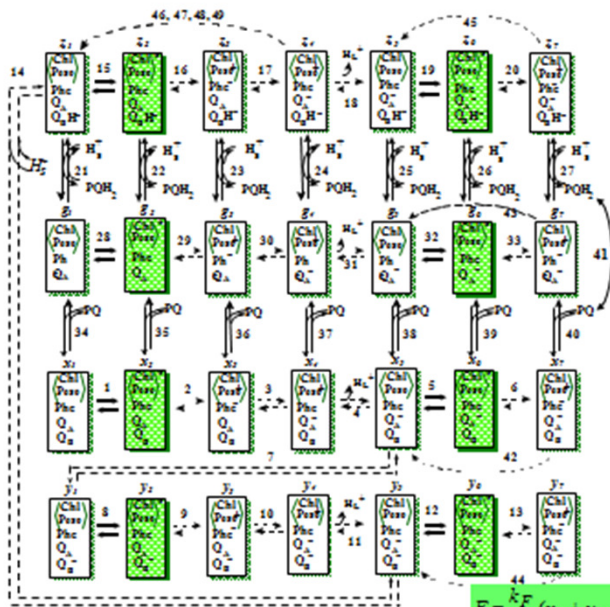


**Chl, PSII chlorophyll, P680 -  
photoactive pigments; Phe,  
pheophytin;  $Q_A$  and  $Q_B$ , primary  
and secondary quinone acceptors;  
PQ, plastoquinone;  $PQH_2$ ,  
plastoquinol;  
 $H_L^+$  and  $H_S^+$  protons in lumen and  
stroma,**

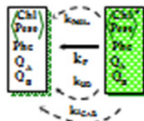
# Комплекс Фотосистемы 2. Подробности.







## Scheme of PSII states



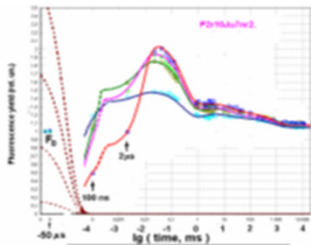
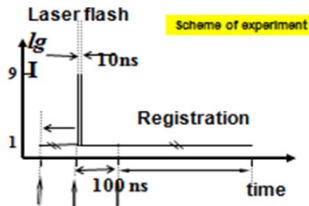
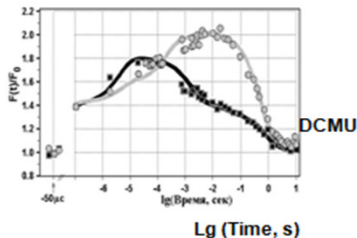
Energy relaxation processes

Fluorescence yield

# Моделирование отклика системы на короткую ВСПЫШКУ

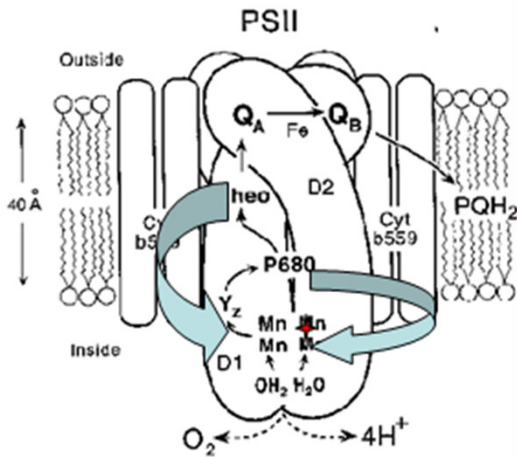
Experiment (dots) and simulation (solid lines). Fluorescence induction curves after the saturating 10 ns laser flash, cells of thermophilic *Chlorella pyrenoidosa* Chick.

lab. Prof. G.Renger (Berlin)



laser energies:  $7.5 \cdot 10^{15}$  ph/cm<sup>2</sup> flash (dark blue),  $6.2 \cdot 10^{15}$  ph/cm<sup>2</sup> flash (magenta),  $3.0 \cdot 10^{15}$  ph/cm<sup>2</sup> flash (beige);  $5.4 \cdot 10^{14}$  ph/cm<sup>2</sup> flash (light-green).

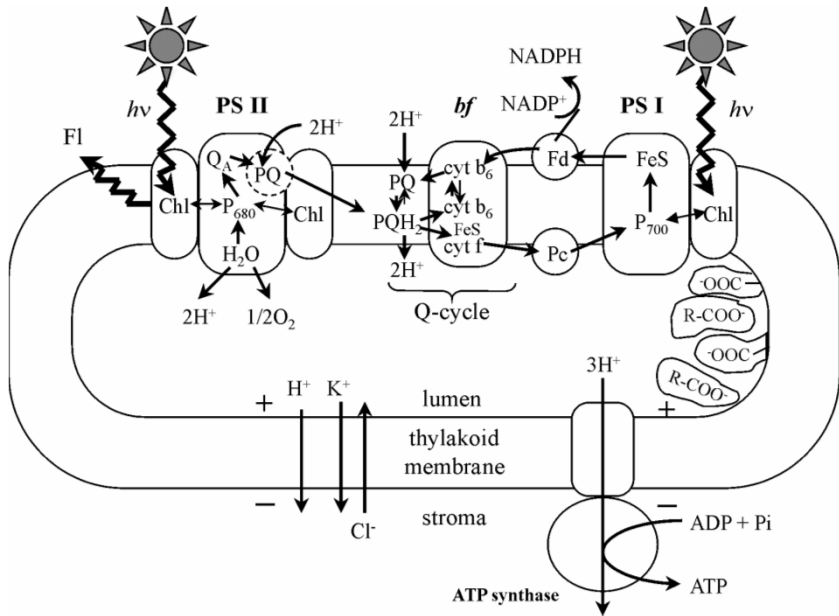
Belyaeva, Renger et al., Phot.Res.  
2008-2016



## Electron transport in PSII

Arrows – the  
processes of non-  
radiation  
relaxation

Rate constants of this  
processes can be  
evaluated only by  
simulation  
(not directly in  
experiment)



(A) First turnover

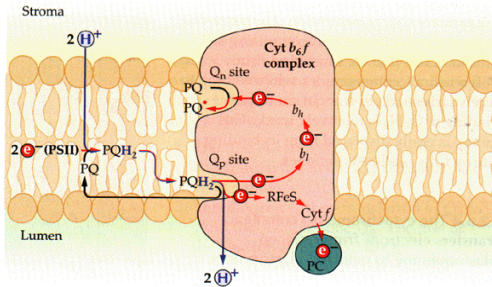
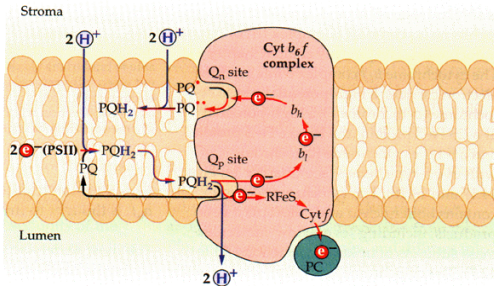


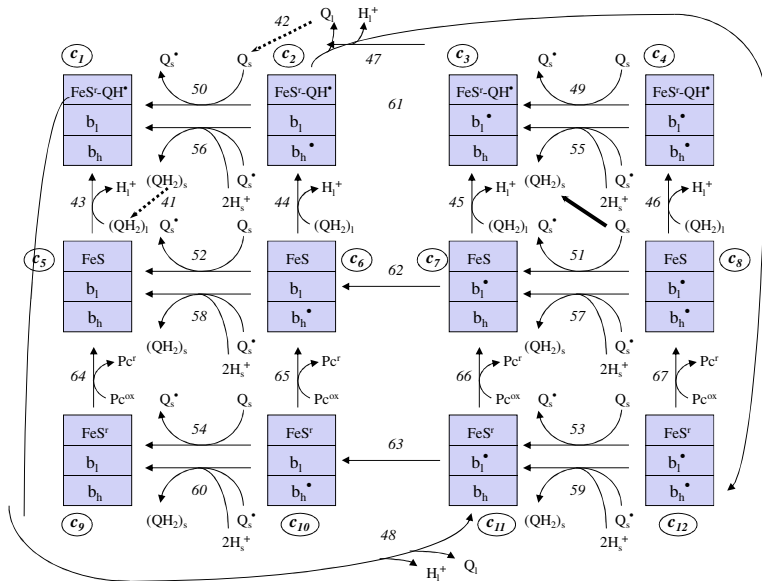
Схема Митчела  
функционирования  
цитохромного  
комплекса.

