

ВЛИЯНИЕ КАТИОННЫХ АНТИСЕПТИКОВ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ТРАНСПОРТ ЭЛЕКТРОНА В ИЗОЛИРОВАННЫХ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСАХ ФОТОСИСТЕМ I И II

© 2024 г. В.З. Пашенко*, Е.П. Лукашев*, М.Д. Мамедов**, Д.А. Гвоздев*.,
Б.Н. Корватовский*, П.П. Нокс*, М.Г. Страховская*

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

**Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/40, Москва, 119992 Россия

#E-mail: danil131054@mail.ru

Поступила в редакцию 07.03.2024 г.

После доработки 29.03.2024 г.

Принята к публикации 03.04.2024 г.

Исследовано влияние катионных антисептиков (в микромолярных концентрациях) на изолированные из растений шпината активные коровые комплексы ФСII с интактным комплексом окисления воды и на коровые комплексы ФСI из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC6803. Из исследованных антисептиков (мирамистина, хлоргексидина, октенидина и пиклоксидина) наибольший эффект оказывал октенидин. Сделан вывод, что его влияние на ФСII заключается прежде всего в воздействии на структуру светособирающей антенны (CP43 и CP47), через которую энергия возбуждения доставляется к собственно реакционному центру. В результате происходит дестабилизация молекул хлорофиллов в данной структуре и изменение их оптических и функциональных характеристик. Сходные эффекты наблюдались также в цианобактериальных комплексах ФСI. Кроме того, антисептик влиял на скорость установления равновесного распределения возбужденных состояний по спектральным формам в антенном комплексе ФСI. Обнаружено и значительное воздействие октенидина на скорость переноса электронов в комплексе ФС I: в его присутствии рекомбинация фоторазделенных зарядов между фотоактивным пигментом P700 и концевым акцептором FA/FB происходит в два раза быстрее.

Ключевые слова: фотосистемы I и II, антисептики, октенидин, флуоресценция, перенос энергии, перенос электрона.

DOI: 10.31857/S0006302924030098, EDN: OFJGYJ

Нарастающие объемы производства дезинфицирующих средств, включая четвертичные аммониевые соединения и бигуаниды, их повседневное использование в здравоохранении, пищевой промышленности, в быту ставят актуальные вопросы о биобезопасности такого рода антимикробных соединений. При этом необходимо учитывать, что в силу специфики применения, а также низкой степени биodeградации, показанной для некоторых катионных четвертичных аммониевых соединений и бигуанидов [1], такие дезин-

фектанты и антисептики могут практически в неизменном виде попадать в сточные воды, или очистных сооружений, рассеиваться в окружающей среде и создавать загрязняющую нагрузку на экосистемы [2, 3].

Избирательное связывание катионных антимикробных агентов с клетками целевых видов бактерий и дальнейшее их деструктивное действие на плазматические бактериальные мембраны в значительной степени определяют зарядовые взаимодействия, поскольку эти мембраны характеризуются высоким содержанием отрицательно заряженных липидов, в первую очередь, фосфатидилглицерола и кардиолипина. Считается, что для проявления противомикробных свойств достаточна комбинация в молекуле силь-

Сокращения: ССК — светособирающий комплекс, PC — реакционный центр, ФСI — фотосистема I, ФСII — фотосистема II, Хл — хлорофилл, P700 — фотоактивный димер Хл PC, QA — первичный акцептор хинонной природы.

ного положительного заряда и гидрофобной области — это обеспечивает встраивание в липидный бислой плазматической мембраны [4]. Как мы ранее показали методами молекулярного моделирования, в процессе адсорбции катионных антисептиков на модельных мембранах, имитирующих плазматические мембраны бактерий по процентному содержанию различных липидов, гидрофобные фрагменты молекул оказываются погруженными в гидрофобную область бислоя, а положительно заряженные группы колокализуются с отрицательно заряженными фосфатами липидов на поверхности мембраны [5, 6]. Такие взаимодействия приводят к изменению коэффициентов латеральной диффузии мембранных липидов, влияют на параметры упорядоченности липидов и способствуют образованию пор в мембране [5, 6], что, очевидно, обеспечивает и эффективное проникновение антисептиков внутрь клеток.

Направленные против целевых видов бактерий дезинфектанты и антисептики при попадании в окружающую среду могут оказывать деструктивное воздействие на различных обитателей водоемов, илистых почв, осадков сточных вод, активного ила — в том числе, что важно, и на фотосинтезирующие организмы. У фотосинтезирующих организмов фотосинтетический аппарат, ассоциированный с системой внутриклеточных мембран, наряду с плазматической мембраной может, очевидно, представлять потенциальную мишень для действия катионных биоцидов. Так, ранее мы показали, что катионные антисептики из групп четвертичных аммониевых соединений и бигуанидов вызывают снижение эффективности преобразования световой энергии фотосинтезирующими пурпурными несерными бактериями. При этом в хроматофорах бактерий *Rhodospira sphaeroides* снижается эффективность передачи энергии от светособирающего комплекса (ССК) LH2 к комплексу LH1 с реакционным центром (РЦ) [7], а у *Rhodospirillum rubrum*, у которых ССК LH2 отсутствует, снижается эффективность передачи энергии от ССК LH1 к РЦ [8]. Эти бактерии являются факультативно аэробными фотоорганогетеротрофными грамотрицательными бактериями, которые, осуществляя анаэробный фотосинтез, используют в качестве доноров электронов органические соединения [9] и обитают именно в тех местах, где высока вероятность накопления дезинфектантов и антисептиков. Наблюдаемые эффекты мы связали, в том числе, с взаимодействием антисептиков с анионными фосфолипидами, которые составляют более 40% липидов фотосинтетических мембран пурпурных несерных бактерий. Это приводит к структурным изменениям липидной упаковки и нарушает оптимальные условия переноса энергии между ССК и от ССК к РЦ. Вместе с тем и са-

ми амфипатические многокомпонентные полипептидные фототрансформирующие комплексы, очевидно, могут быть мишенью для атаки катионными антисептиками.

Тилакоидные мембраны кислородвыделяющих организмов — цианобактерий и фотосинтезирующих эукариот — характеризуются высококонсервативным характером их липидного состава, который включает четыре класса глицеролипидов: нейтральные моногалактозилдиацилглицерин, дигалактозилдиацилглицерин и отрицательно заряженные сульфохинозилдиацилглицерин и фосфатидилглицерин [10]. В частности, в мембранах хлоропластов шпината отрицательно заряженные фосфоглицерол и сульфолипиды составляют около 20%.

Тилакоидные мембраны содержат два мульти-субъединичных пигмент-белковых комплекса: фотосистема I (ФСI) и фотосистема II (ФСII), которые действуют как две последовательные фотооксидоредуктазы [11–13], и в состав которых входят те же липиды [14]. Таким образом, липидная матрица фотосинтетических мембран и у кислородвыделяющих организмов может служить мишенью для связывания молекул катионных дезинфектантов и антисептиков при их проникновении в клетки. Так, в частности, недавно показано на штаммах *Microcystis*, что широко используемый дезинфектант из группы четвертичных аммониевых соединений (бензалкония хлорид-С14) уже при концентрации 0.4 мг/л вызывает значительное подавление фотосинтетической активности этих цианобактерий [15].

