

МЕХАНИЗМ ИНГИБИРОВАНИЯ КИСЛОРОД-ВЫДЕЛЯЮЩЕГО КОМПЛЕКСА ФОТОСИСТЕМЫ II КАТИОНАМИ ЛАНТАНОИДОВ

© 2023 г. Е.Р. Ловягина*, #, А.В. Локтюшкин*, Н.С. Васильев*, Б.К. Сёмин*

*Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/12, Москва, 119234, Россия

#E-mail: elena.lovayagina@gmail.com

Поступила в редакцию 15.02.2023 г.

После доработки 27.03.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Исследован процесс взаимодействия катионов La^{3+} и Tb^{3+} с Са-связывающим участком кислород-выделяющего комплекса фотосистемы II без кальция. Катионы связываются необратимо и не могут быть удалены переосаждением препарата или замещением их катионом Ca^{2+} . Эта способность лантаноидов прочно связываться с Са-связывающим участком была использована для исследования возможности влияния связанного катиона Ln^{3+} на высокоаффинный Мп-связывающий участок кислород-выделяющего комплекса. С этой целью из кислород-выделяющего комплекса препарата фотосистемы II без кальция с заблокированным катионами La^{3+} или Tb^{3+} Са-связывающим участком гидрохиноном экстрагировали катионы марганца, после чего исследовали активность высокоаффинного Мп-связывающего участка, используя экзогенные доноры электронов ($\text{Mn}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$) и 1,5-дифенилкарбазид. Было установлено, что связанный с Са-связывающим участком катион лантаноида значительно ингибирует скорость окисления доноров электронов через высокоаффинный Мп-связывающий участок. Обсуждается механизм обнаруженного эффекта.

Ключевые слова: фотосистема II, кислород-выделяющий комплекс, высокоаффинный Мп-связывающий участок, кальций, лантаноиды.

DOI: 10.31857/S0006302923040038, EDN: KJDNJM

Каталитический центр комплекса, выделяющего молекулярный кислород в процессе окисления двух молекул воды (кислород-выделяющий комплекс, КВК) в окисленных фотосинтетических организмах состоит из четырех катионов Мп и одного катиона Ca^{2+} , соединенных между собой пятью кислородными мостиками [1, 2]. Этот металлический кластер фиксирует четыре молекулы воды, две из которых связаны с катионом Мп4, а две другие — с катионом Ca^{2+} . Возможно, одна из молекул воды, связанных с катионом Ca^{2+} , является молекулой, участвующей в образовании молекулярного кислорода [3, 4], хотя роль Ca^{2+} в процессе окисления воды может быть и другой [5–7].

Сокращения: КВК — кислород-выделяющий комплекс, ФСII — фотосистема II, ФСII(-Са) — фотосистема II без катиона кальция в кислород-выделяющем комплексе, Ln^{3+} — катион лантаноида, Хл — хлорофилл, РЦ — реакционный центр, ДХФИФ — 2,6-дихлорофенолиндофенол, ДФК — 1,5-дифенилкарбазид, ФСII(-Са,+Ln) — фотосистема II без катиона кальция в кислород-выделяющем комплексе с заблокированным катионом лантаноида Са-связывающим участком.

Катион Ca^{2+} может быть экстрагирован из КВК путем обработки мембран фотосистемы II (ФСII) средой с высокой ионной силой (1–2 М NaCl) [8] или цитратным буфером с низким pH [9], что сопровождается потерей способности ФСII к выделению молекулярного кислорода. Кислород-выделяющая активность препаратов ФСII без катиона Ca^{2+} в КВК (ФСII(-Са)) может быть в значительной степени восстановлена добавлением экзогенного Ca^{2+} в концентрации 10–30 мМ (до ~70%) [10]. С Са-связывающим участком КВК способны связываться и другие катионы металлов, однако восстановления кислород-выделяющей активности при этом не происходит [11]. Показано, что единственным ионом металла, который может функционально заместить Ca^{2+} , является Sr^{2+} [12]. Некоторые катионы металлов, включая лантаноиды [13, 14] и Cd^{2+} [15], конкурируют с Ca^{2+} за взаимодействие с Са-связывающим участком. Лантаноиды (Ln^{3+}) способны вытеснять катион Ca^{2+} из нативного КВК и связываться с освободившимся Са-связываю-