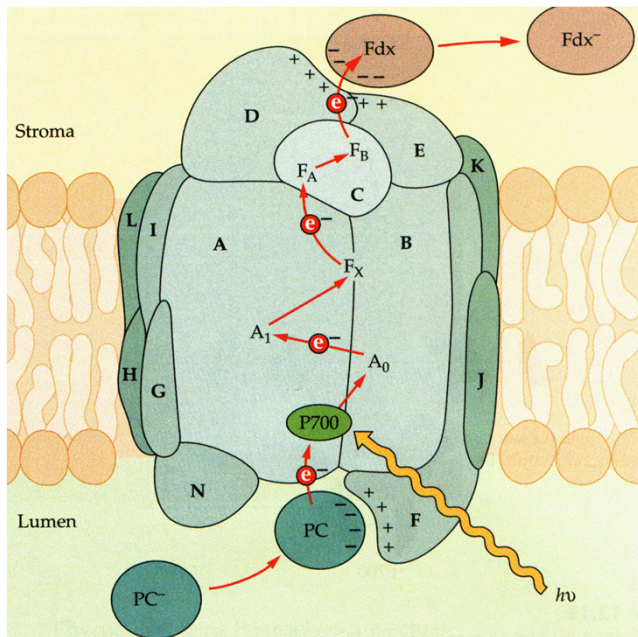
(B) Second turnover



Сопряжение  
электронного  
транспорта и  
трансмембранного  
переноса протонов

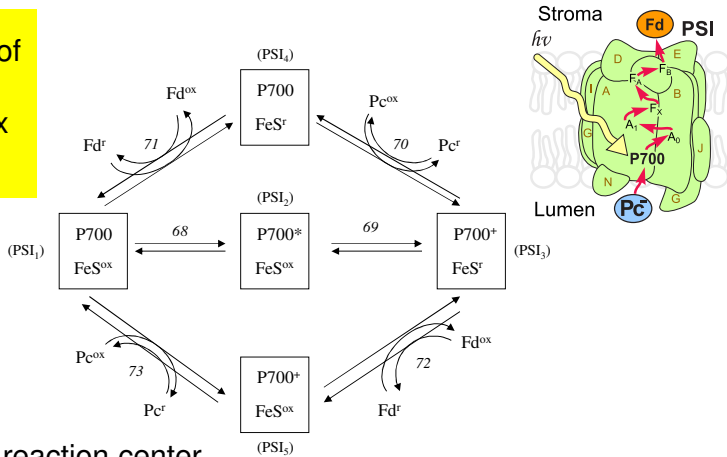
# States of the Cytochrome complex





Комплекс  
Фото-  
реакционного  
центра  
Фотосистемы I

# Scheme of PS1 Complex States

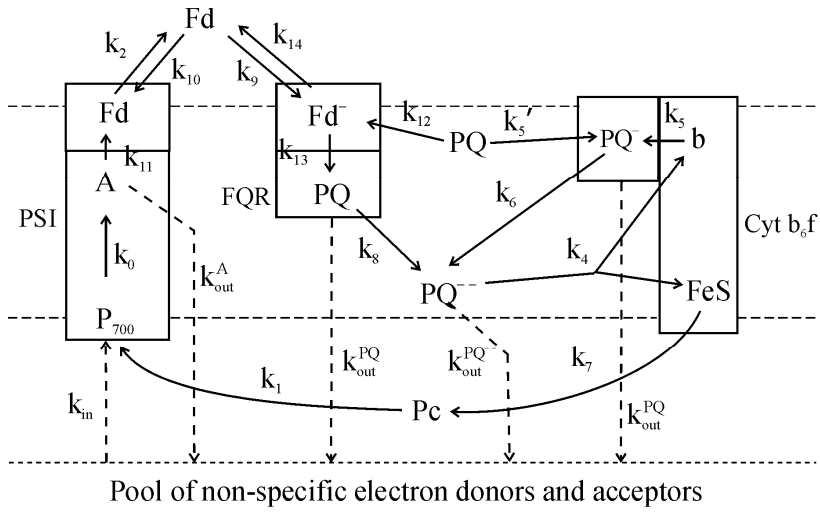


P700 - the reaction center chlorophyll,  
 FeS - the entire acceptor complex;  
 Fd, ferredoxin;  
 Pc, plastocyanin;

superscripts mark the reduced (r) and oxidized (ox) states.



# Схема процессов в ФС1 и циклических потоков вокруг ФС1

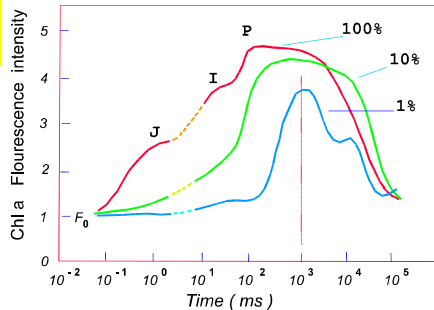


**General kinetic model.  
Fluorescence induction curves  
simulation**

**Experiment**

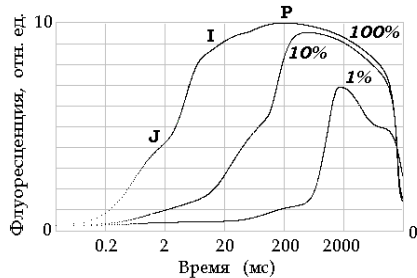
*Red light (650 нм) Intensity  
600 (100%), 60 (10%) and 6  
(1%)  $W \cdot m^{-2}$ .*

*Strasser R.J., Srivastava A.,  
Govindjee // Photochemistry  
and Photobiology. 1995. V.61.  
P.32-42 44.*

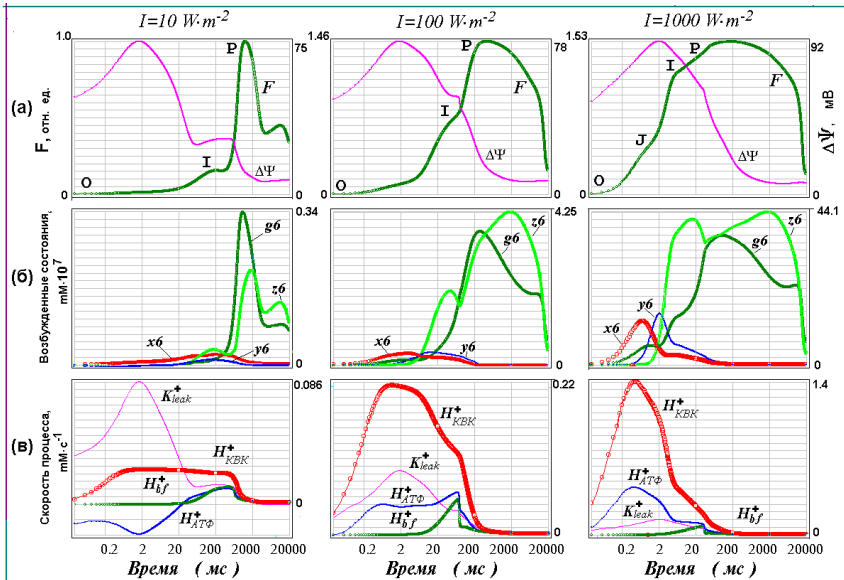


**Model**

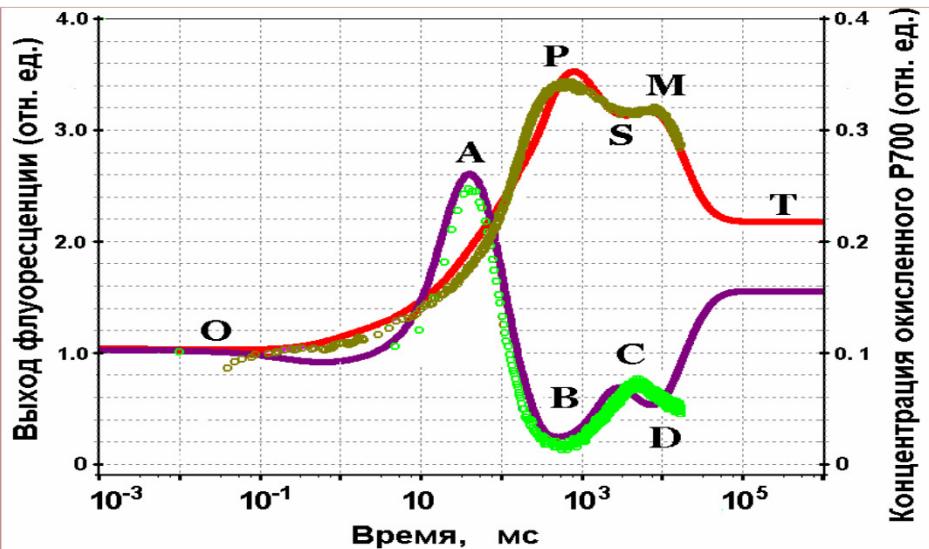
*Light constants:  
1500, 150 и  $15 c^{-1}$ .*



# Kinetic curves of variables of the model



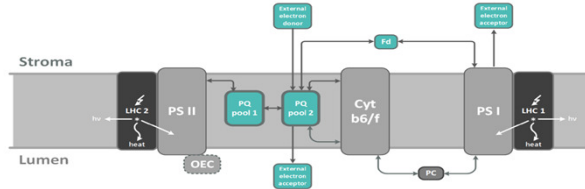
# Одновременное фитирование данных флуоресценции и кинетики редокс превращений Р700 - фотоактивного пигмента ФС1



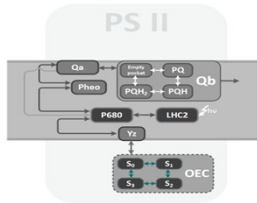
Belyaeva,  
Bulychev,  
Riznichenko,  
Rubin. Phot. Res.  
2016

# Кинетические Монте Карло модели

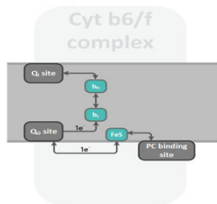
A



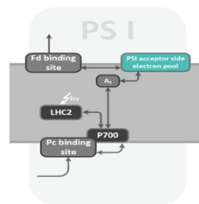
B



C

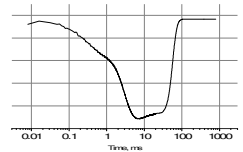


D

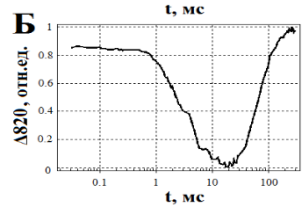


3 millions of Photosynthetic Chains  
As in a real micro algae cell

P700 redox transformations

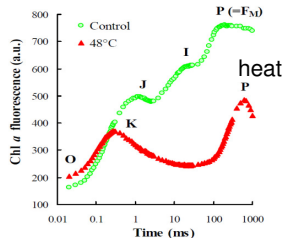
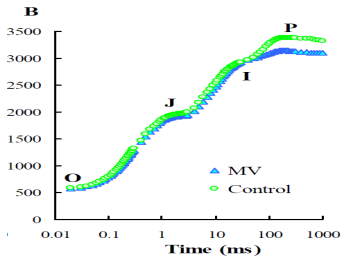
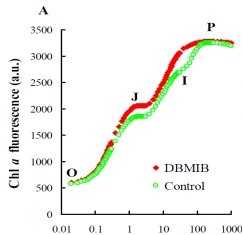
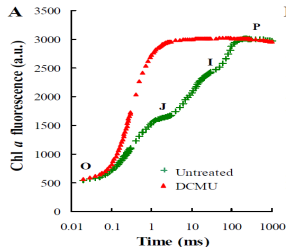