В ФСII минимальный ядерный белковый ансамбль, способный к фотоокислению воды и восстановлению молекул пластохинонов, состоит из Mn_4CaO_5 кластера, двух интегральных антенных белков CP43 и CP47, фотосинтетического РЦ, содержащего D1-, D2- и цит. b_{559} -субъединицы, и периферического белка PsbO (марганец-стабилизирующей белок). Комплекс ФСII образует димер, где каждый мономер содержит одну электрон-транспортную цепь, чьи кофакторы координируются белками D1/D2. CP43 более лабильно связан с D1/D2-гетеродимером РЦ, чем CP47 и, возможно, вовлекается в стабилизацию комплекса окисления воды. В свою очередь, CP47, помимо переноса энергии, также, по-видимому, играет определенную структурную роль, способствуя теснейшей ассоциации D1- и D2-субъединиц. CP43 и CP47 содержат 13 и 16 молекул хлорофилла *a* (Хл *a*) соответственно. РЦ, в свою очередь, включает 6 молекул Хл *a* и 2 молекулы феофитина [16–18]. В растениях дополнительный светосбор обеспечивается образованием больших суперкомплексов с мембранносвязанными Хл-содержащими белками и тримерными ССК.

Мономерный цианобактериальный комплекс ФСІ с молекулярной массой >370 кДа содержит 12 различных полипептидов [19]. При этом шесть молекул Хл *a* в каталитическом ядре двух интегральных субъединиц PsaA/PsaB окружены 90 молекулами Хл *a* и 22 молекулами β -каротина, которые вместе служат основными антенными пигментами. Все эти окислительно-восстановительные кофакторы, за исключением железо-серных кластеров F_A/F_B , расположены внутри субъединиц ядра псевдосимметричным образом и образуют две ветви (А и В) для потенциального переноса электронов. Терминальные акцепторы электронов F_A и F_B связаны с внешней стромальной субъединицей PsaC.

В настоящей работе, продолжая начатое ранее изучение влияния катионных антисептиков октеидина, мирамистина, хлоргексидина и пиклоксидина на спектральные свойства и процессы трансформации энергии в хроматофорах пурпурных бактерий [7, 8], мы приводим результаты нашего исследования на изолированных из шпината активных коровых комплексах ФСІІ с интактным комплексом окисления воды и на коровых комплексах ФСІ из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC6803.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кислород-выделяющие ядерные комплексы ФСІІ выделяли из свежих растений шпината (*Spinacia oleracea*) [20] путем обработки мембранных фрагментов n -додецил- β - d -мальтозидом (10:1, детергент/хлорофилл) в течение 1 ч с последующим центрифугированием на градиенте плотности сахарозы (20–40%) в течение 7 ч при 210 000 g с использованием вертикального ротора Beckman VTi50. Общую концентрацию Хл в образцах ФСІІ (~ 2.7 мг Хл·мл $^{-1}$) определяли методом, описанным в работе [21]. Среда для хранения/анализа содержала 25 мМ Mes (pH 6.5), 15 мМ NaCl, 5 мМ CaCl $_2$ и 0.03% (в/о) n -додецил- β - d -мальтозида. Полученные препараты ядерных комплексов ФСІІ практически не содержат светособирающий комплекс LH2 [20]. Скорость выделения кислорода ($1500\text{--}1600$ мкМ O $_2$ ·(мг Хл) $^{-1}$ ·ч $^{-1}$) при стационарном освещении (1000 мкМ фотонов м $^{-1}$ с $^{-1}$) измеряли при 23°C с помощью электрода Кларка в присутствии 0.1 мМ 2,6-дихлоробензохинона и 1.0 мМ феррицианида калия в качестве акцептора электронов.

Тилакоидные мембраны из цианобактерий *Synechocystis* sp. PCC 6803 дикого типа выделяли по методике, описанной в работе [22]. Для получения комплексов ФСІ использовали с небольшими модификациями процедуру экстракции, описанную в работе [23]. Для получения мем-

бранных фрагментов тилакоидные мембраны, полученные путем разрушения клеток с помощью френч-пресса и последующего ультрацентрифугирования, инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре в присутствии 50 мМ HEPES–NaOH (pH 7.5), содержащего 1% n -додецил- β - d -мальтозида при концентрации хлорофилла 0.5–0.6 мг/мл при 4°C. Далее суспензию центрифугировали в течение 15 мин при 14000 g, супернатант наносили на градиент плотности сахарозы (5–20% масс./об.), приготовленный в 50 мМ буфере HEPES–NaOH (pH 8.0), содержащем 0.03% (масс./об.) n -додецил- β - d -мальтозида. Градиенты центрифугировали в течение 16 ч при 140000 g. Нижнюю полосу собирали, дважды диализовали против 50 мМ буфера HEPES–NaOH (pH 7.5) в течение 2 ч и концентрировали. Суспензию комплексов ФСІ (2 мг·мл $^{-1}$) замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -70°C . Поскольку изолированные комплексы ФСІ не содержат природного белка-донора цитохрома *c*₆, во всех экспериментах в качестве экзогенного донора электронов к образцу добавляли 10 мкМ 2,6-дихлорфенолиндифенола и 5 мМ аскорбата натрия.

Спектры поглощения регистрировали с помощью модифицированного спектрофотометра Hitachi-557 (Япония), спектры флуоресценции — с помощью спектрофлуориметра Fluorolog-3 (HORIBA Scientific, Япония), оснащенного высокочувствительным ИК-фотоумножителем Hamamatsu 5509-72. Спектры флуоресценции регистрировали при возбуждении на длине волны 400 нм. Ширина полосы составляла 10 нм для возбуждающего света и 5 нм для регистрируемой флуоресценции. Кинетические кривые затухания флуоресценции были измерены при 680 нм с использованием системы счета одиночных фотонов с временной корреляцией TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Германия) с гибридным фотоприемником HPM-100-07 с чрезвычайно высокой динамикой. В качестве источника возбуждающего света использовали фемтосекундную лазерную систему «Тема-150» (ООО «Авеста-Проект», Россия). Она генерировала световые импульсы длительностью 300 фс при длине волны 400 нм (частота повторения — 80 МГц; средняя мощность излучения — 2.8 Вт; энергия одиночного импульса — 34 нДж). В экспериментах энергию возбуждающих световых импульсов уменьшали с помощью нейтральных светофильтров до уровня, определяемого чувствительностью регистрирующей системы. Средняя плотность мощности излучения составляла $3 \cdot 10^{-4}$ Вт/см 2 . Кинетику затухания флуоресценции аппроксимировали модельной кривой в трехэкспоненциальном приближении. Времена затухания τ были рассчитаны с использованием алгоритма подбора мето-

дом наименьших квадратов с учетом инструментальной функции отклика при $\text{FWHM} \approx 16$ пс. Измерения повторяли три раза, и средние значения со стандартной ошибкой использовали для расчета времени жизни (τ) и выхода (F) флуоресценции. Все расчеты и представление были выполнены с использованием программного обеспечения Origin 8.1 (OriginLab, США).

Возбуждаемые импульсным излучением (Nd-YAG-лазер, 532 нм, 7 нс, 10 мДж) изменения поглощения ФСІ при 700 нм исследовали с помощью лабораторной системы флеш-фотолиза с двойной монохроматизацией зондирующего света [24]. Изменения поглощения во временной области от 1 мкс до 5 с были оцифрованы с помощью измерительной платы GaGe Octopus CS8327 (Dynamic Signals, Канада). Для достижения более высокого отношения сигнал/шум было усреднено 50 одиночных сигналов. Собранные данные размером $8 \cdot 10^6$ точек были сжаты до 280 точек в логарифмической шкале времени. Кинетику восстановления $P700^+$ аппроксимировали суммой нескольких экспонент с помощью программ Mathematica (Wolfram Research, США) и OriginPro 9 (OriginLab, США). Концентрация хлорофилла в образцах в данных опытах составляла ~ 15 мкг/мл.

Использовали готовые фармацевтические препараты хлоргексидина диглюконат 20%, пиклоксидина дигидрохлорид 0.05% (Витабакт), мирамистин 0.01% и октенидин 0.1% (Октенисепт), которые разбавляли дистиллированной водой для получения растворов антисептиков с необходимыми концентрациями. Измерения проводили при комнатной температуре ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) после 5 мин инкубации препаратов с добавленным антисептиком.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Мы сравнили действие четырех катионных антисептиков в концентрации 100 мкМ на флуоресценцию коровых комплексов ФСІ и ФСІІ. Было установлено, что октенидин обладает максимальной эффективностью в увеличении выхода флуоресценции, значительно превышающей действие остальных антисептиков (рис. 1). Поэтому в настоящей работе мы подробно исследовали действие именно этого антисептика.

