

УДК 577.355

© 1991 г.

К.В. ШАЙТАН, И.В. УПОРОВ, Е.П. ЛУКАШЕВ,
А.А. КОНОНЕНКО, А.Б. РУБИН**ФОТОКОНФОРМАЦИОННЫЙ ПЕРЕХОД — ПРИЧИНА ТЕМПЕРАТУРНЫХ И СВЕТОВЫХ ЭФФЕКТОВ ПРИ РЕКОМБИНАЦИИ ЗАРЯДОВ В РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРАХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ***Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет. 119899*

Развита теория фотоконформационных (фотофазовых) переходов в макромолекулярных структурах. На этой основе разработан новый метод анализа кинетики переноса зарядов в реакционных центрах фотосинтезирующих бактерий и проведено разделение собственно кинетических эффектов и эффектов, связанных с конформационной подвижностью. Показано, что кинетика медленной конформационной релаксации характеризуется как минимум двумя характерными временами с резко различной температурной зависимостью. Обсуждается физический механизм рассматриваемых процессов.

В настоящее время происходит переосмысление роли различных факторов в физическом механизме первичных стадий фотосинтеза. Ранее полагали, что температурные изменения скоростей переноса электрона практически целиком обусловлены электронно-колебательными взаимодействиями [1—4], как это имеет место для окислительно-восстановительных реакций в растворах [5, 6]. Эта точка зрения поддерживалась результатами весьма удовлетворительной интерпретации резкой двухфазной температурной зависимости скорости окисления цитохрома с фотосинтетическим реакционным центром (РЦ) в клетках пурпурных бактерий [7]. Однако основанный на этих данных вывод о сильной электронно-колебательной связи при изменении зарядового состояния в пигментной системе РЦ впоследствии не нашел подтверждения [8, 9]. Вместе с тем все более отчетливо обнаруживается физическая картина, в которой регуляция процессов электронного транспорта в РЦ осуществляется за счет микроконформационных движений донорно-акцепторных групп и элементов белкового интерьера, в частности ароматических аминокислотных остатков [10—16]. Имеющиеся данные о корреляции температурных и других зависимостей скоростей элементарных процессов в РЦ и параметров, характеризующих динамику белка [16—19], требуют более тщательного анализа.

Проблема взаимосвязи конформационных флуктуаций и электронного транспорта имеет и совершенно самостоятельный интерес. Изменение конформации в ответ на внешнее воздействие, например фотоконформационный переход, дает возможность для самоорганизации химических процессов в сложных структурах и для их регулирования [13, 20]. В данной работе рассматривается механизм регуляции процесса рекомбинации зарядов в системе фотоокисленный димер бактериохлорофилла — первичный хинонный акцептор РЦ пурпурных бактерий ($P^+Q_A^- - PQ_A$). Это один из наиболее простых и ярких примеров, показывающий физический смысл электронно-конформационного взаимодействия и его исполь-

зования для сопряжения отдельных стадий функциональных процессов и создания обратных связей в биомолекулярной системе.

Как известно, вслед за быстрым разделением зарядов в РЦ и образованием ион-радикальной пары $P^+Q_A^-$ наблюдается рекомбинация зарядов, кинетика которой зависит от условий эксперимента [21—27]. Принципиальной здесь является большая чувствительность кинетики рекомбинации к условиям предварительной световой адаптации. Так, как впервые было обнаружено в работе Нокса и соавт. [21] и позднее подтверждено Клейнфельдом и соавт. [25], эффективная скорость рекомбинации для РЦ, замороженных при насыщающих интенсивностях света, близка к скорости рекомбинации при комнатных температурах и почти в 3 раза меньше, чем скорость рекомбинации для тех же образцов, замороженных в темноте. Этот факт, наряду с неэкспоненциальностью кинетики рекомбинации при промежуточных температурах и интенсивностях действующего света несомненно свидетельствует о релаксационных процессах в РЦ после быстрого разделения зарядов и о непосредственном влиянии этой релаксации на кинетику рекомбинации. Подавление релаксационных процессов и торможение конформационной подвижности в одной и той же области низких температур [28] также указывает на непосредственное участие конформационных степеней свободы в рекомбинации $P^+Q_A^-$ и в релаксации белкового окружения к состоянию «адаптированному к свету». С точки зрения физики, здесь имеются два принципиальных момента. При изменении зарядового состояния донорно-акцепторной пары изменяется баланс сил, определяющий равновесную конформацию системы, адаптированной к темноте. Вследствие изменения этого баланса системы будут стремиться перейти в новое положение равновесия. Изменение интенсивности света в данном случае будет менять эффективную вероятность существования ион-радикальной пары $P^+Q_A^-$ и вследствие этого будет происходить изменение средней конформации системы. Поэтому данный переход мы называем фотоконформационным [20]. Согласно развитым ранее представлениям о динамической организации конформационных степеней свободы, основанных в значительной степени на данных мессбауэровской спектроскопии [12—13, 29—31] и на результатах компьютерных экспериментов [32, 33], переход из одного конформационного состояния в другое осуществляется по механизму ограниченной диффузии и описывается уравнениями типа Фоккера — Планка. Изменение конформации в условиях микрогетерогенной среды приводит к изменению параметров, определяющих собственно вероятность туннелирования электрона $Q_A^{\pm} \xrightarrow{e^-} P^+$. В настоящее время нельзя дать однозначного ответа на вопрос, что здесь играет основную роль — изменение расстояния, ориентации, параметров акцептирующих мод или взаимодействие между π -мостиками, виртуально участвующими в переносе заряда. Однако полагая, что эти изменения относительно малы по сравнению с их средними значениями, мы можем ограничиться первым членом разложения скорости по величине этих изменений. Тем самым мы получаем замкнутую физическую модель для описания сопряжения кинетики рекомбинации и фотоконформационного перехода.