МОДЕЛЬ



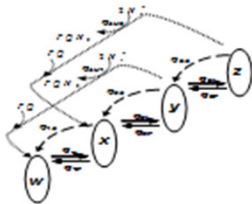
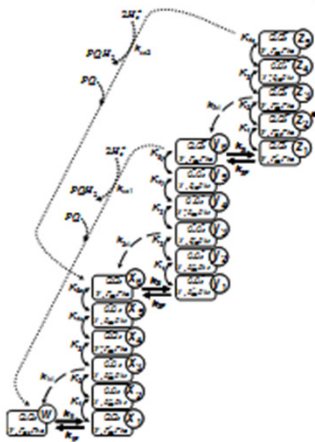
эксперимент

# Симуляция воздействия ингибиторов



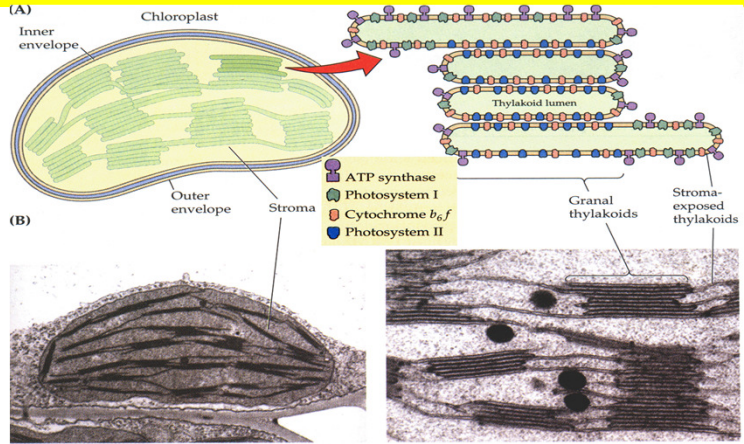
# Как использовать кинетические модели

- Фитирование экспериментальных кривых и оценка параметров. Не определяемых экспериментально (параметры безызлучательной релаксации в ФРЦ)
- Оценка параметров фотосинтетической цепи в разных условиях : для разных видов, в ходе роста культуры, при разных режимах культивирования и режимах освещения, при стрессе



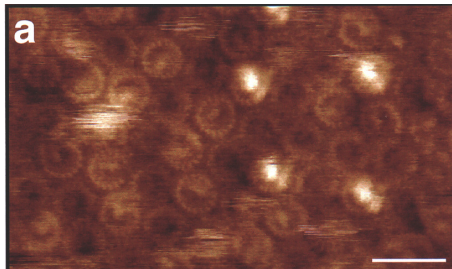
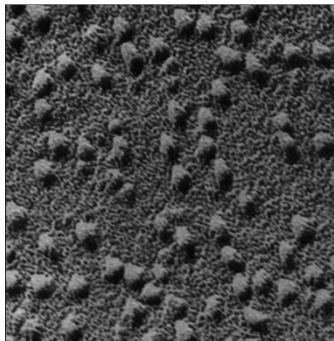
# Недостатки кинетических моделей

- Трудности в описании пространственной гетерогенности
- Несвободная диффузия подвижных переносчиков
- Невозможность проследить судьбу отдельного участника процесса





# Изображения мембраны тилакоида

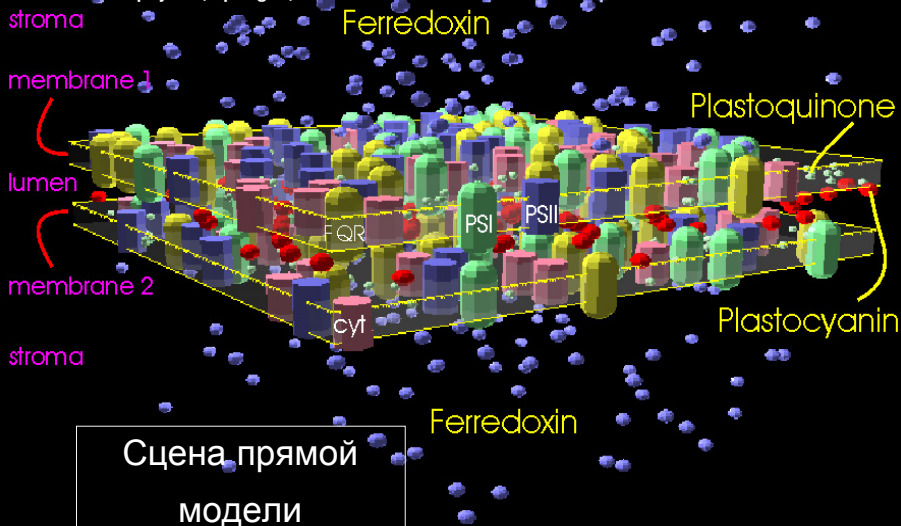


Атомная силовая микроскопия

Вид участка тилакоидной мембраны в электронный микроскоп. Размер изображения 4 мкм. Грана – структурная единица тилакоида, имеет форму диска диаметром 500 нм и толщиной 15-20 нм

## Метод прямого многочастичного моделирования

Коваленко и др., 2003, 2007, 2008, 2009; Kovalenko et al., 2006; Абатурова и др., 2008; Дьяконова и др., 2008; 2016; Устинин и др., 2013; Хрущев и др. 2015; Ризниченко и др., 2009; 2017; Rubin, Riznichenko in "Photosynthesis in Silico" Springer, 2009; math. Biophysics, Springer, 2014



# Броуновская динамика (Brownian dynamics)

Для каждой частицы решается уравнение:

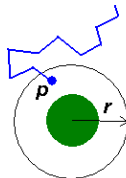
- $\xi \frac{dx}{dt} = f(t)$

- Здесь  $f(t)$  – случайная сила, распределенная по Гауссу с нулевым средним и дисперсией, равной  $2kT\xi$ ,  $k$  – постоянная Больцмана,  $T$  – температура,  $\xi$  – коэффициент трения в среде, вычисляемый (в предположении о сферичности частицы) по формуле ,

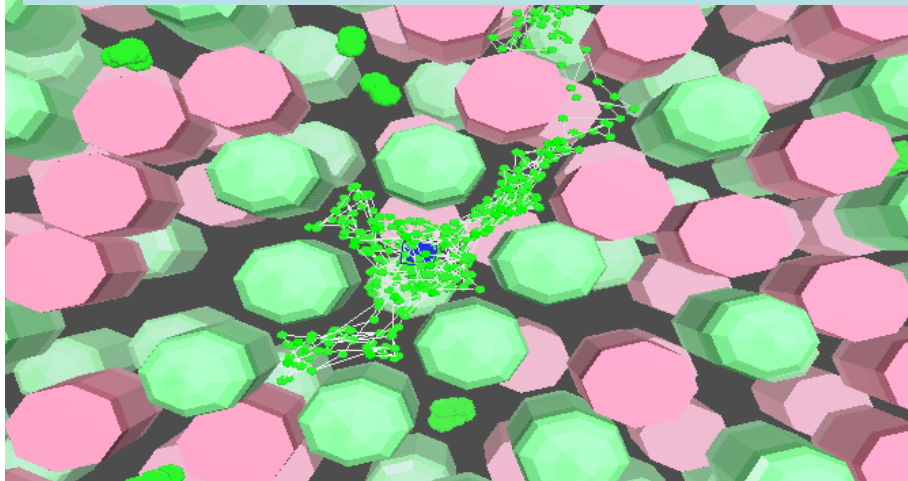
$$\xi = 6\pi\eta a$$

- где  $\eta$  – вязкость среды,  $a$  – радиус частицы

Параметры прямой модели:  
Эффективный радиус взаимодействия  
Вероятность докинга

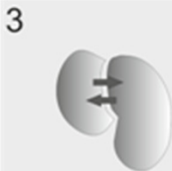
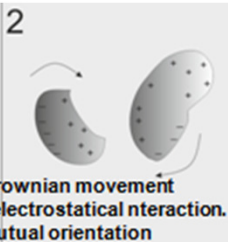


Модельная траектория молекулы РQ в  
мембране с встроенными ФС1, ФС 2 и  
цитохромными комплексами

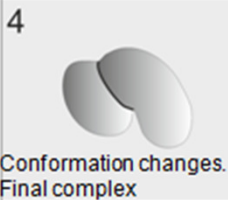


# Protein-protein interaction

diffusion



Preliminary complex



Reaction. Charge exchange



Complex dissociation

# Description of protein movement by Langevin Equations

## Transition

$$\xi_t^x \frac{dx}{dt} = f_x(t) + F_x \quad \langle f_x(t) \rangle = 0 \quad \langle f_x(t)^2 \rangle = \frac{2kT\xi_t^x}{\Delta t}$$

$x$  – coordinate,

$\xi_t^x$  – viscous friction coefficient along  $x$ ,

$f_x(t)$  and  $F_x$  – projections of casual and electrostatic forces on the axes  $x$ , respectively

$k$  – Boltzmann factor,

$T$  – temperature

$$F_x = -q \cdot \frac{d\varphi}{dx} \quad \varphi\text{-potential}$$

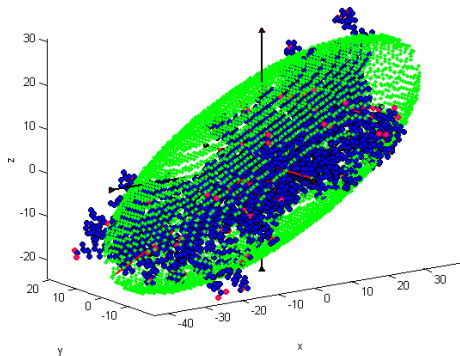
## Rotation

$$\xi_r^x \frac{d\varphi}{dt} = m_x(t) + M_x \quad \langle m_x(t) \rangle = 0 \quad \langle m_x(t)^2 \rangle = \frac{2kT\xi_r^x}{\Delta t}$$