Увеличение выхода флуоресценции в образцах ФСІІ при добавлении октенидина сопровождается коротковолновым смещением как максимума поглощения (с 672 нм до 666 нм), так и максимума флуоресценции (с 682 нм до 678 нм) (рис. 2а,б). Согласно работе [25], молекулы Хл а в антенных комплексах CP43 и CP47 ФСІІ шпината находятся в двух спектрально отличных формах с длинноволновым (около 680 нм) и коротковолновым (около 670 нм) максимумами поглощения. Эти

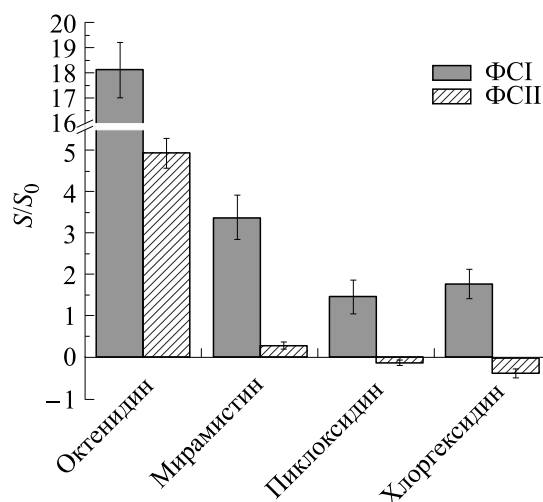


Рис. 1. Интегральная площадь S под спектром флуоресценции коровых комплексов ФСІ и ФСІІ в присутствии антисептиков (100 мкМ), нормированная на площадь S_0 под спектром флуоресценции контрольного образца без антисептика. Усреднение по трем экспериментам, указано стандартное отклонение от средней величины.

две спектральные формы, очевидно, имеют разное микроокружение и отличаются своей чувствительностью к внешним воздействиям. Так, длинноволновая форма существенно более чувствительна к нагреванию, в результате которого ее абсорбционный максимум смещается к длинам волн поглощения коротковолновой формы. Авторы считают, что температурный фактор, воздействуя на белковый носитель, нарушает исходное экситонное взаимодействие «длинноволновых» хлорофиллов, что и приводит к наблюдаемому коротковолновому смещению их максимума поглощения. Очевидно, октенидин, внедряясь в структуру светособирающих белков, может приводить к сходному эффекту.

Гипсохромный сдвиг полосы флуоресценции (рис. 2) и увеличение ее интенсивности (данные не приводятся) происходили также в присутствии детергента Тритон Х-100, в связи с чем в работе мы сопоставили воздействие этих двух разных агентов на спектрально-кинетиические характеристики коровых комплексов ФСІІ. Из рис. 2 также следует, что в случае ацетонового экстракта полоса поглощения в красной области и полоса флуоресценции смещаются гораздо сильнее по сравнению с контрольным образцом — максимум поглощения сдвигается до 661 нм, а максимум флуоресценции — до 673 нм. Следовательно, обработка коровых комплексов ФСІІ максимальными концентрациями октенидина и Тритона Х-100 хотя и приводит к структурной пертурбации пигмент-белковых комплексов, однако частичная межхромоформная связь сохраняется. Это

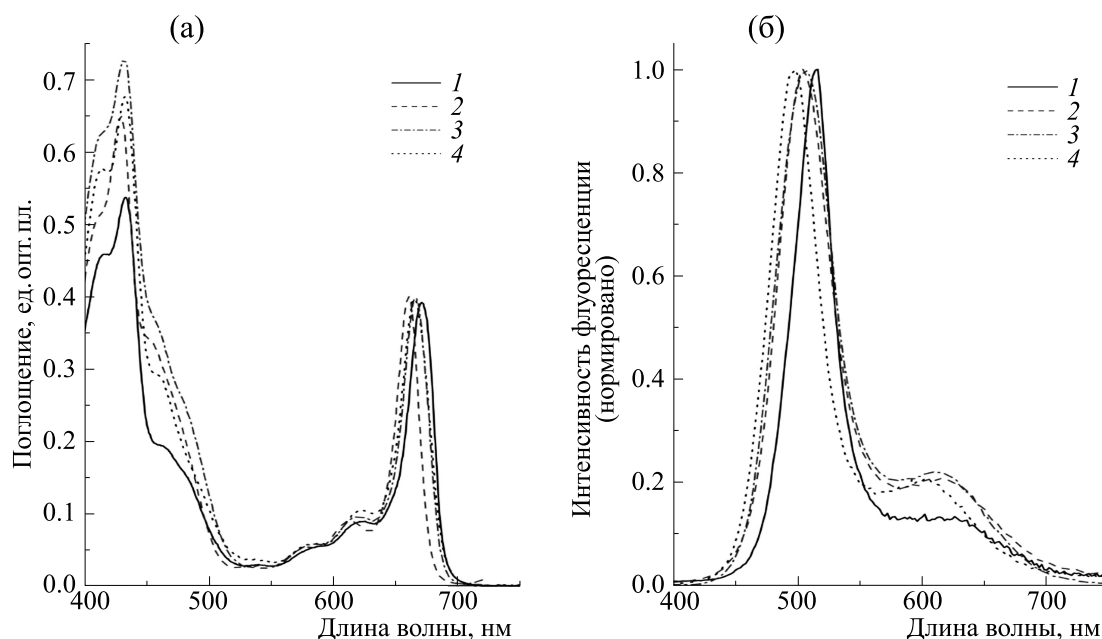


Рис. 2. Спектр поглощения (а) и нормированный спектр флуоресценции (б) коровых комплексов ФС II в контроле (спектр 1), в присутствии 300 мкМ октенидина (спектр 2), в присутствии 0.3% тритона X-100 (спектр 3) и в ацетоновом экстракте (спектр 4). Длина волны возбуждения флуоресценции 400 нм.

полностью соответствует заключению авторов работы [26] о действии агента Тритона X-100 на ФСII (коровый комплекс CP47).

Спектры поглощения и флуоресценции выделяемых нами комплексов ФСI показаны на рис. 3. Они фактически совпадают со спектрами для препаратов ФСI, приведенными в работах [27–29]: основной максимум флуоресценции локализуется при ~ 684 нм, имеется широкое плечо в красной области в районе ~ 730 нм. Как и в случае ФСII, октенидин обладал максимальной эффективностью, в несколько раз превышающей действие остальных. Это выражается как в коротковолновом сдвиге максимума спектра поглощения и флуоресценции (рис. 4, 5), так и в увеличении интенсивности флуоресценции (врезка на рис. 5). Важно отметить, что регистрируемое увеличение квантового выхода флуоресценции ФСI в присутствии октенидина хорошо совпадает для экспериментов по измерению стационарной флуоресценции (оцененного по площади под спектром) и экспериментов по измерению кинетики (оцененного по интегралу под кинетической кривой).

О нарушении процессов миграции энергии в пигмент-белковых комплексах ФСII и ФСI в присутствии антисептиков свидетельствуют также результаты измерений длительности флуоресценции образцов в этих условиях. При аппроксимации экспериментальных кинетик затухания флуоресценции ФСII мы пользовались трехэкспоненциальным приближением, дающим наи-

меньшее значение величины среднеквадратичного отклонения χ^2 . Наличие трех компонентов в кинетике затухания флуоресценции ФСII в диапазонах около 100 пс, несколько сотен пс и более отмечалось и в других работах. При этом появление и удлинение медленных компонентов связывается с закрытием РЦ ФСII и степенью этого закрытия в исследуемых образцах [30–34].