Отметим отличие развиваемых представлений от вариантов интерпретации рассматриваемых эффектов, предлагавшихся ранее [25—27]. Ранее [22, 25] неэкспоненциальная кинетика рекомбинации и эффекты световой адаптации РЦ объяснялись наличием распределения по скоростям рекомбинации k_r и его температурным изменением, которое было индуцировано распределением по расстояниям R в паре $P^+ - Q_A^-$ причем предполагалось, что эти распределения различны для состояний РЦ, адаптированных к темноте и свету соответственно. Вышеуказанные распределения считались статичными, и динамику их эволюции вследствие конформационной релаксации не рассматривали. В другой группе работ [26—27] рассматривали сопряжение между конформационными изменениями и кинетикой рекомбинации. При этом конформационные изменения вводили в двухуровневом приближении. Подчеркнем, что в рамках этих моделей вопрос

о природе температурных эффектов остается открытым, так как отсутствует конкретная возможность количественно разделить температурные зависимости собственно скорости рекомбинации k_r и скорости конформационной релаксации. Излагаемый ниже динамический подход дает идею такой перегруппировки кинетических данных, в которой эти эффекты разделяются.

Рассмотрим перенос от донора на акцептор с учетом конформационной лабильности переносчиков. Наличие конформационной подвижности учитывается введением конформационной координаты (КФК) x . Эта координата может описывать взаимное расположение или взаимную ориентацию донора и акцептора или окружающих их группу. Введем в рассмотрение две функции $P_A(x, t)$ и $P_{A^-}(x, t)$, являющиеся плотностями вероятности двух случайных событий: нейтрального и заряженного состояния акцептора при значении КФК x . Изменение этих функций может происходить за счет процессов двух типов: перенос заряда и движение по КФК. Причем эти процессы могут быть взаимосвязаны: в некоторых областях конформационного пространства перенос заряда может быть затруднен, а в некоторых, наоборот, облегчен. Временная эволюция введенных функций описывается с помощью системы уравнения Фоккера — Планка:

$$\frac{\partial P_A}{\partial t} = D_A \frac{\partial}{\partial x} \left(\frac{\partial P_A}{\partial x} + \frac{1}{kT} P_A \frac{\partial U_A}{\partial x} \right) - k_0(x) P_A + k_r(x) P_{A^-}, \quad (1)$$

$$\frac{\partial P_{A^-}}{\partial t} = D_{A^-} \frac{\partial}{\partial x} \left(\frac{\partial P_{A^-}}{\partial x} + \frac{1}{kT} P_{A^-} \frac{\partial U_{A^-}}{\partial x} \right) + k_0(x) P_A - k_r(x) P_{A^-}.$$