$\varphi$  – the angle of rotation around the axes  $x$ ,  $\xi_r^x$  – viscous friction coefficient for rotation around the axes  $x$ ,  $m_x(t)$  and  $M_x$  – moments of casual and electrostatic forces relative to the axes  $x$ , respectively

To simulate the diffusion at the distance more than 35 Å

## Approximation of cyt f and Pc by ellipsoids of rotation



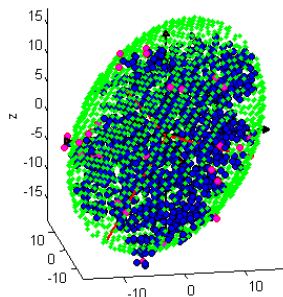
Molecular mass

Axes of ellipsoids of rotation

**Cyt f**

$M = 27.9 \text{ KDa}$

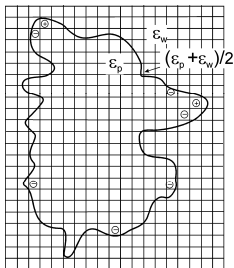
$a=47 \text{ Å}, b=17 \text{ Å}$



**Pc**

$M = 10.5 \text{ KDa}$

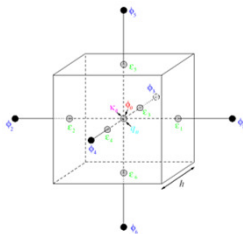
$a=21 \text{ Å}, b=14 \text{ Å}$



The grid to calculate electrical potential around the protein

$$\varphi_0 = \frac{\left( \sum_{i=1}^6 h \varepsilon_i \varphi_i \right) + 4\pi q_0}{\left( \sum_{i=1}^6 h \varepsilon_i \right) + h^3 \kappa_0^2}$$

Separate cell of the grid

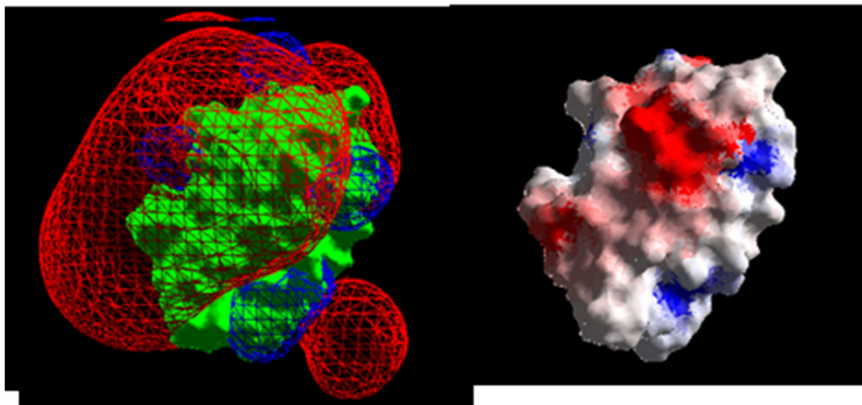


$$\kappa^2 = \frac{8\pi N_A e^2 I}{k_B T} \quad I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^K c_i^{\text{bulk}} Z_i^2$$

$$\nabla \varepsilon \nabla \varphi = -4\pi \rho + \kappa^2 \varphi$$

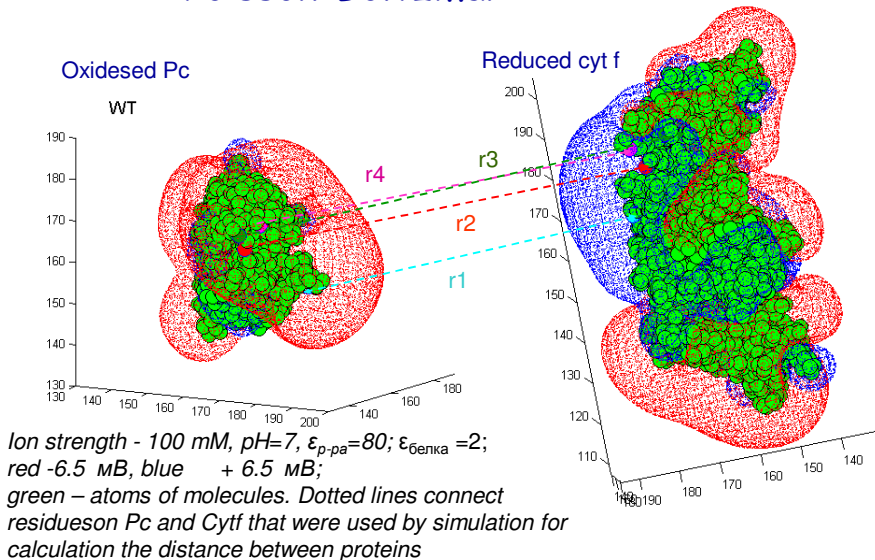


Equipotential surfaces (left) (-10mB, +10mB) and  
surface electrostatic potential (right) of plastocyanin,  
 $pH=7$ ,  $I=100 \text{ M/m}^3$



To calculate interactions at the distance less than 35Å

## Equipotential surfaces calculated according to Poisson-Boltzmann equations

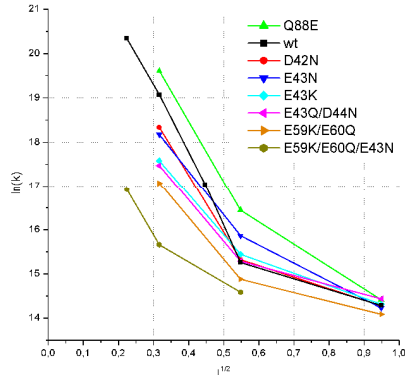
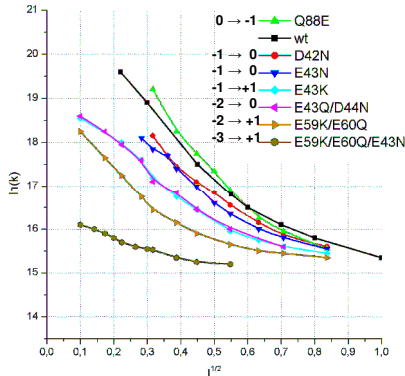


# Reaction between cyt f and different Pc mutants in solution

Dependence of Log k from Ion strength

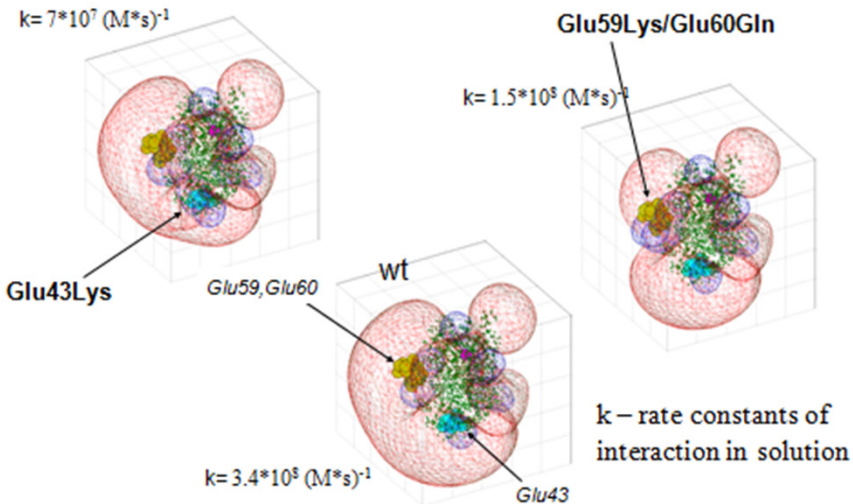
experiment A. Kannt et al.(1996)

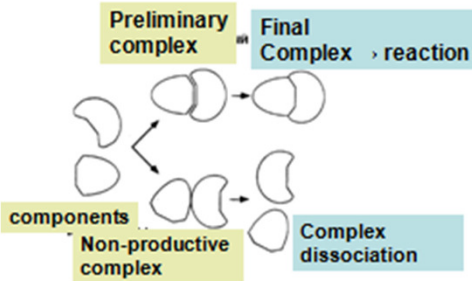
modeling



k - (M·c)<sup>-1</sup>, I - M; pH=7 ; r D42-R209 -18 Å, r E43-K187 -18 Å, r D44-K187 -18 Å, r E60-K58 -25 Å, r Cu-Fe – 40Å; P=0.01; dt=100 ps

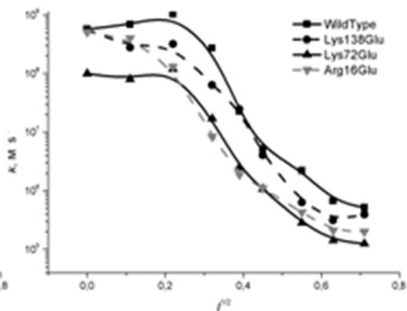
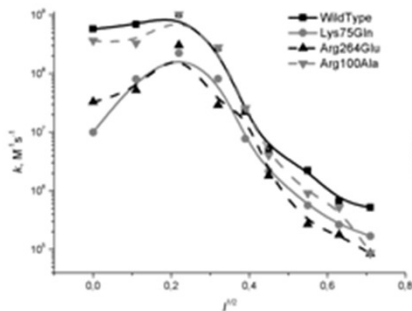
# Equipotential surfaces of Pc and its mutants