В экспериментах с ФСII к препаратам добавляли феррицианид калия в качестве экзогенного акцептора электронов для оценки степени восстановления фотоактивного хлорофилла РЦ. Наши препараты содержали активный комплекс выделения кислорода, который может восстанавливать фотоокисляемый пигмент РЦ за время ~ 30 нс. Учитывая, что время между активирующими вспышками света составляло 12.5 нс, можно было ожидать, что часть комплексов РЦ за время регистрации кинетики флуоресценции могла перейти в неактивное состояние. Оценка τ_1 , связываемого с процессом миграции энергии от коровой антенны к РЦ при условии их открытого состояния, составляет 50–80 пс [35, 36]. В наших экспериментах в образцах коровых комплексов ФСII при добавлении экзогенного акцептора электрона феррицианида калия длительность быстрого компонента τ_1 снижалась с ≈ 200 до 113 пс (табл. 1). Таким образом, феррицианид калия существенно снизил долю закрытых РЦ (возможно и полностью, а отличие τ_1 от литературных значений в 50–80 пс обусловлено

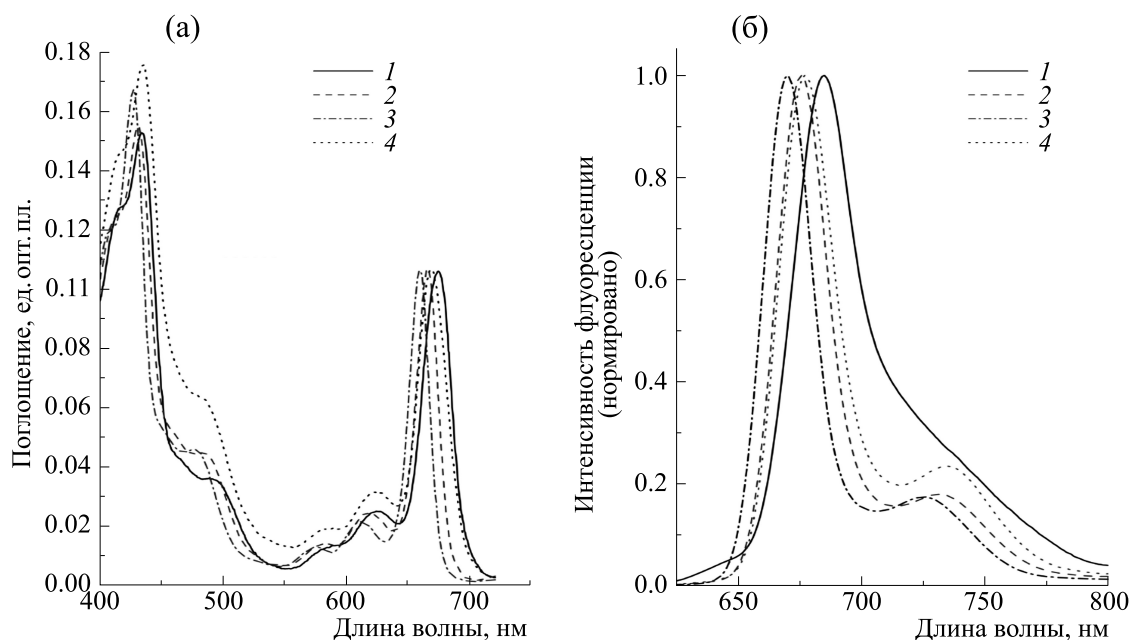


Рис. 3. Спектр поглощения (а) и нормированный спектр флуоресценции (б) коровых комплексов ФС I в контроле (спектр 1), в присутствии 150 мкМ октенидина (спектр 2), в присутствии 1% тритона X-100 (спектр 3) и в ацетоновом экстракте (спектр 4). Длина волны возбуждения флуоресценции 400 нм.

структурными особенностями нашего образца). В дальнейшем препарат, содержащий 350 мкМ феррицианида калия, считался контрольным образцом в наших экспериментах.

Из табл. 1 видно, что по мере добавления возрастающих концентраций октенидина длительность компонента τ_1 увеличивается, достигая значения 357 пс при концентрации октенидина 200 мкМ. Такое трехкратное замедление скорости миграции энергии сопровождается 6–8-кратным ростом интенсивности флуоресценции (данные не приводятся). Данное увеличение интенсивности флуоресценции объясняется значительным перераспределением вкладов (a_i) трех компонентов в кинетику затухания и увеличением длительности (τ_i) всех компонентов. По нашему мнению, такое действие октенидина на коровые комплексы ФСII связано с их деструкцией, подобно тому, как это происходит при добавлении детергента Тритона X-100. Действительно, при высоких концентрациях октенидина в трехэкспоненциальном приближении наблюдается компонент длительностью около 6 нс. Это значение близко для полученного нами времени жизни флуоресценции свободного хлорофилла в ацетоновом экстракте (6.2 нс) или для такового в дезинтегрированных пигмент-белковых комплексах в присутствии 1% Тритона X-100 (5.4 нс).

Второй компонент средней длительности, согласно многочисленным литературным данным, мы отнесли к процессу рекомбинации зарядов в

РЦ. Его длительность в контрольных образцах с феррицианидом составляет $\tau_2 = 0.37$ нс, что близко к значению 360–460 пс, полученному в работе [37]. Из табл. 1 видно, что по мере добавления октенидина значение τ_2 увеличивается до 2.28 нс, а амплитуда растет от $14 \pm 2\%$ до $33 \pm 3\%$. Такие значения находятся в хорошем соответствии с ре-

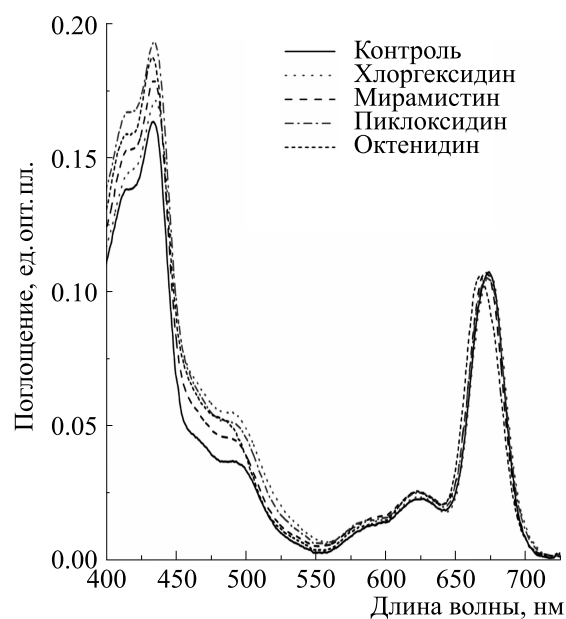


Рис. 4. Спектр поглощения комплексов ФС I в контроле и в присутствии антисептиков (100 мкМ).