щим участком в мембранных препаратах ФСII [13], а также со свободным Са-связывающим участком в препаратах ФСII без кальция [14]. Связанные катионы Ln^{3+} не вытесняются катионом Ca^{2+} [13]. Несмотря на то, что лантаноиды эффективно конкурируют с катионами Ca^{2+} за Са-связывающие участки [16], они не способны восстановить процесс окисления воды марганцевым кластером. Это может быть связано с различиями в характеристиках катионов Ca^{2+} и Ln^{3+} (ионный радиус, рК связанной молекулы воды, валентность), но могут быть и другие причины. В этой связи важно отметить, что катионы Ln^{3+} способны эффективно связываться не только с Са-связывающим участком, но и с высокоаффинным Мп-связывающим участком в препаратах ФСII без марганца [17]. В данной работе мы исследовали возможные варианты механизма ингибирования лантаноидами КВК в препаратах ФСII(-Са).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Препараты ФСII. Фрагменты фотосинтетических мембран, обогащенные ФСII (BBY-тип), выделяли из листьев шпината *Spinacia oleracea* L. согласно методике, опубликованной в работе [18]. Скорость выделения кислорода полученными мембранными препаратами ФСII составляла 450–550 мкмоль O_2 мг Хл $^{-1}$ ч $^{-1}$. Концентрацию хлорофилла (Хл) определяли в 80%-м растворе ацетоне согласно методу, описанному в работе [19]. Препараты хранили при -80°C в буфере А следующего состава: 400 мМ сахарозы, 15 мМ NaCl, 50 мМ MES/NaOH (2-(*N*-морфолино)этансульфоновая кислота), pH 6.5. Перед обработкой или измерением препараты размораживали в темноте при 5°C в течение 1 ч, далее они находились при тех же условиях. Активность контрольных препаратов ФСII в течение времени проведения экспериментов сохранялась постоянной. Концентрация реакционных центров (РЦ) ФСII рассчитана в мкМ из соотношения 250 молекул Хл на один РЦ [20, 21].

Удаление Ca^{2+} из кислород-выделяющего комплекса мембранных препаратов ФСII. Мембраны ФСII обрабатывали буфером, содержащим 2 М NaCl, 0.4 М сахарозы и 25 мМ MES/NaOH, pH 6.5 [8], в течение 15 мин при комнатной температуре и освещении 4 мкЭ·м $^{-2}$ ·с $^{-1}$. После инкубации мембраны осаждали и дважды отмывали буфером А. Полученные препараты ФСII(-Са) помимо катионов кальция не содержали двух периферических белков PsbQ и PsbP, защищающих КВК от проникновения экзогенных веществ.

Удаление Мп из кислород-выделяющего комплекса мембранных препаратов ФСII(-Са). Мембраны ФСII(-Са) (50 мкг Хл/мл) инкубировали с гидрохиноном (600 мкМ) в буфере А (pH 6.5) в темноте при 5°C в течение 30 мин. Затем к суспензии мембран добавляли 25 мМ CaCl_2 для удаления поверхностно связанных катионов Mn^{2+} , после инкубации в течение 2 мин мембраны осаждали и дважды отмывали буфером А. После обработки гидрохиноном в КВК полученных препаратов сохранялось 1.0 ± 0.1 Мп на один РЦ [23].

Измерение скорости выделения кислорода препаратами ФСII. Кинетику фотоиндуцированного выделения кислорода препаратами ФСII регистрировали амперометрически с помощью закрытого электрода Кларка в термостатируемой ячейке с интенсивным перемешиванием при 25°C . В качестве искусственного акцептора электронов использовали 2,6-дихлоро-*n*-бензохинон (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 200 мкМ. Для калибровки величины диффузионного тока использовали значение концентрации кислорода в воде в равновесии с воздухом при 25°C , равное 253 мкМ. Источником возбуждающего света служили светодиоды XBDROY (Cree Inc., США) с максимумом при длине волны 450 нм, обеспечивающие насыщающую интенсивность света (1800 мкЭ·м $^{-2}$ ·с $^{-1}$).

Спектральное определение фотохимической активности препаратов ФСII. Фотохимическую активность препаратов ФСII измеряли как скорость фотовосстановления экзогенного акцептора электронов 2,6-дихлорофенолиндофенола (ДХФИФ) на спектрофотометре Specord UV-VIS (Carl Zeiss Jena, Германия) в кювете с длиной оптического пути 1 см. В качестве возбуждающего источника света использовали светодиоды XBDROY (Cree Inc., США). Перед трубкой фотоумножителя спектрофотометра устанавливали оранжевый стеклянный фильтр ОС-14, пропускающий свет с $\lambda > 590$ нм, для отсекающего возбуждающего света. Фотоиндуцированные изменения оптической плотности ДХФИФ регистрировали на длине волны 600 нм (максимум поглощения депротонированной формы ДХФИФ). Скорость восстановления ДХФИФ определяли, используя молярный коэффициент экстинкции $\epsilon = 21.8 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Са-связывающий участок КВК оксигенных организмов имеет два аминокислотных остатка D1-Asp170 и D1-Ala344, связывающих катион кальция с белком D1 реакционного центра ФСII и, одновременно, с катионами марганца Mn^{4+} и Mn^{2+} марганцевого кластера, т. е. карбоксильные группы аминокислотных остатков Asp170 и