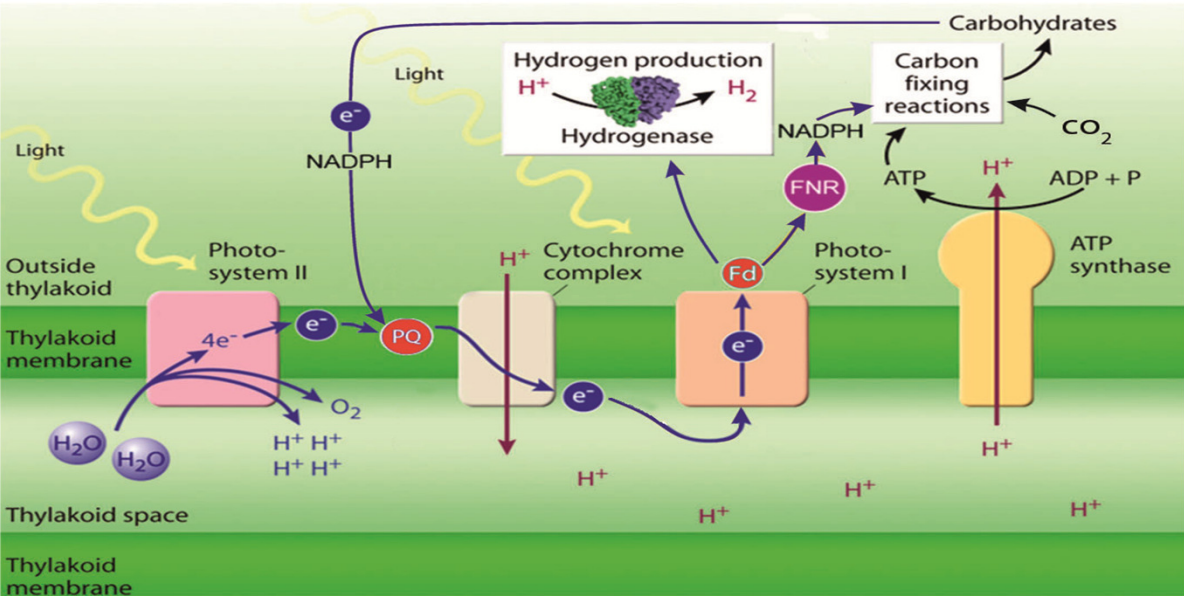


Non-monotonous dependence of the Rate constant of complex interaction on the ion strength

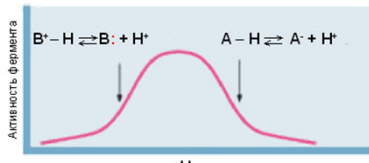
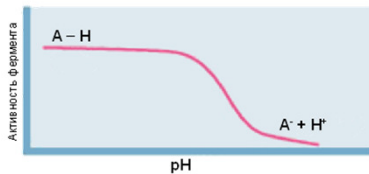
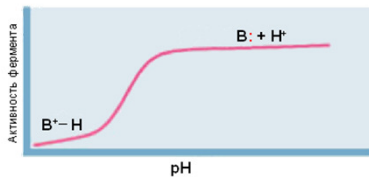
## Fd-FNR interaction



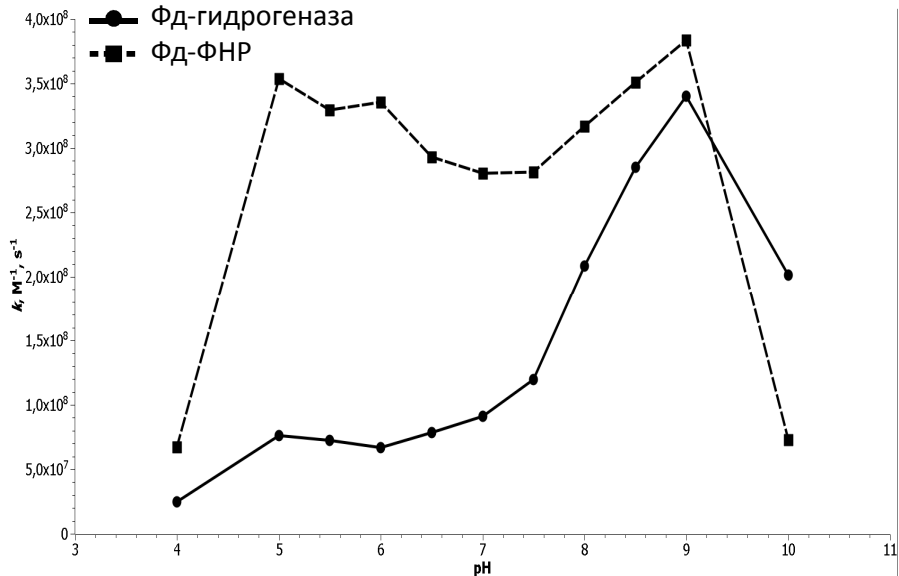
## Пути переноса электрона в условиях стресса'



# Влияние pH на белковые молекулы

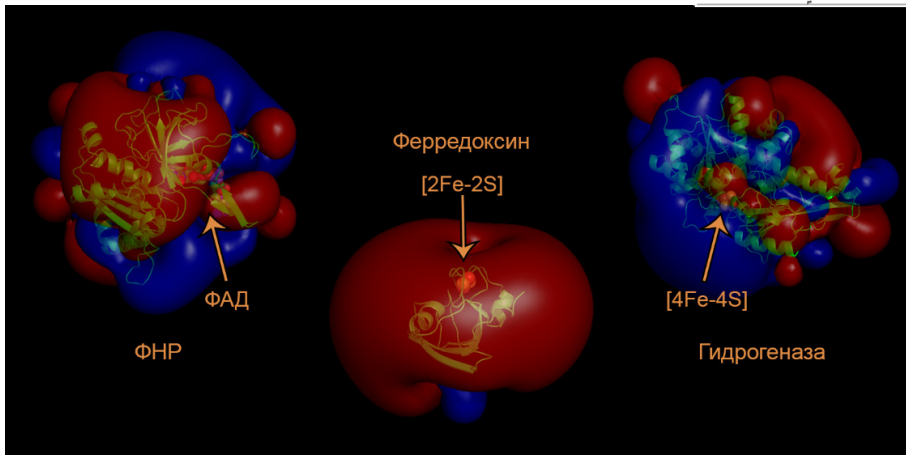
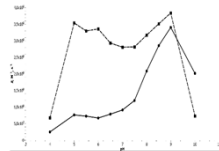


# Зависимость константы скорости образования комплекса Фд-ФНР и Фд-гидрогеназа от рН

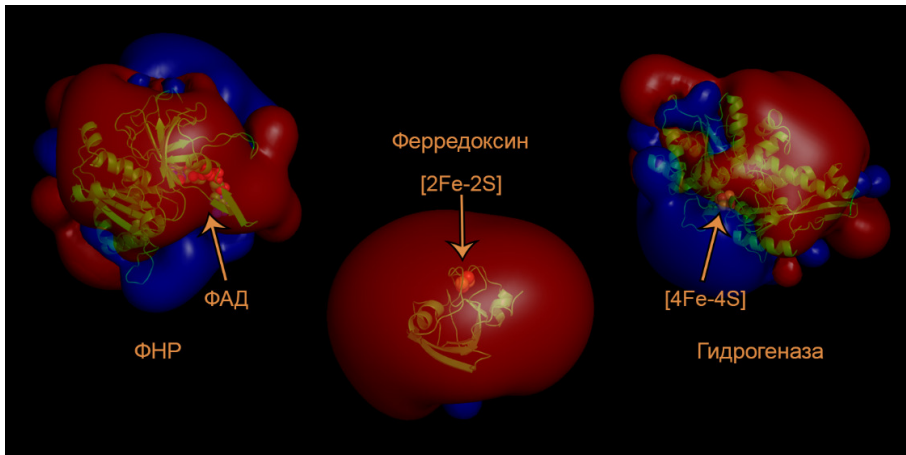
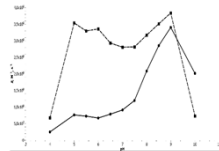




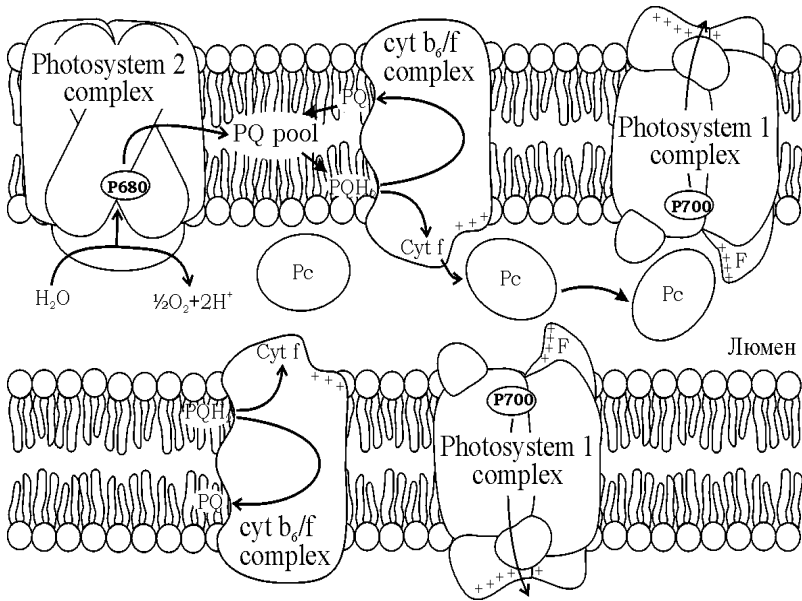
# Эквипотенциальные поверхности Фд, ФНР и гидрогеназы при pH 6



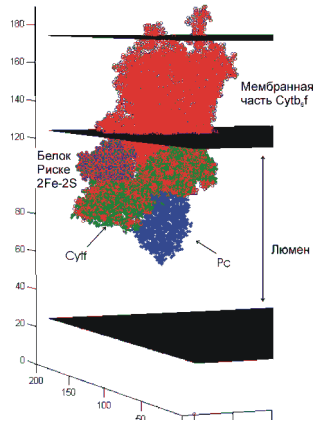
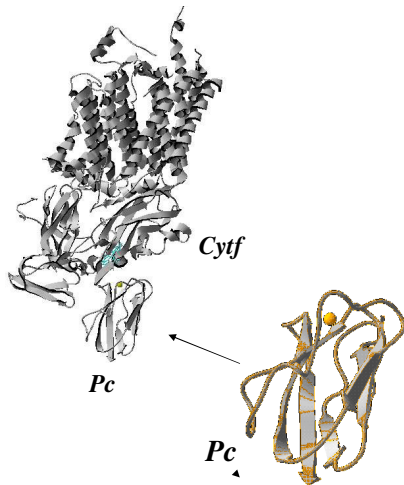
# Эквипотенциальные поверхности Фд, ФНР и гидрогеназы при pH 8