Первые члены в правых частях уравнений (1) описывают изменение P_A и P_{A^-} за счет диффузионного движения по КФК в потенциальном поле, задаваемом с помощью функций U_A и U_{A^-} соответственно. Потенциальные энергии акцептора в нейтральном и заряженном состоянии, как указывалось ранее, различны. По крайней мере эти различия должны проявляться в равновесных значениях КФК в нейтральном и заряженном состояниях акцептора. Для дальнейших вычислений мы примем следующую форму U_A и U_{A^-} :

$$U_A = \frac{1}{2} K(x - \Delta)^2; U_{A^-} = \frac{1}{2} K(x + \Delta)^2.$$

Представление потенциальной энергии параболой вполне оправдано вблизи минимума. Выбрав потенциальные функции в виде (2) мы пренебрегаем возможным изменением константы упругости K и предполагаем, что при изменении зарядового состояния акцептора изменяется лишь его равновесная КФК, и вводим обозначения $x_{\min} = \Delta$ в нейтральном состоянии и $x_{\min} = -\Delta$ в заряженном состоянии Q_{A^-} . D_A и D_{A^-} являются коэффициентами диффузии для конформационной моды в нейтральном и заряженном состояниях акцептора и полагаются равными друг другу.

Второй и третий члены в правых частях выражения (1), пропорциональные $k_0(x)$ и $k_r(x)$, описывают изменения функций плотности вероятности за счет процессов переноса заряда. Функция $k_0(x)$ есть скорость переноса заряда на акцептор при данном значении конформационной координаты x , а $k_r(x)$ — константа скорости рекомбинации с акцептором при тех же условиях. Для реакций фотопереноса заряда величина скорости $k_0(x)$ пропорциональна интенсивности возбуждающего света и может варьировать в широких пределах. Предполагая изменения конформационных переменных относительно небольшими, разложим функции $k_0(x)$ и $k_r(x)$ в ряд по x и ограничимся линейными членами:

$$k_0(x) = k_0 + \beta x; k_r(x) = k_r + \alpha x. \quad (3)$$

Эта аппроксимация, естественно, несправедлива в областях конформационного пространства, где выражения (3) становятся отрицательными. Однако надо

иметь в виду, что формулы (3) реально используются при малых x и при малых значениях коэффициентов α и β . В дальнейшем рассмотрении коэффициенты α и β будут удовлетворять условию положительности (3) в значимой области конформационного пространства.

Помимо задания в явной форме функций U_A , U_{A^-} , $k_0(x)$ и $k_A(x)$ необходимо также дополнить систему (1) граничными и начальными условиями. В качестве граничных условий выступает естественное требование интегрируемости суммы функции P_A и P_{A^-} . Причем интеграл от этой суммы по исследуемой области конформационного пространства равен 1. Начальные значения $P_A(x, 0)$ и $P_{A^-}(x, 0)$ задаются в соответствии с анализируемой ситуацией.

Методы решения системы уравнений (1) с функциями вида (2), (3) подробно рассмотрены ранее [20]. Обсудим кратко вид стационарных решений системы (1). При постоянном действии света на систему в зависимости от его интенсивности устанавливается равновесие между нейтральной и заряженной формой акцептора. При интенсивном освещении равновесие сдвинуто в сторону заряженной формы и занята область конформационного пространства размером $\sim \sqrt{kT/K}$, соответствующая заряженному акцептору, т.е. $P_A \ll 1$, а $P_{A^-}(x) \sim 1$ при $x \sim -\Delta$. В отсутствии освещения наблюдается обратная картина: акцептор находится в нейтральном состоянии и наиболее вероятное значение конформационной координаты равно Δ . Среднее значение координаты акцептора безотносительно его зарядового состояния плавно изменяется при возрастании интенсивности падающего света от $x \sim \Delta$ до $x \sim -\Delta$ (рис. 1). Такое поведение системы интерпретируется нами как фотоконформационный переход.

При быстром охлаждении полученное стационарное распределение ($P_A + P_{A^-}$) фиксируется, но ввиду конечной скорости замораживания и увеличения $\tau = kT/D$ при понижении T происходит некоторое изменение функции распределения. Однако, как показывает анализ, изменения среднего значения координаты для стационарной функции распределения не слишком велики (рис. 1, а, б) и при замораживании на свету фиксируется состояние с кинетическими характеристиками, близкими к исходным. Таким образом, изменяя интенсивность освещения образцов РЦ, мы можем изменять параметр k_0/k_r в широких пределах и фиксировать при замораживании определенные конформационные состояния. Проведенная серия (см. ниже) кинетических измерений (рис. 2) подтверждает представления о фотоконформационном переходе на акцепторном участке РЦ. Увеличение интенсивности адаптирующего света формирует состояние системы, кинетика рекомбинации которого даже при низких температурах практически совпадает с кинетикой процесса при $T = 300$ К. Иными словами, при комнатных температурах в ответ на насыщающую вспышку света и образование Q_{A^-} успевает произойти конформационный переход. При низких температурах конформационная подвижность заторможена и это определяет различие в кинетике на рис. 2 (кривые 1 и 2). Однако при замораживании на свету и при постепенном увеличении интенсивности освещения система фиксируется в состоянии, все более близком к равновесному положению Q_{A^-} , что и отражается в последовательном изменении кинетических кривых на рис. 2 (кривые 3—5).