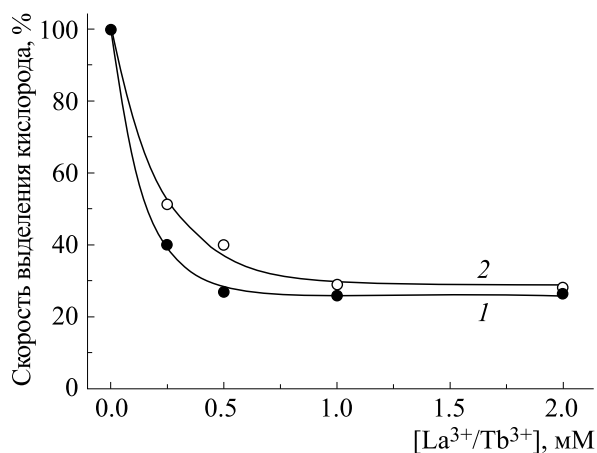


Рис. 1. Зависимость скорости выделения кислорода препаратами ФСII(-Ca) от концентрации катионов $\text{La}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ во время преинкубации. Мембраны ФСII(-Ca) (50 мкг Хл/мл) инкубировали в присутствии катионов La^{3+} (кривая 1) или Tb^{3+} (кривая 2) в течение 3 мин в темноте при комнатной температуре, после чего осаждали центрифугированием и ресуспендировали в буфере А (10 мкг Хл/мл). Скорость выделения кислорода измеряли в присутствии 10 мМ CaCl_2 .

Ala344 являются бидентантными лигандами. Соединение катиона кальция с катионами марганца дополнительно осуществляется и через взаимодействие с кислородными мостиками O1, O2 и O5 [2]. С катионом Ca^{2+} также связаны две молекулы воды — W3 и W4. Эти данные позволяют полагать, что связывание катиона лантаноида с Ca-связывающим участком КВК может затрагивать в первую очередь катионы Mn4 и Mn2 марганцевого кластера через бидентантные лиганды. Один из этих катионов, Mn4, связан с высокоаффинным Mn-связывающим участком [1, 24, 25]. Функциональную активность этого участка довольно легко проверить. Если этот участок не занят катионом металла — Mn или Fe [26], то через него интенсивно фотоокисляются экзогенные катионы марганца донорной системы $[\text{Mn}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2]$ [27–29] тирозином $\text{Y}_Z^\bullet$ [30]. Учитывая изложенное выше, мы планировали проверить активность высокоаффинного Mn-связывающего участка в препаратах ФСII(-Ca) после замещения катиона Ca^{2+} катионом Ln^{3+} и последующей экстракции из этих препаратов катионов марганца.

В предварительном эксперименте мы исследовали возможность удаления связанного с Ca-связывающим участком катиона Ln^{3+} посредством центрифугирования суспензии мембран и их отмывки буфером А. Известно, что катионы кальция не могут вытеснять связанный катион лантаноида в мембранах ФСII [13] или ФСII(-Ca) [14], что свидетельствует о прочном связывании

катионов Ln^{3+} . Связанные с Ca-связывающим участком в мембранах ФСII(-Ca) катионы La^{3+} и Tb^{3+} также не удаляются процедурой переосаждения с последующей отмывкой (рис. 1). Это позволяет провести экстракцию марганца из препарата ФСII(-Ca) с заблокированным катионом лантаноида Ca-связывающим участком без потери Ln^{3+} .

Наиболее часто для удаления катионов марганца из КВК используется обработка щелочным Трис-буфером или раствором гидроксилamina, что позволяет практически полностью удалить марганец (остаточное содержание ≤ 0.5 Мн/РЦ [31]). В нашей работе мы использовали другой восстановитель для экстракции — гидрохинон. Гидрохинон восстанавливает только три катиона марганца из четырех, соответственно, в КВК остается один катион марганца [23]. Мы использовали этот восстановитель, чтобы определить, связан ли остающийся катион марганца с высокоаффинным Mn-связывающим участком. Следует отметить, что частичная экстракция катионов марганца из КВК (например двух катионов из четырех) сопровождается практически полной инактивацией выделения кислорода (остаточная активность около 10% [32]), но незначительным уменьшением скорости электронного транспорта (скорость восстановления ДХФИФ уменьшается лишь до 83% [23]), что свидетельствует о незначительном ингибировании реакции окисления воды. В случае экстракции марганца гидрохиноном остается только один Mn на РЦ, скорость выделения кислорода уменьшается до 8%, тогда как скорость восстановления ДХФИФ уменьшается лишь до 41% (рис. 2).