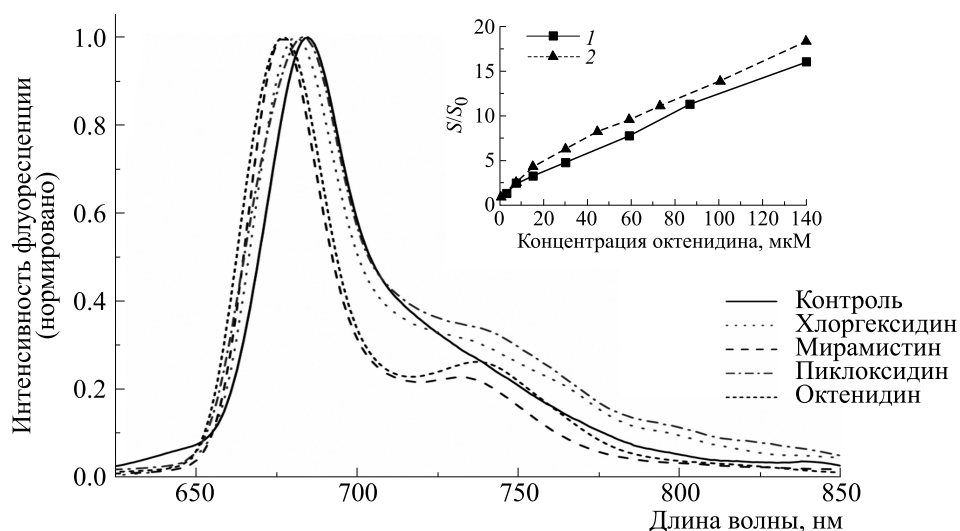


Рис. 5. Нормированный спектр флуоресценции комплексов ФСИ в контроле и в присутствии антисептиков (100 мкМ). На врезке – относительное изменение квантового выхода флуоресценции комплексов ФСИ в присутствии октенидина при оценке соотношения площадей под спектром флуоресценции (спектр 1) и под кинетикой затухания флуоресценции (спектр 2).

зультатами, полученными в работе [38] в образцах фотосинтетических мембран, обогащенных ФСП, и в препаратах коровых комплексов ФСП при их восстановлении дитионитом, ведущим к появлению дважды восстановленного первичного акцептора хинонной природы (Q_A); доминирующим (~ 70%) компонентом флуоресценции становится компонент с $\tau \sim 200$ пс – как и в случае, когда Q_A окислен. Этот компонент следует отне-

сти к τ_1 в нашей работе. В то же время в условиях однократно восстановленного Q_A самый быстрый компонент флуоресценции имел $\tau \sim 600$ пс (25%), а два других компонента характеризовались $\tau \sim 1.4$ нс (68%) и $\tau \sim 3.3$ нс (7%). Авторы работы [38] интерпретировали самую быструю кинетическую фазу (200 пс) как указание на высокую эффективность разделения зарядов в РЦ благодаря отсутствию электрического заряда на

Таблица 1. Времена жизни τ_i и амплитуды a_i трех компонентов флуоресценции коровых комплексов ФСП и ФСИ при различных концентрациях добавленного октенидина

	τ_1 , пс	τ_2 , нс	τ_3 , нс	a_1 , %	a_2 , %	a_3 , %
ФСП (контроль)	113 ± 6	0.37 ± 0.04	1.69 ± 0.06	85 ± 5	14 ± 3	1 ± 0.4
5 мкМ октенидина	128 ± 5	0.38 ± 0.04	1.92 ± 0.07	82 ± 4	17 ± 4	1 ± 0.4
25 мкМ октенидина	270 ± 10	1.31 ± 0.05	4.46 ± 0.12	65 ± 4	21 ± 5	14 ± 3
100 мкМ октенидина	333 ± 15	2.24 ± 0.09	5.28 ± 0.11	58 ± 4	32 ± 4	10 ± 2
200 мкМ октенидина	357 ± 14	2.28 ± 0.11	6.19 ± 0.17	57 ± 5	33 ± 3	10 ± 3

	τ_1 , пс	τ_2 , нс	τ_3 , нс	a_1 , %	a_2 , %	a_3 , %
ФСІ (контроль)	63 ± 3	0.51 ± 0.04	2.6 ± 0.1	95.7 ± 4.4	2.6 ± 0.3	1.7 ± 0.2
7.5 мкМ октенидина	115 ± 6	0.55 ± 0.06	4.4 ± 0.2	70.0 ± 3.4	23.8 ± 0.9	6.2 ± 1.1
30 мкМ октенидина	399 ± 15	3.2 ± 0.1	5.3 ± 0.1	26.7 ± 2.4	42.0 ± 4.1	31.3 ± 3.7
90 мкМ октенидина	777 ± 18	4.3 ± 0.2	6.2 ± 0.2	14.1 ± 1.2	64.8 ± 4.2	21.1 ± 1.9
140 мкМ октенидина	922 ± 21	4.8 ± 0.3	6.2 ± 0.3	10.6 ± 1.4	66.9 ± 3.9	22.5 ± 2.4

Примечание. $\lambda_{\text{возб}} = 400$ nm, $\lambda_{\text{рег}} = 680$ nm. Указаны средние значения для трех измерений и стандартная ошибка.

Q_A . Это объясняется двойным протонированием дважды восстановленного Q_A . В наших экспериментах при различных концентрациях октенидина мы также получали значения τ_2 , близкие к результатам работы [38] для коровых комплексов ФСII с однократно восстановленным Q_A . По всей видимости, по мере роста концентрации октенидина эффективность фотохимического преобразования световой энергии в РЦ снижается, что ведет к увеличению вероятности обратной реакции переноса энергии от РЦ в антенный комплекс. Параллельно с этим процессом увеличивается доля окисленных РЦ, что сопровождается последовательным увеличением значений τ_2 и a_2 (см. табл. 1).

Основной вклад ($a_1 = 95.7\%$) в кинетику затухания флуоресценции ФСI в наших измерениях составляет самый короткоживущий компонент $\tau_1 \approx 60$ пс, который связывают с захватом энергии возбуждения от красных хлорофиллов реакционным центром (табл. 1). Следовательно, практически все молекулы Хл комплекса ФСI являются активными в плане взаимодействия с РЦ. Быстрые компоненты с $\tau < 1$ пс и ~ 15 пс, измеренные в предыдущих работах [39, 40]), мы не обнаружили, так как измерения кинетики флуоресценции проводили только на одной длине волны регистрации — 680 нм.

Относительный вклад двух наиболее медленных фаз (в контрольных образцах 0.51 нс и ~ 2.6 нс) был ничтожно мал ($\sim 4\%$). Компонент с $\tau_2 \approx 500$ пс можно связать с тем же процессом, что и τ_1 , но не в тримерных, а в мономерных комплексах [39]. Дальнейшее увеличение вклада этого компонента при добавлении антисептиков означает, что антисептики могут приводить к диссоциации трехмерных комплексов ФСI. Наиболее долгоживущий компонент кинетики затухания флуоресценции, согласно литературным данным [39], относится к части молекул антенны, не связанных с РЦ. Отсюда можно сделать вывод, что в пигмент-белковых комплексах ФСI в отсутствие миграции энергии к РЦ длительность флуоресценции светособирающих молекул Хл составляет ~ 2.6 нс, константа скорости внутримолекулярной дезактивации $k_f + k_{\Sigma} = 4 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1}$. Здесь k_f является константой скорости флуоресценции Хл, k_{Σ} означает сумму констант скоростей безизлучательных процессов дезактивации. Отметим, что амплитуда этого компонента незначительна и составляет лишь 1.65%. Иными словами, в несвязанном с РЦ состоянии в контрольном препарате находится лишь несколько молекул Хл.

Ранее авторы работы [41] для ФСII в тилакоидной мембране ввели понятие фактора « $k_{\text{ЕЕТ}}$ », который зависит от структуры комплекса и описы-

вает связь антенных комплексов ФСII с РЦ в терминах эффективности переноса энергии. В предельных случаях $k_{\text{ЕЕТ}} = 1$ для случая максимальной связи антенны и РЦ и $k_{\text{ЕЕТ}} = 0$ для несвязанных комплексов антенны и РЦ в смысле переноса энергии. В нашем случае будем считать, что для подавляющего количества молекул антенны в комплексах ФСI ($\tau_1 = 63$ пс) величина $k_{\text{ЕЕТ}} = 1.0$, а для несвязанных молекул Хл $k_{\text{ЕЕТ}} = 0$. Тогда для оставшихся молекул ($\tau_2 = 0.45$ нс) фактор $k_{\text{ЕЕТ}} = 0.11$. Отсюда следует, что светособирающие пигменты фотосинтезирующих организмов вступают по крайней мере в два типа взаимодействий: 1) пигмент-белковые взаимодействия пигментов со структурными белками антенны и 2) взаимодействие пигмент-белковых комплексов с комплексами РЦ в плане переноса энергии (factor of “connectivity”) [41].