Отметим еще одну интересную особенность стационарного состояния заряда на акцепторе. Оказывается, что для системы (1) точное значение наиболее вероятной КФК акцептора в заряженном состоянии, вообще говоря, не совпадает с положением минимума потенциала U_{A^-} и равно:

$$\bar{x}_{A^-} = -\Delta - \alpha \chi^2 \tau, \quad (4)$$

т.е. имеет место сдвиг наиболее вероятного значения КФК по сравнению с точкой минимума потенциала U_{A^-} . Этот сдвиг имеет динамическую природу и связан с неоднородностью конформационного пространства по отношению к скорости рекомбинации зарядов. Действительно, поскольку при положительных значениях параметра α в областях конформационного пространства с $x < 0$ рекомбинация

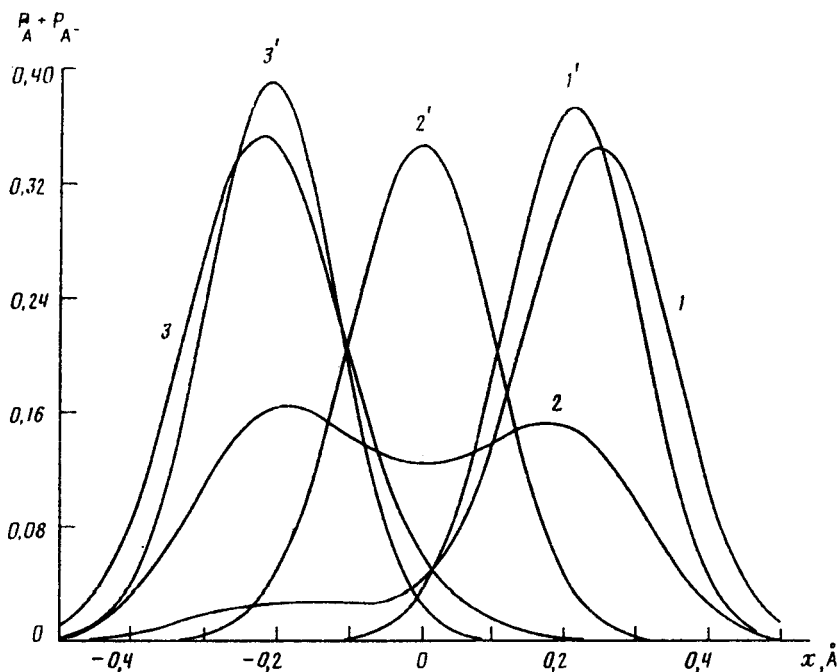


Рис. 1. Вид суммарной функции плотности вероятности $[P_A(x) + P_A'(x)]$ при следующих значениях параметров: 1 — $k_0/k_r = 0,1$; $\tau = 20$ мс; 2 — $k_0/k_r = 1$; $\tau = 20$ мс; 3 — $k_0/k_r = 10$; $\tau = 20$ мс; 1' — $k_0/k_r = 0,1$; $\tau = 1,14$ мс; 2' — $k_0/k_r = 1$; $\tau = 1,14$ мс; 3' — $k_0/k_r = 10$; $\tau = 1,14$ мс. Остальные параметры: $x_0(T = 300 \text{ K}) = 0,1 \text{ Å}$, $\Delta = 0,25 \text{ Å}$, $\beta = 0$, $k_r = 0,0207 \text{ мс}^{-1}$, $\alpha = 0,01 \text{ мс}^{-1} \text{ Å}^{-1}$.