Далее мы исследовали влияние связанных с Ca-связывающим участком катионов La^{3+} (рис. 3) и Tb^{3+} (рис. 4) на скорость восстановления ДХФИФ в частицах ФСII(-Ca) после обработки их гидрохиноном. В качестве источника электронов использовали донорную пару $[\text{Mn}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2]$ или 1,5-дифенилкарбазид (ДФК). На рис. 3 и 4 показаны кинетики восстановления ДХФИФ, а в таблице представлены величины измеренных скоростей. Кинетики восстановления ДХФИФ в препаратах ФСII(-Ca), обработанных гидрохиноном (остаточное содержание марганца — один Mn/РЦ), представлены кривыми 1 на рис. 3 и 4. При измерении кинетик 2 были использованы препараты, приготовленные следующим образом: мембраны ФСII(-Ca) были проинкубированы 20 мин с 1 мМ La^{3+} (рис. 3) или Tb^{3+} (рис. 4), после чего мембраны были осажены центрифугированием и отмывы буфером А (ФСII(-Ca, +Ln)). Затем марганец был экстрагирован из КВК гидрохиноном. В случае донорной

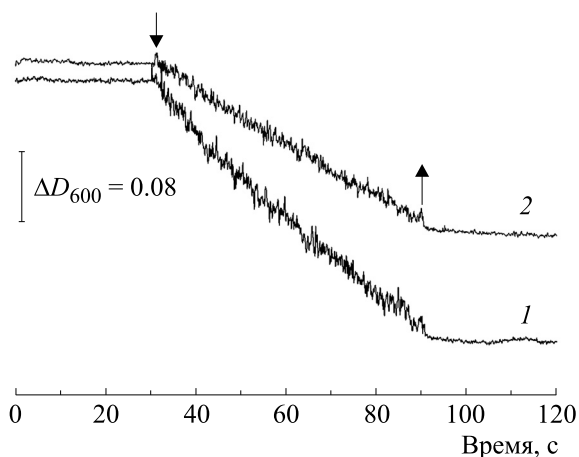


Рис. 2. Кинетики восстановления ДХФИФ мембранными препаратами ФСII(-Ca). Кривая 1 — препараты ФСII(-Ca); кривая 2 — препараты ФСII(-Ca), обработанные гидрохиноном. Все кинетики измерены при концентрации Хл 10 мкг/мл и концентрации ДХФИФ 40 мкМ без искусственного донора электронов. Скорость восстановления ДХФИФ нативными препаратами ФСII составляла 145 ± 5 мкмоль ДХФИФ мг Хл⁻¹·ч⁻¹ (100%), препаратами ФСII(-Ca) 100 ± 5 мкмоль ДХФИФ мг Хл⁻¹·ч⁻¹ (69%), препаратами ФСII(-Ca), обработанными гидрохиноном, 59 ± 7 мкмоль ДХФИФ мг Хл⁻¹·ч⁻¹ (41%).

пары $[\text{Mn}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2]$, донирующей электроны только через высокоаффинный Мп-связывающий участок, видно, что скорость восстановления ДХФИФ уменьшается до 76% при блокировании Са-участка катионом лантана (рис. 3а) и значительно больше уменьшается в случае катиона тербия (41%, рис. 4а). Этот факт ясно показывает, что связанные с Са-участком катионы La^{3+} и Tb^{3+} ингибируют высокоаффинный Мп-связывающий участок. В случае ДФК, другого донора электронов, ингибирование восстановления ДХФИФ выражено значительно слабее — остаточная активность $\approx 84\%$ для обоих катионов (рис. 3б и 4б). Это объясняется тем, что ДФК донирует электроны через два участка — высокоаффинный и низкоаффинный [33], что снижает долю потока электронов через высокоаффинный участок. Этот факт также свидетельствует о том, что в препаратах ФСII(-Ca), обработанных гидрохиноном, сохраняющийся катион марганца не связан с высокоаффинным участком. Полученные результаты демонстрируют, что связанные с Са-участком катионы лантаноидов ингибируют высокоаффинный Мп-связывающий участок, но не полностью. Это подтверждается тем, что добавление катионов La^{3+} или Tb^{3+} к препаратам ФСII(-Ca, +Ln), обработанным гидрохиноном,