При добавлении наиболее активного антисептика октенидина в возрастающих концентрациях длительность самого короткого компонента постепенно возрастает от 63 пс до ~ 922 пс (табл. 1). При этом амплитуда этого компонента уменьшается от 95.7% до 10.6%; амплитуды τ_2 и τ_3 , наоборот, возрастают. Это может говорить о том, что под действием октенидина происходит уменьшение доли эффективно взаимодействующих антенных хлорофиллов с РЦ и одновременное увеличение доли слабо связанных либо вообще не связанных с РЦ комплексов. Таким образом, одной из мишеней октенидина является эффективность взаимодействия ССК—РЦ (фактор $k_{\text{ЕЕТ}}$). Увеличение τ_2 и τ_3 до ~ 5 –6 нс (значение τ_{f1} свободного Хл) указывает на то, что другой мишенью для октенидина является эффективность Хл-белковых взаимодействий. Другими словами, связь молекул Хл с белковым носителем в антенных комплексах ослабевает под действием антисептика, и с ростом концентрации агента молекулы Хл приобретают свойства свободного Хл.

Выше мы отметили, что действие октенидина в общих чертах аналогично действию детергента Тритон X-100. Это справедливо по отношению и к ФСII, и к ФСI. На рис. 3 показаны нормированные спектры поглощения и флуоресценции контрольных препаратов ФСI, а также спектры в присутствии октенидина, Тритона X-100 и ацетона. В последнем случае мы имеем раствор экстрагированного хлорофилла. Хорошо видно, что спектры поглощения и флуоресценции препаратов в присутствии октенидина и Тритона X-100 хорошо совпадают, в то время как ацетоновый экстракт демонстрирует гораздо большее коротковолновое смещение как максимума полосы поглощения, так и максимума полосы спектра флуоресценции. Однако, судя по времени жизни флуоресценции, которое для препарата в присут-

ствии 1% Тритона X-100 совпадает с таковым для экстракта, детергент полностью мономеризует пигментный аппарат ФСІ. Некоторое различие в спектрах является, очевидно, следствием оставшегося взаимодействия хлорофиллов с белковой матрицей, которое в ацетоне полностью утрачено.

Мы также исследовали влияние октенидина на процесс темнового восстановления фотоокисленного димера Хл РЦ ($P700^+$) после активации препаратов единичными вспышками света. Напомним, что использованные в настоящей работе образцы ФСІ содержали в качестве экзогенного донора электронов 2,6-дихлорфенолиндофенол в концентрации 10 мкМ и 5 мМ аскорбата натрия. Кинетика темнового восстановления $P700^+$ в общих чертах хорошо совпадает с таковой, наблюдавшейся ранее на аналогичном препарате ФСІ цианобактерий для случая низкой интенсивности возбуждающего импульса (рис. 5 в работе [42]). В контроле, как и присутствии октенидина, кинетика восстановления $P700^+$ хорошо описывается двумя экспонентами. Опираясь на известные литературные данные, можно предположить, что на шкале десятков-сотен миллисекунд фотоокисленный димер $P700^+$ в темноте получает электрон либо в обратной реакции от конечного акцептора $(F_A/F_B)^-$ ($\tau_1 \sim 54$ мс), либо от экзогенного донора 2,6-дихлорфенолиндофенола- H_2 ($\tau_2 \sim 520$ мс). При увеличении концентрации антисептика до 110 мкМ происходит уменьшение времени быстрого компонента до 25 мс и увеличение его вклада с 37 до 76%, а также соответствующее уменьшение вклада медленного компонента при сокращении его τ_2 до 220 мс.

Поскольку прямые реакции переноса электронов много быстрее обратных, можно использовать экспериментально измеряемую величину относительного вклада быстрого компонента τ_1 для расчета заселенности электронами акцептора $(F_A/F_B)^-$ (α): $\alpha = K_1/(K_1 + K_2)$, где K_1 – константа обратного переноса электрона от $(F_A/F_B)^-$ на $P700^+$, а K_2 – константа скорости переноса электрона от $(F_A/F_B)^-$ в среду на кислород или окисленную форму аскорбата. Если взять экспериментально полученные значения $\alpha = 0.37$ и $K_1 = 18.5$, то из рассчитанного значения константы K_2 для контроля получаем величину $\tau = 32$ мс. Можно считать, что это значение является характеристическим временем переноса электрона с терминального акцептора $(F_A/F_B)^-$ в среду. При концентрации октенидина 110 мкМ расчетное время переноса электрона от $(F_A/F_B)^-$ в среду увеличивается от 32 мс до 79 мс. В этих условиях время обратного переноса электрона $(F_A/F_B)^-$ на

$P700^+$ уменьшается от 54 мс до 25 мс. Иными словами, в присутствии октенидина электрон с $(F_A/F_B)^-$ быстрее возвращается назад на $P700^+$ и медленнее уходит во внешнюю среду. При этом скорость восстановления $P700^+$ от экзогенного донора возрастает более чем в два раза. Мы не знаем точных механизмов действия октенидина на процессы темнового восстановления $P700^+$, но можно предположить, что и здесь проявляются его свойства поверхностно-активного соединения. Разрыхление пигментной матрицы вызывает не только нарушение взаимодействия между порфиринами, но и открывает больший доступ для проникновения молекул красителя (2,6-дихлорфенолиндофенол- H_2) к сайту РЦ на люминальной стороне ФСІ, что приводит к увеличению скорости донирования электрона на $P700^+$. В то же время, на стромальной стороне нарушается стабилизация электрона на терминальном кластере $(F_A/F_B)^-$, в результате чего растет скорость обратного транспорта.

Октенидин влияет и на функциональные свойства кислородвыделяющего комплекса ФСІІ. Исследование воздействия октенидина на стационарную активность выделения кислорода в коровом комплексе ФСІІ показало, что скорость выделения кислорода снизилась с 1500 (в контрольном образце) до 560 и 230 мкМ $O_2 \cdot (mg \text{ хлора} \cdot ч)^{-1}$ в присутствии 50 мкМ и 100 мкМ октенидина соответственно (данные не приводятся).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из результатов исследования, основным эффектом, связанным с воздействием антисептиков, особенно октенидина, является существенное увеличение длительности флуоресценции и интенсивности свечения антенных хлорофиллов в исследуемых образцах. Очевидно, что октенидин в препаратах воздействует по меньшей мере на две явные мишени. Одной из них является взаимодействие антенных комплексов с реакционными центрами (связность, как описано в работе [41]). Нарушение эффективности такого взаимодействия приводит к увеличению как интенсивности (ϕ), так и времени жизни флуоресценции (τ) антенны. По эффективности влияния на величины ϕ и τ комплексов ФСІІ и ФСІ исследованные антисептики располагаются в следующем ряду: октенидин, мирамистин, хлоргексидин, пиклоксидин. Другой мишенью воздействия антисептиков является эффективность взаимодействия Хл с белковым носителем. Следствием последнего эффекта антисептика является появление свободных молекул Хл, длительность флу-

оресценции которых близка к t_{fl} свободных молекул пигмента.