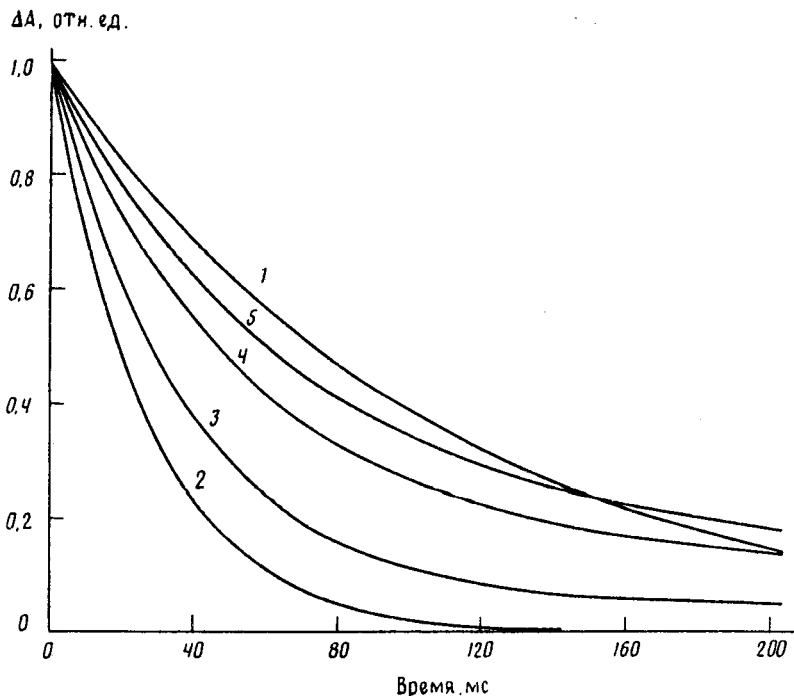


Рис. 2. Кинетические кривые процесса темновой рекомбинации $P' \rightarrow Q_{A-}$ в различных условиях. 1 — при температуре 300 К; 2 — после замораживания в темноте до 80 К; 3—5 — эволюция кинетических кривых при замораживании препарата РЦ до 80 К на фоновом свете соответственно интенсивности $1,2 \cdot 10^2 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$, $7 \cdot 10^2 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$ и $2 \cdot 10^3 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$. Препарат РЦ бактерий *Rhodospseudomonas sphaeroides* был ресуспендирован в 70%-ном глицерине и содержал 10^{-2} М о-фенантролина

заряда с акцептора происходит медленнее, чем в областях $x > 0$, то вероятность для акцептора остаться в заряженном состоянии в области $x < 0$ выше. За счет этого механизма и происходит сдвиг среднего положения восстановленной формы акцептора.

Поведение нестационарных функций $P_A(x, t)$ и $P_{A^-}(x, t)$ после выключения освещения можно разбить на два этапа. На первом этапе, который длится время $t < \tau$ (τ — характерное время конформационной релаксации), происходит формирование колоколообразной формы функций P_A и P_{A^-} , а затем при $t > \tau$ в процессе эволюции форма колоколообразных функций P_A и P_{A^-} практически не меняется, но происходят изменения амплитуд и положений максимумов. Особо интересно рассмотреть, как действует на систему короткая интенсивная вспышка света. Эта ситуация типична для экспериментов по импульсной спектродетекции фотосинтезирующих объектов. Перед вспышкой света, если система находится в темноте, в ней нет акцепторов в заряженной форме, т.е.:

$$P_A(x, 0) = 0; P_{A^-}(x, 0) \sim \exp\{-U_A/kT\}. \quad (5)$$

При вспышке света, достаточно интенсивной, но короткой, за время ее действия происходит полный перенос заряда на акцептор, однако, конформационное равновесие за время действия вспышки в системе не устанавливается. Таким образом, к концу действия интенсивной вспышки света ($k_0\tau^* \gg 1$) устанавливаются следующие распределения для Q_A и Q_{A^-} :

$$P_A(x, \tau^*) \approx 0; P_{A^-}(x, \tau^*) \approx P_A(x, 0). \quad (6)$$

Поскольку функция распределения заряженных акцепторов оказалась в этом случае неравновесной по отношению к соответствующей поверхности потенциальной энергии $U_A(x)$, то происходит конформационная релаксация. Этот процесс сопровождается также рекомбинацией зарядов. Эволюция функции $P_{A^-}(x, t)$ для рассматриваемого случая приведена на рис. 3. Абсцисса максимума этой функции смещается по закону:

$$\xi(t) = -\Delta - \alpha x_0^2 t + (2\Delta + \alpha x_0^2 \tau) e^{-t/\tau}. \quad (7)$$

С течением времени за счет рекомбинации зарядов появляется нейтральная форма акцептора и возрастает амплитуда функции $P_A(x, t)$, локализованной в области $x = \Delta$. Более детальный анализ показывает, что в рассматриваемом случае вероятность нахождения акцептора в заряженной форме можно быть определена формулой, приведенной в работе Упорова и Шайтана [20]:

$$P_A(t) = \int P_{A^-}(x, t) dx = \exp\left\{-\int_0^t k_A(\xi(t)) dt\right\}. \quad (8)$$

Из формулы (8) следует неэкспоненциальность кинетики рекомбинации заряда, если константа скорости зависит от КФК. Формула (8) представляет собой точный результат в случае линейной зависимости $k_A(x)$, однако, численный анализ показывает, что кинетика вида (8) будет наблюдаться и в случае $k_A(x)$, достаточно произвольно зависящих от x , на временах, больших времени конформационной релаксации. Формула (8) позволяет по-новому подойти к анализу кинетики рекомбинации. Принципиальной здесь является возможность определения константы скорости рекомбинации в различные моменты времени и тем самым определение неоднородности конформационного пространства по отношению к переносу заряда.