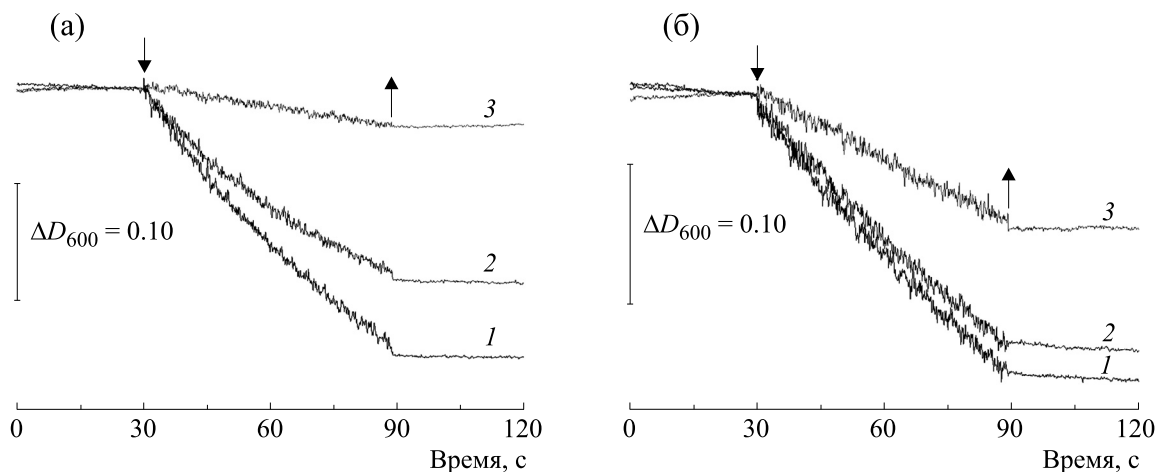


Рис. 3. Влияние La^{3+} на восстановление ДХФИФ в препаратах ФСII(-Ca), обработанных гидрохиноном: кривые 1 — препараты ФСII(-Ca), обработанные гидрохиноном (условия обработки приведены в разделе «Материалы и методы»); кривые 2 — препараты ФСII(-Ca) (250 мкг Хл/мл) инкубировали с 1 мМ La^{3+} в течение 20 мин при комнатной температуре в темноте, затем центрифугировали в режиме $16100 \text{ g} \times 5 \text{ мин}$ и ресуспендировали в буфере А, после чего обрабатывали гидрохиноном; кривые 3 — препараты ФСII(-Ca) (250 мкг Хл/мл) инкубировали с 1 мМ La^{3+} в течение 20 мин при комнатной температуре в темноте, затем центрифугировали в режиме $16100 \text{ g} \times 5 \text{ мин}$ и ресуспендировали в буфере А, после чего обрабатывали гидрохиноном и измеряли скорость восстановления ДХФИФ в присутствии 1 мМ La^{3+} . Все кинетики были измерены при концентрации хлорофилла 10 мкг/мл и концентрации ДХФИФ 40 мкМ в присутствии донорной пары $[2 \text{ мкМ } \text{Mn}^{2+} + 3 \text{ мМ } \text{H}_2\text{O}_2]$ (а) или 200 мкМ 1,5-дифенилкарбазида (б). Стрелки показывают моменты включения и выключения света. Скорость восстановления ДХФИФ препаратами ФСII(-Ca), обработанными гидрохиноном, в присутствии донорной пары $[\text{Mn}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2]$ составляла 88 ± 7 мкмоль ДХФИФ мг Хл⁻¹·ч⁻¹ (61% скорости восстановления ДХФИФ нативными препаратами ФСII), в присутствии ДФК 63 ± 6 мкмоль ДХФИФ мг Хл⁻¹·ч⁻¹ (43% скорости восстановления ДХФИФ нативными препаратами ФСII).