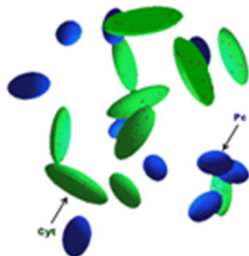
# Моделирование процессов в люмене тилакоида



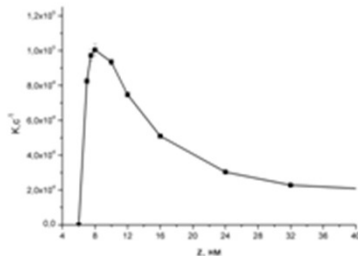
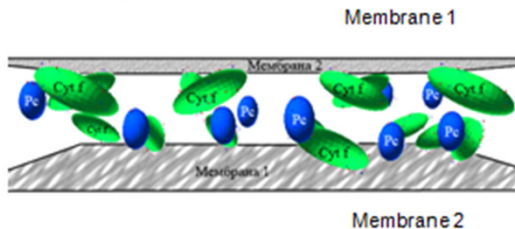
# Взаимодействие между *Pc* и *Cytf*



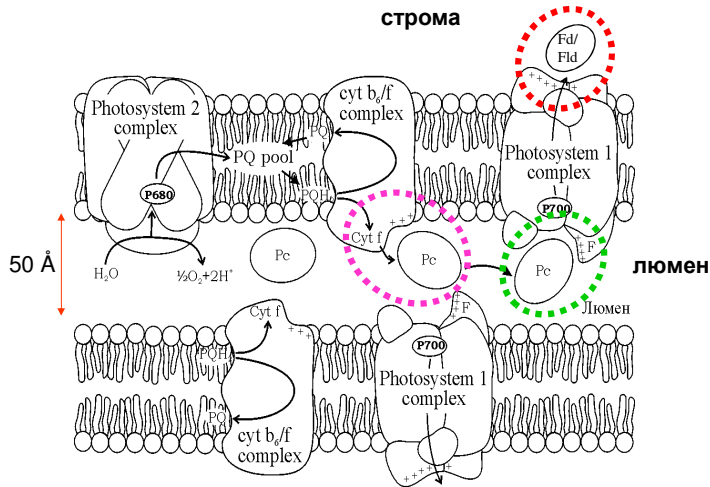
# Simulation of Pc-cyt f interactions in solution and in lumen



Rate constant of the reaction of complex Pc-Cyt *f* formation in thylakoid lumen as a function on the distance  $z$  between the membranes

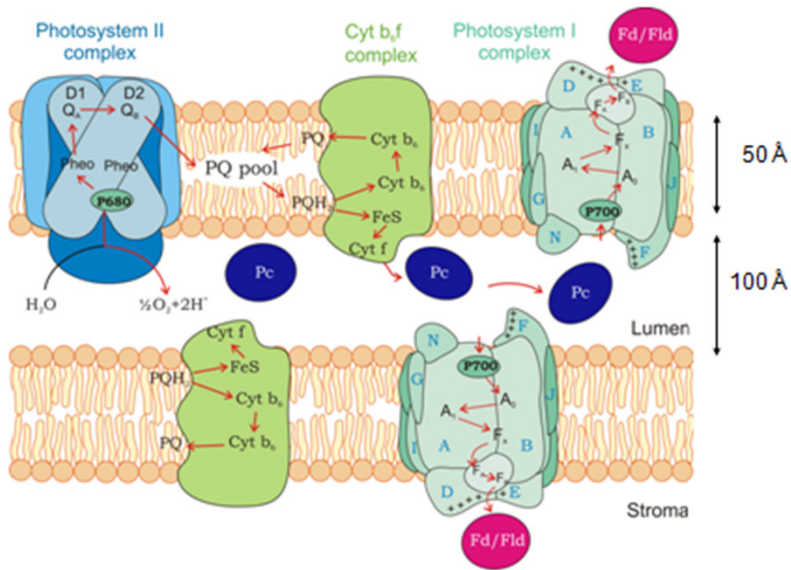


# Фотосинтетический электронный транспорт. Комплексы и подвижные переносчики

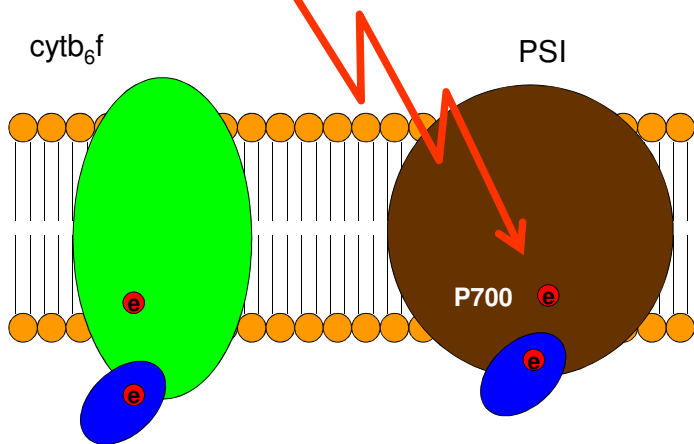


Фрагмент Тилакоида

## PC transfers electrons from cytochrome complex to PSI

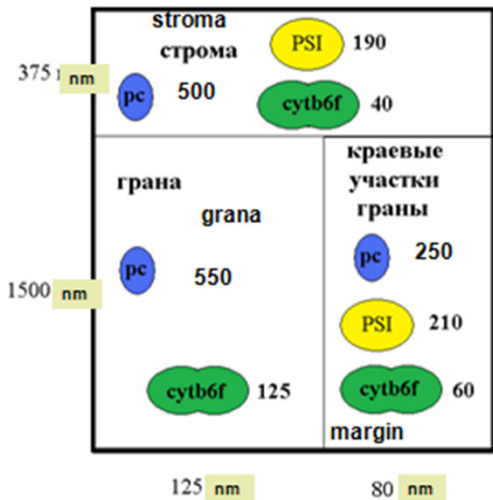


Electron transition by Pc molecule from cytochrome complex to PSI





# Model scene: The number of protein and multienzyme complexes



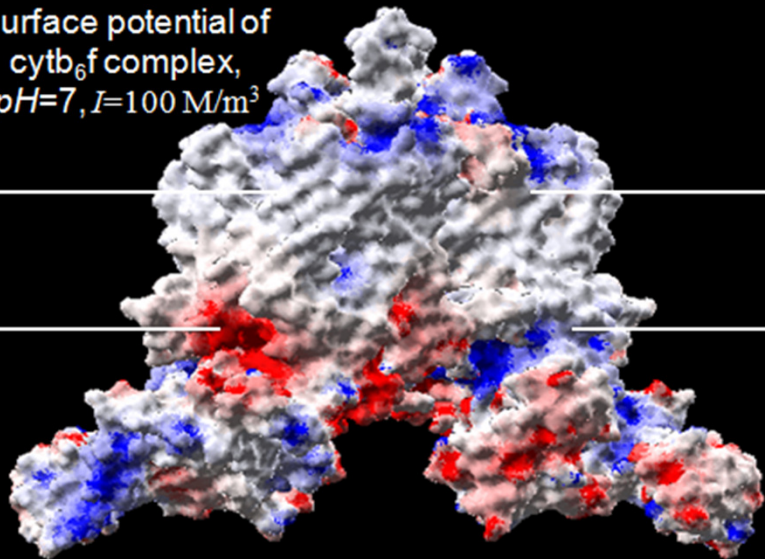
- margin – take about 40% of the grana surface;
- stroma takes 20% of the tylakoid membrane surface

**PSI**– Photosystem

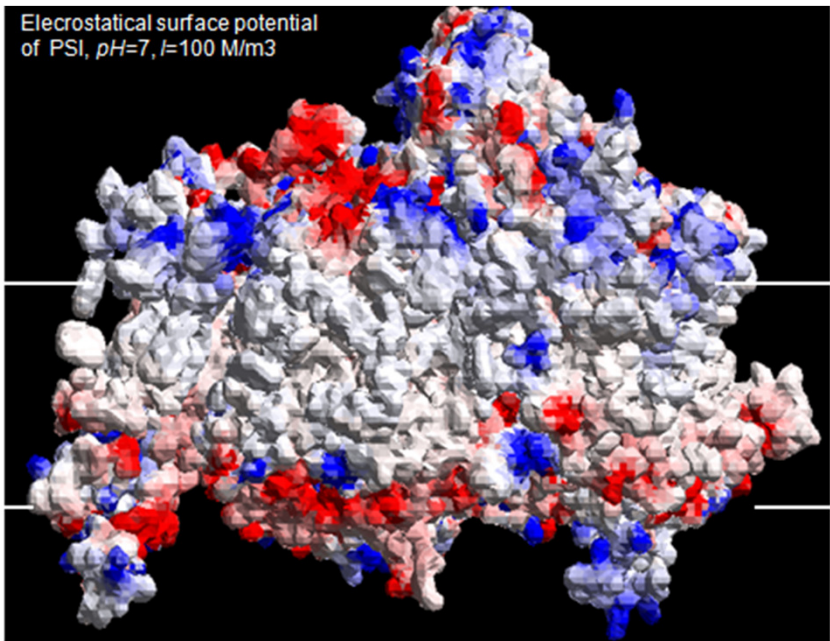
**cytb6f** –cytochrome b6f complex (**dimer**)