По предложенной модели нами обработаны данные по кинетике восстановления фотоокисленного бактериохлорофилла (Р) первичным хиноном Q_A — в условиях, когда прямой перенос электрона в системе акцепторов Q_A - Q_B - $Q_A Q_B$ был блокирован орто-фенантролином. Препараты РЦ получали, как описано ранее [34]. Фотоиндуцированные изменения поглощения Р при 870 нм регистрировали на компьютеризованном однолучевом импульсном дифференциальном спектрофотометре, описанном ранее [35], снабженном криостатом, позволявшим изменять температуру образца от 300 до 80 К. Для фотовозбуждения

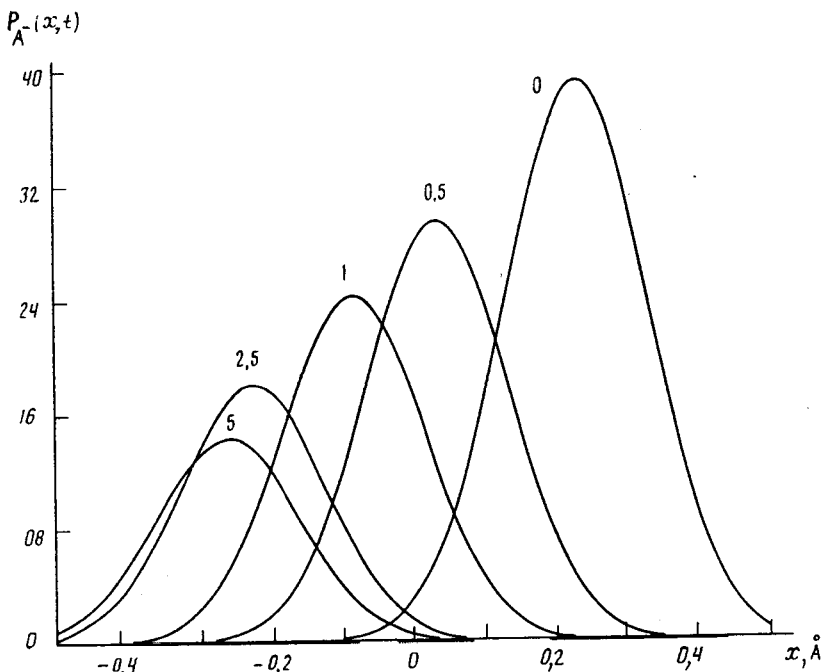


Рис. 3. Эволюция функции $P_A(x, t)$ в ответ на короткую вспышку света. Цифры над максимумами кривых соответствуют времени, прошедшему после вспышки света в единицах $\tau = 20$ мс. Остальные параметры: $x_0 = 0,1$ Å, $\beta = 0$, $k_0 = 0$, $k_r = 0,0207$ мс⁻¹, $\alpha = 0,064$ мс⁻¹ Å⁻¹.

использовали ксеноновую лампу-вспышку ИСП-100-3М (энергия вспышки 9 мДж, длительность на полувысоте профиля 10 мкс, спектральный состав 400—600 нм). В качестве источника постоянного света, используемого для световой адаптации, служила лампа накаливания КГМ-300 (белый свет, максимальная интенсивность 200 Вт·м⁻²).

Полученные кинетические кривые ~~флуоресценции~~ ион-радикала $P^*Q_A \rightarrow PQ_A$ естественно позволили определить вероятность нахождения Q_A в восстановленном состоянии. Экспериментальные значения логарифмировали, а затем проводили регуляризацию экспериментальной зависимости путем аппроксимации полиномами. Вслед за этим вычисляли значения мгновенной константы скорости рекомбинации $k_r(t)$:

$$k_r(t) = -\partial / \partial \ln P_A(t). \quad (9)$$

Результаты обработки представлены на рис. 4. Кривая 2 получена логарифмированием экспериментальной кинетической кривой с последующей аппроксимацией ее полиномом 4-й степени. Кривая 1 соответствует мгновенному значению константы скорости. Вертикальные черточки соответствуют доверительным интервалам, определенным методом линейной регрессии.