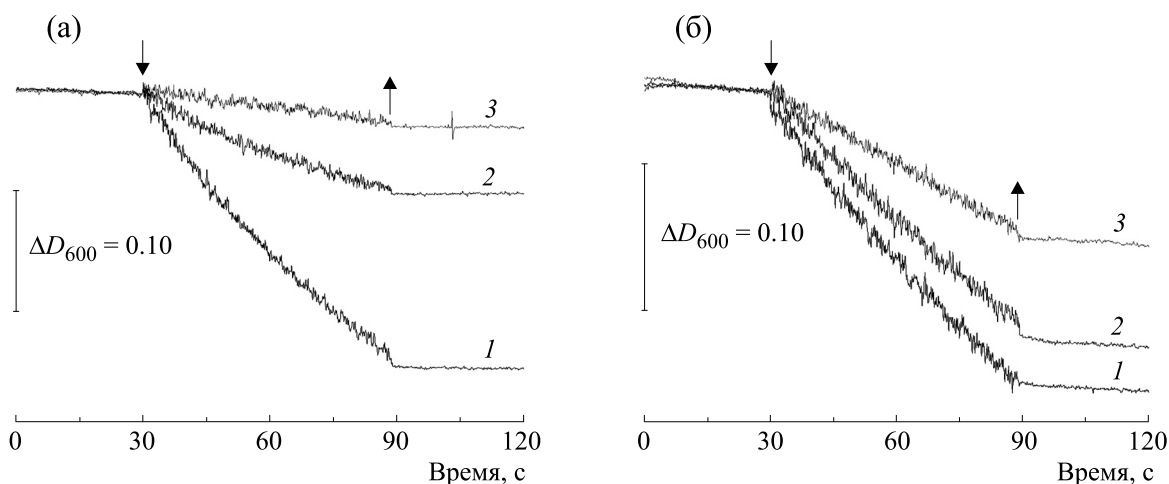


Рис. 4. Влияние Tb^{3+} на восстановление ДХФИФ в препаратах ФСII(-Ca), обработанных гидрохиноном: кривые 1 – препараты ФСII(-Ca), обработанные гидрохиноном; кривые 2 – препараты ФСII(-Ca) (250 мкг Хл/мл) инкубировали с 1 мМ Tb^{3+} в течение 20 мин при комнатной температуре в темноте, затем центрифугировали при 16100 g в течение 5 мин и ресуспендировали в буфере А, после чего обрабатывали гидрохиноном; кривые 3 – препараты ФСII(-Ca) (250 мкг Хл/мл) инкубировали с 1 мМ Tb^{3+} в течение 20 мин при комнатной температуре в темноте, затем центрифугировали 16100g x 5 мин и ресуспендировали в буфере А, после чего обрабатывали гидрохиноном и измеряли скорость восстановления ДХФИФ в присутствии 1 мМ Tb^{3+} . Все кинетики были измерены при концентрации хлорофилла 10 мкг/мл и концентрации ДХФИФ 40 мкМ в присутствии донорной пары [2 мкМ Mn^{2+} + 3 мМ H_2O_2] (а) или 200 мкМ 1,5-дифенилкарбазида (б).

сопровождается дальнейшим ингибированием реакции окисления доноров электронов через высокоаффинный Mn-связывающий участок (кинетики 3 на рис. 3 и 4).

Следует отметить, что помимо отрицательно заряженных аминокислотных остатков в КВК ФСII, способных связывать катионы лантаноидов,

мембраны тилакоидов содержит и другие неспецифические центры связывания, например, отрицательно заряженные липиды, такие как фосфатидилглицерол и сульфохинон-диглицерол. Эти липиды присутствуют и в мембранных препаратах ФСII, однако их содержание невелико (четыре молекулы/РЦ) [34]. Сульфохи-

Таблица 1. Влияние катионов La^{3+} and Tb^{3+} на скорость восстановления ДХФИФ в мембранах ФСII(-Ca) перед и после экстракции Mn из КВК гидрохиноном

Препарат	Скорость восстановления ДХФИФ, %	
	Донор [Mn^{2+} + H_2O_2], %	Донор ДФК, %
ФСII(-Ca) → + гидрохинон → + донор	100a	100б
ФСII(-Ca) + 1мМ La^{3+} → центрифугирование → + гидрохинон → + донор	76.5	83.8
ФСII(-Ca) + 1 мМ La^{3+} → центрифугирование → + гидрохинон → + 1 мМ La^{3+} → + донор	12.8	45.3
ФСII(-Ca) + 1мМ Tb^{3+} → центрифугирование → + гидрохинон → + донор	41.0	83.3
ФСII(-Ca) + 1 мМ Tb^{3+} → центрифугирование → + гидрохинон → + 1 мМ Tb^{3+} → + донор	9.9	43.2

Примечание. Экспериментальные условия приведены в подписях к рис. 3 и 4. Все данные являются средними арифметическими значений, полученных не менее чем в двух независимых экспериментах с тремя повторностями. Стандартное отклонение каждого находится в пределах $\pm 9\%$. Активность 100% соответствует скорости фотовосстановления ДХФИФ: а – 88 ± 7 мкмоль ДХФИФ мг Хл–1·ч–1; б – 63 ± 6 мкмоль ДХФИФ мг Хл–1·ч–1.

новозилдиацилглицерол (три молекулы/РЦ) расположен достаточно далеко от КВК [35], что делает маловероятным взаимодействие между этим липидом и КВК. Фосфатидилглицерол (одна молекула/РЦ), возможно, является необходимым компонентом в процессе переноса электронов на акцепторном участке $Q_A \rightarrow Q_B$ [35]. Однако исследования показали, что лантаноиды ингибируют перенос электронов не на акцепторном, а на донорном участке ФСII [13, 14, 17].