В дополнение к двум упомянутым мишеням действия октенидина при изучении комплексов ФСІ мы обнаружили, что этот агент также замедляет скорость миграции энергии экситонов в антенном комплексе ФСІ. Эти комплексы содержат длинноволновую и коротковолновую формы молекул Хл в соотношении 90:2 [39]. При активации образцов при 400 нм возбуждение красных форм Хл происходит, главным образом, за счет миграции энергии от коротковолновых форм Хл. В этом случае скорость разгорания флуоресценции акцептора определяется скоростью миграции энергии из коротковолновой формы Хл [43]. Таким образом, изменение скорости миграции энергии будет отражено в изменении времени нарастания переднего фронта сигнала флуоресценции акцептора энергии. В наших предварительных экспериментах мы обнаружили, что при концентрации октенидина 140 мкМ крутизна переднего фронта кинетики флуоресценции увеличивается в ~2 раза (данные не приводятся). Следовательно, в присутствии 140 мкМ октенидина скорость миграции энергии от коротковолновых форм Хл к длинноволновым в антенном комплексе корового комплекса ФСІ замедляется в ~2 раза. Очевидными причинами такого явления могут являться пертурбации спектров поглощения и флуоресценции образцов, ориентационные эффекты, изменение межмолекулярных расстояний. Детальное раскрытие истинных причин замедления скорости миграции энергии в комплексах ФСІ при добавлении антисептиков требует дальнейшего исследования.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют, что катионные антисептики (особенно октенидин) могут значительно влиять на процессы преобразования световой энергии ключевыми фототрансформирующими комплексами ФСІІ и ФСІ, входящими в состав фотосинтетического аппарата цианобактерий, водорослей, высших растений. Поэтому такие антисептики, прежде всего — октенидин, следует использовать с определенной степенью осторожности. Широкое бесконтрольное их применение, а также бесконтрольное уничтожение накопленных препаратов после истечения срока годности может оказывать отрицательное воздействие на окружающую среду.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова (проект № 121032500058-7).

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. Lawrence J. R., Zhu B., Swerhone G. D. W., Topp E., Roy J., Wassenaar L. I., Rema T., and Korber D. R. Community-level assessment of the effects of the broad-spectrum antimicrobial chlorhexidine on the outcome of river microbial biofilm development. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 3541 (2008). DOI: 10.1128/AEM.02879-07
2. Östman M., Lindberg R. H., Fick J., Björn E., and Tysklind M. Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater. *Water Res.*, **115**, 318 (2017). DOI: 10.1016/j.watres.2017.03.011
3. Jesus F. T., Oliveira R., Silva A., Catarino A. L., Soares A. M. V. M., Nogueira A. J. A., and Domingues I. Lethal and sub lethal effects of the biocide chlorhexidine on aquatic organisms. *Ecotoxicology*, **22**, 1348–1358 (2013). DOI: 10.1007/s10646-013-1121-6
4. Gilbert P. and Moore L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J. Appl. Microbiol.*, **99**, 703 (2005). DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02664.x
5. Kholina E. G., Kovalenko I. B., Bozdaganyan M. E., Strakhovskaya M. G., and Orekhov P. S. Cationic antiseptics facilitate pore formation in model bacterial membranes. *J. Phys. Chem. B*, **124**, 8593 (2020). DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c07212
6. Kholina E., Bozdaganyan M., Strakhovskaya M., and Kovalenko I. Interaction of cationic antiseptics with cardiolipin-containing model bacterial membranes. *Med. Extrem.*, **3**, 36 (2021).
7. Strakhovskaya M. G., Lukashev E. P., Korvatovskiy B. N., Kholina E. G., Seifullina N. Kh., Knox P. P., and Paschenko V. Z. The effect of some antiseptic drugs on the energy transfer in chromatophore photosynthetic membranes of purple non-sulfur bacteria *Rhodobacter sphaeroides*. *Photosynth. Res.*, **147**, 197–209 (2021). DOI: 10.1007/s11120-020-00807-x
8. Knox P. P., Lukashev E. P., Korvatovskiy B. N., Strakhovskaya M. G., Makhneva Z. K., Bol'shakov M. A., and Paschenko V. Z. Disproportionate effect of cationic antiseptics on the quantum yield and fluorescence lifetime of bacteriochlorophyll molecules in the LH1-RC complex of *R. rubrum* chromatophores. *Photosynth. Res.*, **153**, 103–112 (2022). DOI: 10.1007/s11120-022-00909-8
9. McEwan A. G. Photosynthetic electron transport and anaerobic metabolism in purple non-sulfur phototro-

- phic bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **66**(1–3), 151–164 (1994). DOI: 10.1007/BF00871637
10. Reszczyńska E. and Hanaka A. Lipids composition in plant membranes. *Cell Biochem. Biophys.*, **78**, 401–414 (2020). DOI: 10.1007/s12013-020-00947-w
 11. *Photosystem I: the light-driven plastocyanin: ferredoxin-oxido-reductase*. Ed. by J. H. Golbeck (Springer, New York, 2006).
 12. Kern J. and Renger G. Photosystem II: Structure and mechanism of the water:plastoquinone oxidoreductase. *Photosynth. Res.*, **94**, 183–202 (2007). DOI: 10.1007/s1120-007-9201-1
 13. Teodor A. H. and Bruce B. D. Putting photosystem I to work: truly green energy. *Trends Biotechnol.*, **38**, 1329 (2020). DOI: 10.1016/j.tibtech.2020.04.004
 14. Kobayashi K., Yoshihara A., and Kubota-Kawai H. Evolutionary implications from lipids in membrane bilayers and photosynthetic complexes in cyanobacteria and chloroplasts *J. Biochem.*, **174**, 399 (2023). DOI: 10.1093/jb/mvad058
 15. Jia Y., Huang Y., Ma J., Zhang S., Liu J., Li T., and Song L. Toxicity of the disinfectant benzalkonium chloride (C14) towards cyanobacterium *Microcystis* results from its impact on the photosynthetic apparatus and cell metabolism. *J. Environ. Sci. (China)*, **135**, 198 (2024). DOI: 10.1016/j.jes.2022.11.007
 16. Grotjohann I., Jolley C., and Fromme P. Evolution of photosynthesis and oxygen evolution: Implications from the structural comparison of photosystems I and II. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 4743 (2004). DOI: 10.1039/B408980D
 17. Krausz E., Hughes J. L., Smith P., Pace R. and Årsköld S. P. Oxygen-evolving photosystem II core complexes: a new paradigm based on the spectral identification of the charge-separating state, the primary acceptor and assignment of low-temperature fluorescence. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **4**, 744–753 (2005). DOI: 10.1039/b417905f
 18. Loll B., Kern J., Saenger W., Zouni A., and Biesiadka J. Towards complete cofactor arrangement in the 3.0 Å resolution structure of photosystem II. *Nature*, **438**, 1040 (2005). DOI: 10.1038/nature04224
 19. Jordan P., Fromme P., Witt H. T., Klukas O., Saenger W., and Krauß N. Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution. *Nature*, **411**, 909 (2001). DOI: 10.1038/35082000
 20. Haag E., Irrgang K. D., Boekema E. J., and Renger G. Functional and structural analysis of photosystem II core complexes from spinach with high oxygen evolution capacity. *Eur. J. Biochem.*, **189**, 47 (1990). DOI: 10.1111/j.1432-1033.1990.tb15458.x
 21. Porra R. J., Thompson W. A., and Kriedemann P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, **975**, 384 (1989). DOI: 10.1016/S0005-2728(89)80347-0
 22. Smart L., Anderson S., and McIntosh L. Targeted genetic inactivation of the photosystem I reaction center in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *EMBO J.*, **10**, 3289 (1991). DOI: 10.1002/j.1460-2075.1991.tb04893.x
 23. Shen G., Zhao J., Reimer S. K., Antonkine M. L., Cai Q., Weiland S. M., Golbeck J. H., and Bryant D. A. Inactivation of the *Ruba* gene encoding a membrane-associated rubredoxin in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. Pcc 7002 causes a loss of photosystem I activity. *J. Biol. Chem.*, **277**, 20343 (2002). DOI: 10.1074/jbc.M201103200
 24. Maksimov E. G., Sluchanko N. N., Slonimskiy Y. B., Slutskaya E. A., Stepanov A. V., Argentova-Stevens A. M., Shirshin E. A., Tsoraev G. V., Klementiev K. E., Slatinskaya O. V., Lukashev E. P., Friedrich T., Paschenko V. Z., and Rubin A. B. The photocycle of orange carotenoid protein conceals distinct intermediates and asynchronous changes in the carotenoid and protein components. *Sci. Rep.*, **7**, 15548 (2017). DOI: 10.1038/s41598-017-15520-4
 25. Shan J., Wang J., Ruan X., Li L., Gong Y., Zhao N., and Kuang T. Changes of absorption spectra during heat-induced denaturation of photosystem II core antenna complexes CP43 and CP47: revealing the binding states of chlorophyll molecules in these two complexes. *Biochim. Biophys. Acta*, **1504**, 396 (2001). DOI: 10.1016/S0005-2728(00)00270-X
 26. de Paula J. C., Liefshitz A., Hinsley S., Lin W., Chopra V., Long K., Williams S. A., Betts S., and Yocum C. F. Structure-function relationships in the 47-kDa antenna protein and its complex with the photosystem II reaction center core: insights from picosecond fluorescence decay kinetics and resonance Raman spectroscopy *Biochemistry*, **33**, 1455 (1994). DOI: 10.1021/bi00172a023
 27. Turconi S., Kruij J., Schweitzer G., Rogner M., and Holzwarth A. R. A comparative fluorescence kinetics study of photosystem I monomers and trimers from *Synechocystis* PCC 6803 *Photosynth. Res.*, **49**, 263 (1996). DOI: 10.1007/BF00034787
 28. Cherubin A., Destefanis L., Bovi M., Perozeni F., Barginia I., Valbuena G. de la Cruz, D'Andrea C., Romeo A., Ballottari M., and Perduca M. Encapsulation of photosystem I in organic microparticles increases its photochemical activity and stability for *ex vivo* photocatalysis. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, **7**, 10435 (2019). DOI: 10.1021/acssuschemeng.9b00738
 29. Toporik H., Khmel'nitskiy A., Dobson Z., Riddle R., Williams D., Lin S., Jankowiak R., and Mazon Y. The structure of a red-shifted photosystem I reveals a red site in the core antenna. *Nat. Commun.*, **11**, 5279 (2020). DOI: 10.1038/s41467-020-18884-w
 30. Haehnel W., Holzwarth A. R., and Wendler J. Picosecond fluorescence kinetics and energy transfer in the antenna chlorophylls of green algae. *Photochem. Photobiol.*, **37**, 435 (1983). DOI: 10.1111/j.1751-1097.1983.tb04497.x
 31. Karukstis K. K. and Sauer K. Organization of the photosynthetic apparatus of the chlorina-f2 mutant of barley using chlorophyll fluorescence decay kinetics. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics*, **766**, 148 (1984). DOI: 10.1016/0005-2728(84)90226-3
 32. Moya I., Hodges M., and Barbet J.-C. Modification of room-temperature picosecond chlorophyll fluores-