На рис. 5 представлены результаты обработки кинетики рекомбинации при различных температурах. Четыре серии точек соответствуют начальным значениям константы скорости рекомбинации в различные моменты времени. Разработанный выше подход позволяет непосредственно наблюдать за процессом конформационной релаксации. Из приведенных графиков видно, что при высоких температурах константа рекомбинации не зависит от времени, т.е. конформационная релаксация происходит за времена, существенно меньшие, чем характерное время рекомбинации зарядов в начальном конформационном состоянии ($k_r^{-1} \sim$

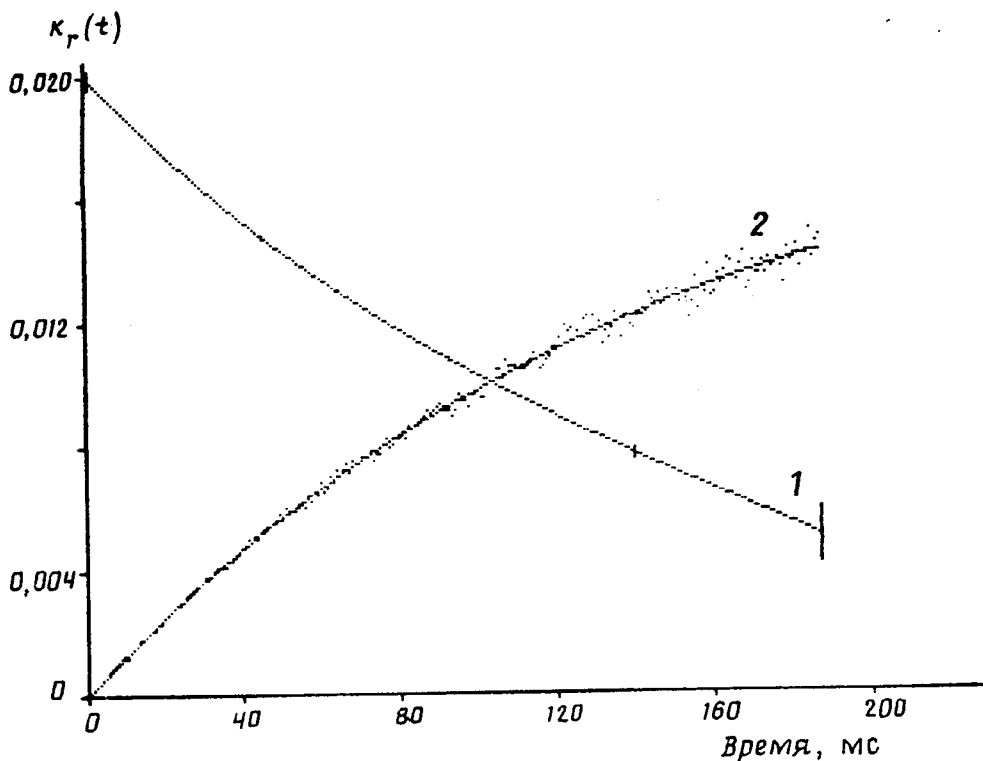


Рис. 4. Типичная зависимость мгновенной константы рекомбинации $k_r(t)$ (1) от времени, вертикальными чертами указан доверительный интервал. 2 — натуральный логарифм соответствующей кинетики, т.е. $\ln P_A(t)$, для образца, замороженного на свету до 100 К