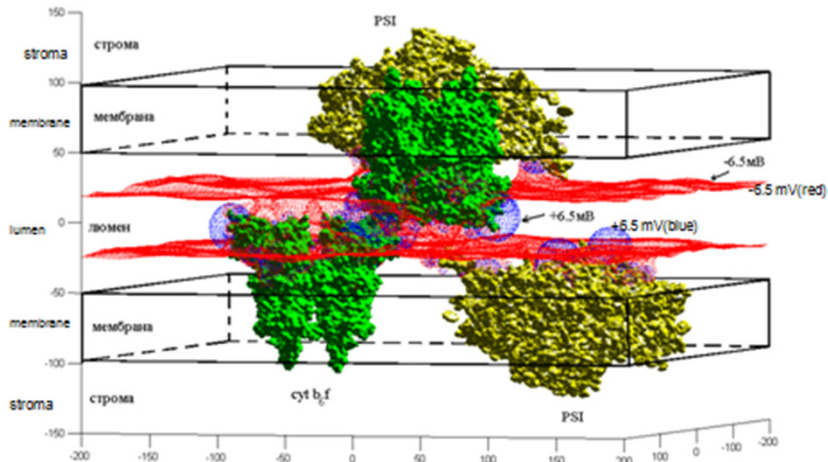
**pc** - plastocyanin

Electrostatical  
surface potential of  
cytb<sub>6</sub>f complex,  
 $pH=7, I=100 \text{ M/m}^3$



Electrostatical surface potential  
of PSI,  $pH=7$ ,  $I=100\text{ M/m}^3$





Equipotential surfaces (6.5 mV) in lumen of  
chloroplast thylakoid,  $pH=7$ ,  $I=100$  mM,  
 $\sigma=-47.5$  mQ/m<sup>2</sup>

# Electrostatic potential calculation

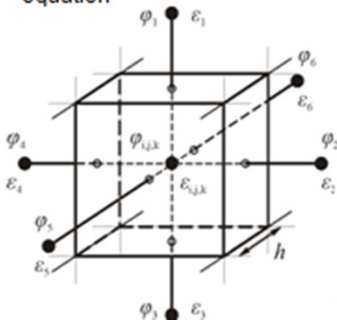
Poisson-Boltzmann equation:

$$\nabla(\epsilon(\vec{r})\nabla\varphi(\vec{r})) = -\frac{1}{\epsilon_0} \sum_i c_i^{bulk} e_0 z_i e^{\frac{-z_i e_0 \varphi(\vec{r})}{kT}} - \frac{1}{\epsilon_0} (\rho_{prot} + \rho_{memb})$$

$\varphi$  - potential,  $\epsilon$  - dielectrical constant,  $\rho_{prot}$  - protein charge density,  $\rho_{memb}$  - membrane charge density,  $e_0$  - electron charge,  $I$  - ion strength of solution,  $z_i$  - charge number,  $c_i^{bulk}$  - volume charge concentration

Linear Poisson-Boltzmann  
equation

$$\nabla(\epsilon(\vec{r})\nabla\varphi(\vec{r})) = -\frac{1}{\epsilon_0} \left( -2Ie_0^2 \frac{\varphi(\vec{r})}{kT} + \rho_{prot} + \rho_{memb} \right)$$

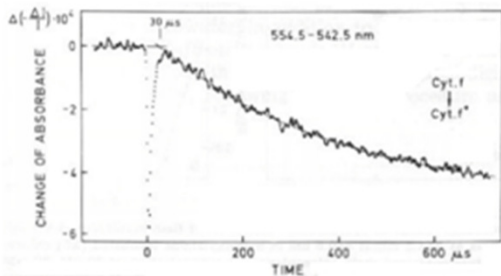


$$\varphi_{i,j,k}^n = \frac{\sum_{m=1}^6 \frac{(\epsilon_m + \epsilon_{i,j,k})}{2} \varphi_m^{n-1} + \frac{1}{\epsilon_0 h} (q^{prot+memb}_{i,j,k})}{\sum_{m=1}^6 \frac{(\epsilon_m + \epsilon_{i,j,k})}{2} + \kappa h^2}$$

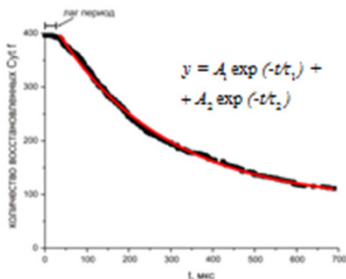
$$\kappa = \frac{2Ie_0^2}{\epsilon_0 kT}, h \quad \text{- space step of calculation}$$

G. M. Ullmann (2004)

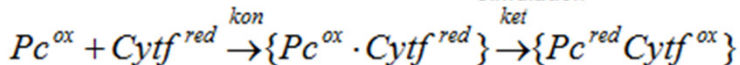
# Cytochrome f oxidation after the shot light pulse



$\tau_1 \sim 101-190$  mks,  $\tau_2 \sim 635-1240$  mks,  
Lag-period 30-50 mks (Haehnel 1980)



$\tau_1 \sim 241$  mks,  $\tau_2 \sim 1030$  mks,  
Lag-period 25-30 mks  
simulation



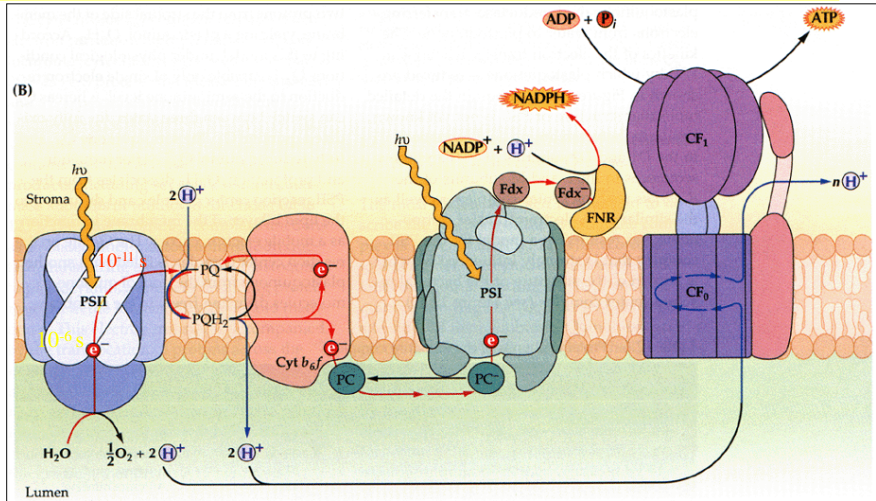
$$k_{et} = 26 \cdot 10^3 [1/c] \text{ (Hope 2000)}$$

Kovalenko, Knyazeva et al.

# Мезоскопический подход

- Описание процессов внутри комплексов с помощью уравнений для вероятностей состояний
- Многочастичная Броуновская Динамика для подвижных переносчиков
- Уравнения в частных производных для распространения электрохимического потенциала в люмене.

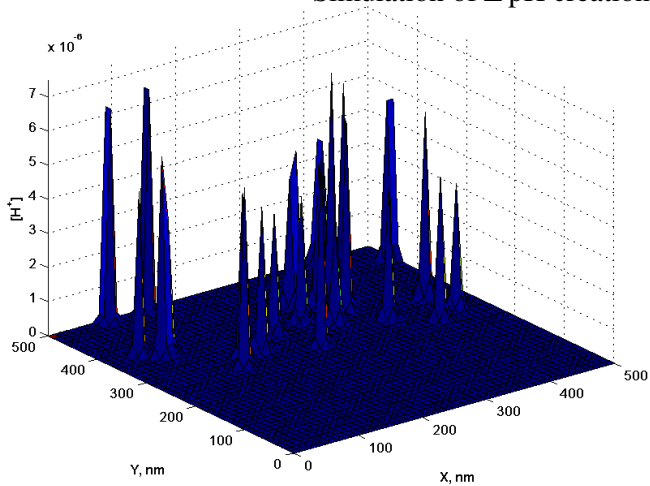
# Фотосинтетическая мембрана зеленых растений и водорослей



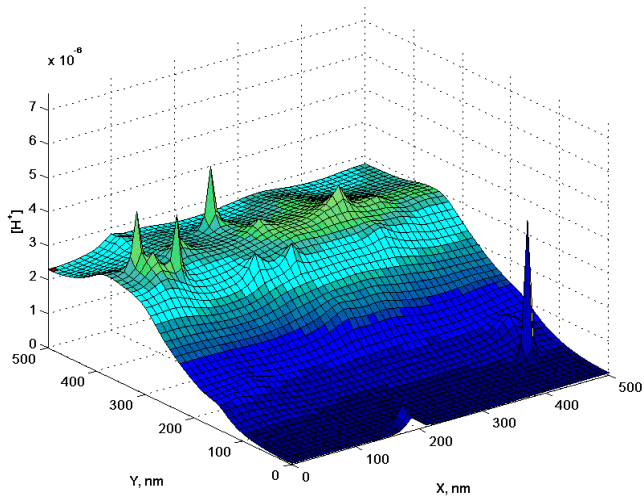


Initial profile of proton concentration on membrane surface

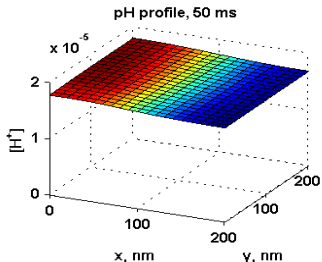
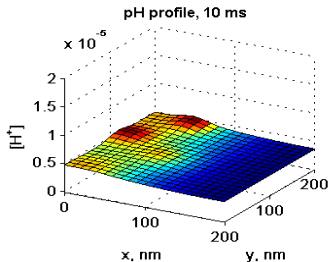
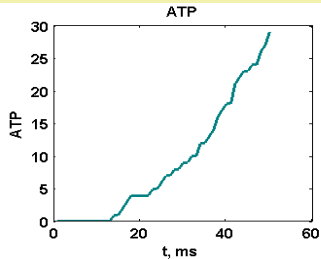
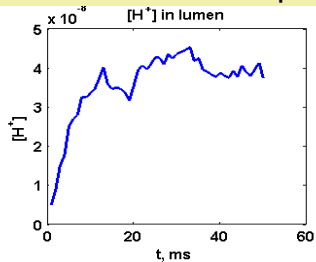
Simulation of  $\Delta \text{pH}$  creation