Неспецифическое связывание трехвалентных катионов может оказывать влияние на поверхностный заряд мембран ФСII, потенциально приводить к их слипанию и, как следствие, затруднённой диффузии реагентов в более крупные частицы. В случае агрегации частиц ФСII должно увеличиваться светорассеяние препарата, но мы не наблюдали увеличения начальной оптической плотности препаратов ФСII в присутствии ионов лантаноидов. Это свидетельствует о том, что выраженная агрегация мембран ФСII в присутствии La^{3+} и Tb^{3+} отсутствует. С другой стороны, выявленные нами эффекты лантаноидов нельзя объяснить нейтрализацией отрицательных фиксированных зарядов на поверхности частиц с последующей их агрегацией, поскольку в предыдущей работе [17] мы наблюдали значительное (на два порядка величин) различие в константах ингибирования лантаноидами фотохимической активности препаратов ФСII с различными нарушениями в КВК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экстракция катионов марганца из КВК мембранных препаратов ФСII(-Са), в которых Са-связывающий участок блокирован катионом лантаноида, демонстрирует ингибирование не только Са-связывающего участка, но и высокоаффинного Mn-связывающего участка. Предположительно, это может происходить следующим образом. При связывании катиона Ln^{3+} с Са-связывающим участком происходит вытеснение из координационной сферы высокоаффинного участка связывания Mn4 бидентантного лиганда D1-Asp170 и его перехват катионом Ln^{3+} . Это приводит к изменению высокоаффинного участка и снижению эффективности связывания им экзогенного катиона марганца. Можно предполагать, что процесс модификации координационной сферы высокоаффинного участка происходит не до экстракции катионов марганца, а после. Однако сильное влияние катиона La^{3+} на эффективность окисления воды препаратом ФСII(-Са) противоречит этому предположению: скорость восстановления ДХФИФ в препаратах ФСII(-Са) без искусственного донора электронов равна 100 мкмоль

ДХФИФ мМ $Хл^{-1} \cdot ч^{-1}$ (100%) (рис. 2), а в присутствии La^{3+} (1 мМ) она значительно снижается — до 45 мкмоль ДХФИФ мМ $Хл^{-1} \cdot ч^{-1}$ (45%).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Y. Umena, K. Kawakami, J.-R. Shen, et al., *Nature*, **473**, 55 (2011). DOI: 10.1038/nature09913
2. M. Suga, F. Akita, K. Hirata, et al., *Nature*, **517**, 99 (2015). DOI: 10.1038/nature13991
3. J. P. McEvoy and G. W. Brudvig, *Chem. Rev.*, **106**(11), 4455 (2006). DOI: 10.1021/cr0204294
4. C. J. Kim and R. J. Debus, *Biochemistry*, **56**, 2558 (2017). DOI: 10.1021/acs.biochem.6b01278
5. E. Y. Tsui, R. Tran, J. Yano, et al., *Nature Chem.*, **5**, 293 (2013). DOI: 10.1038/nchem.1578
6. M. Shamsipur and A. Pashabadi, *Coord. Chem. Rev.*, **374**, 153 (2018). DOI: 10.1016/j.ccr.2018.07.006
7. K. Saito, M. Nakagawa, M. Mandal, et al., *Photosynth. Res.*, **148**, 153(2021). DOI: 10.1007/s11120-021-00846-y
8. T. Ono and Y. Inoue, *Biochim. Biophys. Acta*, **1020**, 269 (1990). DOI: 10.1016/0005-2728(90)90157-Y
9. T. Ono and Y. Inoue, *FEBS Lett.*, **227**, 147 (1988). DOI: 10.1016/0014-5793(88)80886-X
10. T. Ono and Y. Inoue, *Biochim. Biophys. Acta*, **850**, 380 (1986). DOI: 10.1016/0005-2728(86)90194-5
11. J. S. Vrettos, D. A. Stone, and G. W. Brudvig, *Biochemistry*, **40**, 7937 (2001). DOI: 10.1021/bi010679z
12. D. F. Ghanotakis, G. T. Babcock, and C. F. Yocum, *FEBS Lett.*, **167**, 127 (1984a). DOI: 10.1016/0014-5793(84)80846-7
13. D. F. Ghanotakis, G. T. Babcock, and C. F. Yocum, *Biochim. Biophys. Acta*, **809**, 173 (1985). DOI: 10.1016/0005-2728(85)90060-X
14. T. Ono, *J. Inorg. Biochem.*, **82**, 85 (2000). DOI: 10.1016/S0162-0134(00)00144-6
15. C. M. Waggoner and C. F. Yocum, in: *Current Research in Photosynthesis*, Ed. by M. Baltscheffsky (Springer, Dordrecht, Netherlands, 1990), pp. 733–736. DOI: 10.1007/978-94-009-0511-5_167
16. M. Epstein, J. Reuben, and A. Levitzki, *Biochemistry*, **16**, 2449 (1977).
17. E. R. Lovyagina, A. V. Loktyushkin, and B. K. Semin, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **26**, 1 (2021). DOI: 10.1007/s00775-020-01832-w
18. D. F. Ghanotakis and G. T. Babcock, *FEBS Lett.*, **153**, 231 (1983). DOI: 10.1016/0014-5793(83)80154-9