- cence kinetics in green algae by photosystem II trap closure. *FEBS Lett.*, **198**, 256 (1986). DOI: 10.1016/0014-5793(86)80416-1
33. Hodges M. and Moya I. Time-resolved chlorophyll fluorescence studies on pigment-protein complexes from photosynthetic membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **935**, 41(1988). DOI: 10.1016/0005-2728(88)90106-5
 34. Keuper H. J. K. and Sauer K. Effect of photosystem II reaction center closure on nanosecond fluorescence relaxation kinetics. *Photosynth. Res.*, **20**, 85 (1989). DOI: 10.1007/BF00028623
 35. Haehnel W., Holzwarth A. R., and Wendler J. Picosecond fluorescence kinetics and energy transfer in the antenna chlorophylls of green algae. *Photochem. Photobiol.*, **37**, 435 (1983). DOI: 10.1111/j.1751-1097.1983.tb04497.x
 36. van der Weij-de Wit C. D., Dekker J. P., van Grondelle R., and van Stokkum I. H. M. Charge separation is virtually irreversible in photosystem II core complexes with oxidized primary quinone acceptor. *J. Phys. Chem. A*, **11**, 3947 (2011). DOI: 10.1021/jp1083746
 37. Andrizhiyevskaya E. G., Frolov D., van Grondelle R., and Dekker J. P. On the role of the CP47 core antenna in the energy transfer and trapping dynamics of photosystem II. *Chem. Chem. Phys.*, **6**, 4810 (2004). DOI: 10.1039/B411977K
 38. van Miegheem F. J. E., Searle G. F. W., Rutherford A. W. and Schaafsma T. J. The influence of the double reduction of Q_A on the fluorescence decay kinetics of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta*, **1100**, 198 (1992). DOI: 10.1016/0005-2728(92)90082-D
 39. Gobets B., van Stokkum I. H. M., Rögner M., Kruij J., Schlodder E., Karapetyan N. V., Dekker J. P., and van Grondelle R. Time-resolved fluorescence emission measurements of photosystem I particles of various cyanobacteria: a unified compartmental model. *Biophys. J.*, **81**, 407 (2001). DOI: 10.1016/S0006-3495(01)75709-8
 40. Byrdin M., Rimke I., Schlodder E., Stehlik D., and Roelofs T. A. Decay kinetics and quantum yields of fluorescence in photosystem I from *Synechococcus elongatus* with P700 in the reduced and oxidized state: are the kinetics of excited state decay trap-limited or transfer-limited? *Biophys. J.*, **79**, 992 (2000). DOI: 10.1016/S0006-3495(00)76353-3
 41. Steffen R., Kelly A. A., Huyer J., Dormann P., and Renger G. Investigations on the reaction pattern of photosystem II in leaves from *Arabidopsis thaliana* wild type plants and mutants with genetically modified lipid content. *Biochemistry*, **44**, 3134 (2005). DOI: 10.1021/bi048465f
 42. Vassiliev I. R., Jung Y.-S., Mamedov M. D., Semenov A. Yu., and Golbeck J. H. Near-IR absorbance changes and electrogenic reactions in the microsecond-to-second time domain in photosystem I. *Biophys. J.*, **72**, 301 (1997). DOI: 10.1016/S0006-3495(97)78669-7
 43. Gvozdev D. A., Lukashev E. P., Gorokhov V. V., and Paschenko V. Z. Photophysical properties of upconverting nanoparticle-phthalocyanine complexes. *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 911(2019). DOI: 10.1134/S0006297919080078

The Effect of Cationic Antiseptics on Spectral Characteristics and Electron Transport in Isolated Photosynthetic Complexes of Photosystems I and II

V.Z. Pashchenko*, E.P. Lukashev*, M.D. Mamedov**, D.A. Gvozdev*, B.N. Korvatovsky*, P.P. Knox*, and M.G. Strahovskaya*

*Department of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1/12, Moscow, 119234 Russia

**A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1/40, Moscow, 119992 Russia

The effects of cationic antiseptics (used in micromolar concentrations) on active PS II core complexes isolated from spinach plants with an intact water oxidation complex and on PS I core complexes from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 were studied. Out of the antiseptics studied (miramistin, chlorhexidine, octenidine and picloxidine) octenidine had the greatest effect. It was concluded that it exerts its action on PS II primarily through the influence on the structure of the light-harvesting antenna (CP43 and CP47) that deliver excitation energy to the reaction center. As a result, the chlorophyll molecules in this structure are destabilized and their optical and functional characteristics change. Similar effects were also observed in cyanobacterial PS I complexes. In addition, the antiseptic influenced the rate of the establishment of the equilibrium distribution of excited states across spectral forms in the antenna complex of PS I. A significant effect of octenidine on the electron transfer rate in the PS I complex was also found: in its presence, the recombination of photo-separated charges between the photoactive pigment P700 and the terminal acceptor F_A/F_B occurs twice as fast.

Keywords: photosystems I and II, antiseptics, octenidine, fluorescence, energy transfer, electron transfer