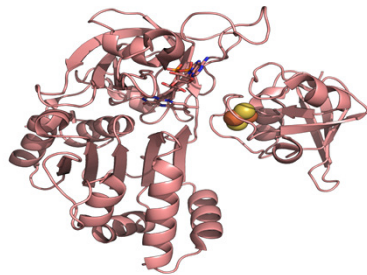
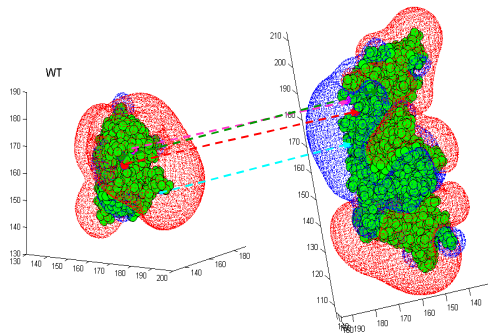


# Proton concentration in lumen



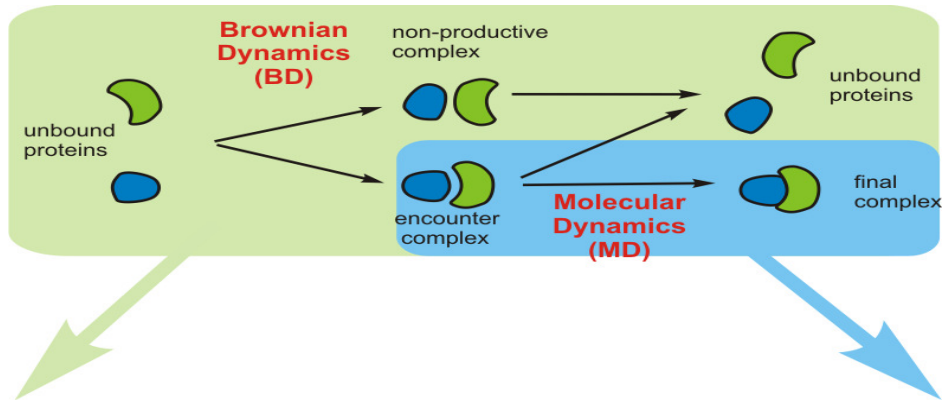
# Proton concentration in lumen, ATP-formation, and pH profile





Гибридная модель Броуновская +  
молекулярная динамика

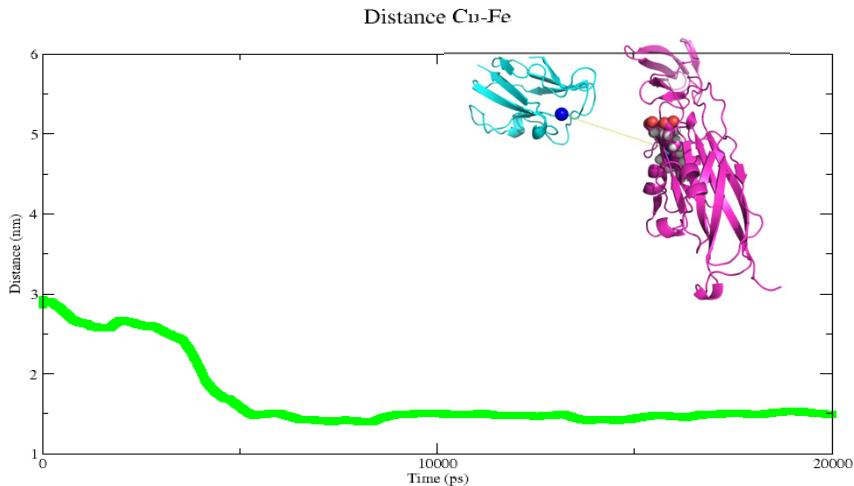
# Protein-protein complex formation



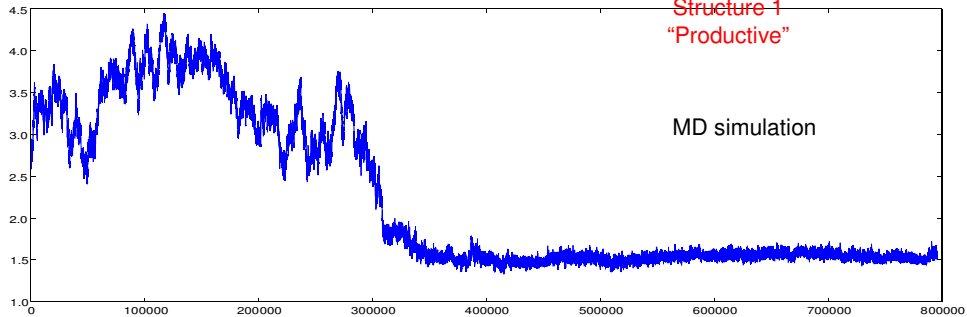
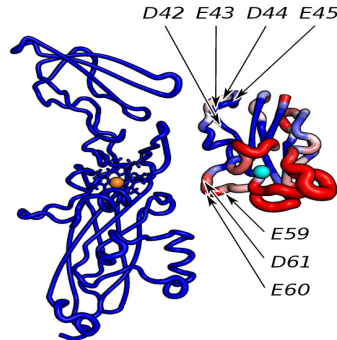
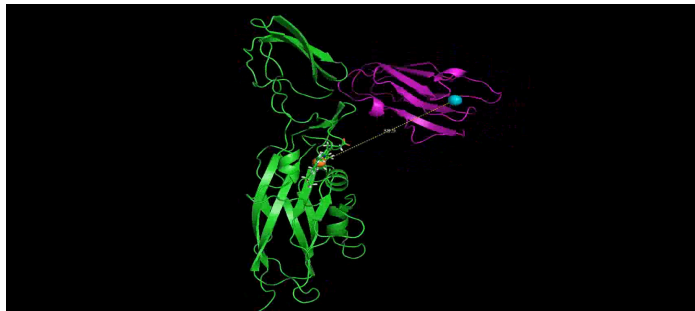
Encounter complex simulation by  
Brownian Dynamics

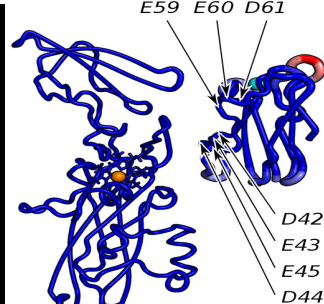
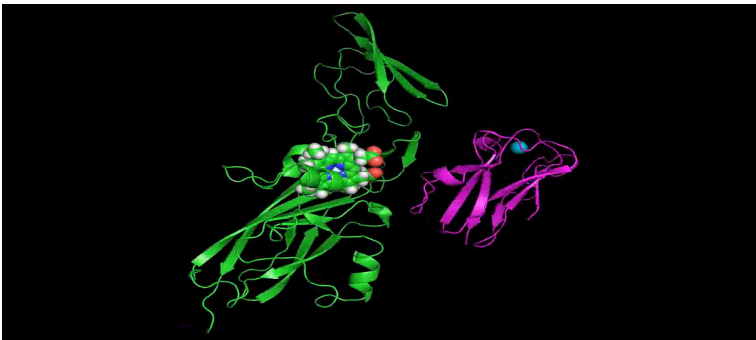
Final complex simulation by  
Molecular Dynamics

# Образование комплекса пластоцианина и цитохрома f



Зависимость расстояния (nm) между Cu в молекуле Рс и Fe Cyt f от времени

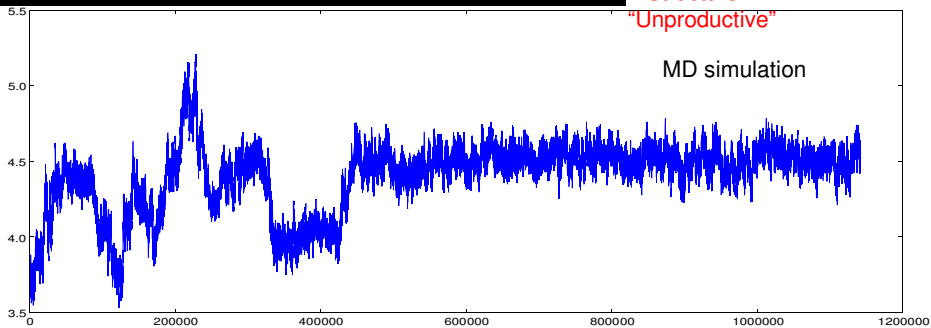




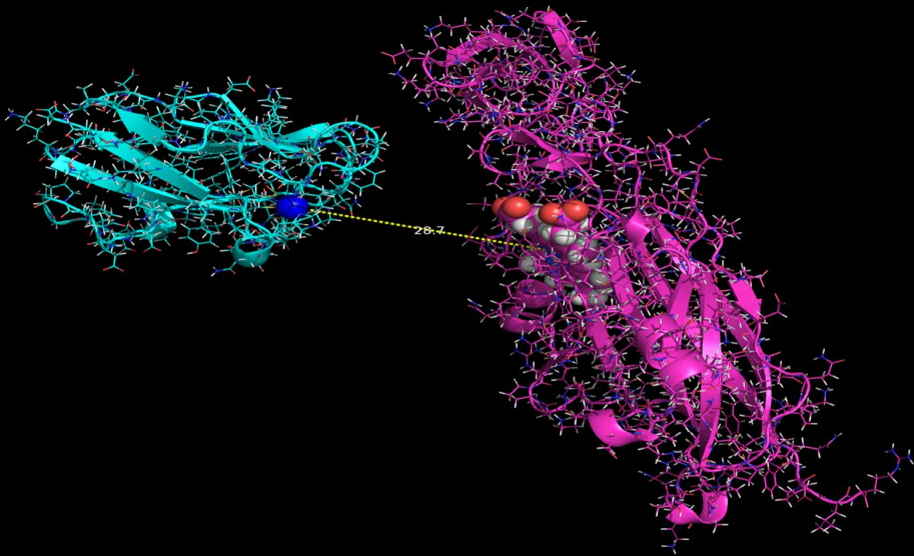
Structure 2

"Unproductive"

MD simulation







# Supercomputer «Lomonosov» Moscow State University



# Общая схема процессов