19. R. J. Porra, W. A. Thompson, and P. E. Kriedemann, *Biochim. Biophys. Acta*, **975**, 384 (1989). DOI: 10.1016/S0005-2728(89)80347-0
20. D. F. Ghanotakis, G. T. Babcock, and C. F. Yocum, *Biochim. Biophys. Acta*, **765**, 388 (1984). DOI: 10.1016/0005-2728(84)90180-4
21. Q. Xu and T. M. Bricker, *J. Biol. Chem.*, **267**, 25816 (1992). DOI: 10.1016/S0021-9258(18)35683-7
22. J. M. Armstrong, *Biochim. Biophys. Acta*, **86**, 194 (1964). DOI: 10.1016/0304-4165(64)90180-1
23. B. K. Semin, L. N. Davletshina, and A. B. Rubin, *Photosynth. Res.*, **125**, 95 (2015). DOI: 10.1007/s11120-015-0155-4
24. P. J. Nixon and B. A. Diner, *Biochemistry*, **31**, 942 (1992). DOI: 10.1021/bi00118a041
25. K. A. Campbell, D. A. Force, P. J. Nixon, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 3754 (2000). DOI: 10.1021/ja000142t
26. B. K. Semin, M. L. Ghirardi, and M. Seibert, *Biochemistry*, **41**, 5854 (2002). DOI: 10.1021/bi0200054
27. H. Inoue and T. Wada, *Plant Cell Physiol.*, **28**, 767 (1987). DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077357
28. A. Boussac, M. Picaud, and A.-L. Etienne, *Photobiophys. Photobiophys.*, **10**, 201 (1986).
29. B. K. Semin, L. N. Davletshina, A. Yu. Aleksandrov, et al., *Biochemistry (Moscow)*, **69**, 410 (2004). DOI: 10.1023/B:BIRY.0000022066.38297.8a
30. C. W. Hoganson, D. F. Ghanotakis, G. T. Babcock, et al., *Photosynth. Res.*, **22**, 285 (1989). DOI: 10.1007/BF00048306
31. A.-F. Miller and G. W. Brudvig, *Biochemistry*, **29**, 1385 (1990). doi:10.1021/bi00458a007
32. B. K. Semin, L. N. Davletshina, M. Seibert, et al., *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, **178**, 192 (2018). DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2017.11.016
33. V. N. Kurashov, E. R. Lovyagina, D. Yu. Shkolnikov, et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **1787**, 1492 (2009). DOI: 10.1016/j.bbabi.2009.07.002
34. B. Loll, J. Kern, W. Saenger, et al., *Biochim. Biophys. Acta*, **1767**, 509 (2007). DOI: 10.1016/j.bbabi.2006.12.009
35. N. Mizusawa and H. Wada, *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 194 (2012). DOI: 10.1016/j.bbabi.2011.04.008

Mechanism of Inhibition of the Oxygen-Evolving Complex of Photosystem II by Lanthanide Cations

E.R. Lovyagina, A.V. Loktyushkin, N.S. Vasiliev, and B.K. Semin

Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia

The process of the interaction of La^{3+} and Tb^{3+} cations with the Ca-binding site of the oxygen-evolving complex of photosystem II samples depleted of calcium has been studied. The binding of cations to the Ca-binding site is irreversible and the bound cations cannot be washed out or replaced by Ca^{2+} cation. A feature of lanthanides to bind strongly to the Ca-binding site has been used to investigate if the bound Ln^{3+} cation has an effect on the high-affinity Mn-binding site of the oxygen-evolving complex. Therefore, in this work, hydroquinone was used for the extraction of manganese cations from the oxygen-evolving complex of the calcium-depleted photosystem II membranes with the Ca-binding site blocked by La^{3+} or Tb^{3+} and the activity of the high-affinity site was then examined using exogenous electron donors ($\text{Mn}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$) and 1,5-diphenylcarbazine. It was found that lanthanide cation bound to the Ca-binding site can significantly inhibit the oxidation rates of electron donors through the high-affinity Mn-binding site. The mechanism of the observed effect is discussed.

Keywords: photosystem II, oxygen-evolving complex, high-affinity Mn-binding site, calcium, lanthanides