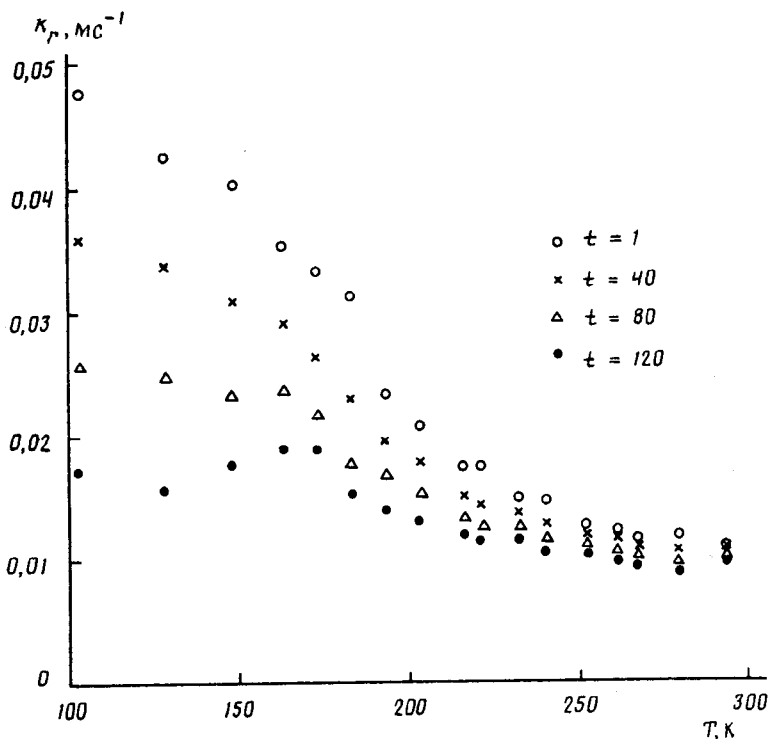


Рис. 5. Значения мгновенной константы рекомбинации $k_r(t)$ при различных временах после вспышки и для различных температур

~80 мс). При низких температурах $T < 200$ К конформационная релаксация замедляется и кинетика фотоконформационного перехода накладывается на кинетику рекомбинации. Из рис. 5 видно, что размораживание конформационной динамики происходит в районе температур ~200 К. Подобный вывод был сделан также ранее из анализа данных мессбауэровской спектроскопии [17]. Это указывает на кооперативный характер движений акцептора и его окружения.

Анализ рис. 5 приводит нас к следующим выводам. Суммарное изменение скорости рекомбинации как за счет повышения температуры от 100 до 300 К, так и вследствие конформационной релаксации за времена, превосходящие минимальное время системы регистрации $t \sim 1$ мс, лежит в диапазоне от 0,048 до 0,01 мс^{-1} . При этом за время ~120 мс заведомо происходит практически полная конформационная релаксация во всем интервале температур. Амплитуда температурной зависимости k_r (120 мс) от 100 до 300 К показывает, что максимальное изменение скорости рекомбинации отрелаксированного состояния попадает в диапазон 0,02—0,01 мс^{-1} . То, что это является именно температурной зависимостью k_r для отрелаксированного состояния, следует из практического совпадения значений скорости k_r (120 мс) при 100 К и скорости рекомбинации состояния, адаптированного к свету при той же температуре. Рассмотрим далее изменения $k_r(t)$ при фиксированных температурах, которые отражают глубину конформационного перехода в соответствующие моменты времени. При $T \gg 250$ К практически полная релаксация происходит за времена $\tau \sim 1$ мс. В области $T < 200$ К становятся заметными вклады процессов с характерными временами ~80 мс и при $T < 220$ К — вклады процессов с характерными временами ~40 мс.

Наличие четкой временной зависимости $k_r(t)$ даже при 100 К практически исключает возможность интерпретации верхней кривой на рис. 5 как температурной зависимости k_r в нерелаксированном состоянии. Таким образом, из данных рис. 5 следует, что собственное температурное изменение скорости рекомбинации $Q_A \xrightarrow{h\nu} P^+$ в диапазоне 100—300 К не превышает 25% от общего изменения этой величины при любых конформациях. Следовательно, наблюдаемые температурные и световые эффекты в кинетике этого процесса обусловлены в основном конформационным переходом (см. также [10, 26, 27]). Такой механизм регуляции кинетики внутрибелковых процессов, по-видимому, не уникален и имеет глубокий смысл. Использование донорно-акцепторных пар, скорость реакции для которых при прочих равных условиях не зависит от температуры, позволяет регулировать процесс только за счет вариации макромолекулярной структуры и изменения ближайшего окружения при конформационных движениях. Таким способом может быть достигнуто целенаправленное изменение кинетических параметров и согласована цепь последовательных превращений. Причем представляется особенно интересным, что согласование скоростей биохимических процессов может быть достигнуто не заменой реагентов, выбор которых ограничен, а вариацией структуры и микроокружения, которые в конечном счете определяются аминокислотной последовательностью, подбираемой в ходе эволюции [36].

В связи с рассматриваемой задачей возникает и ряд физических проблем, относящихся к динамике микрогетерогенных структурированных сред. Из формул (3), (7) и (8) следует, что на рис. 5 расстояние по вертикали от наибольшего уровня 0,048 мс^{-1} до пересечения с соответствующей кривой пропорционально изменению конформационной координаты x за соответствующее время при заданной температуре. Обращает на себя внимание прежде всего достаточно сложная кинетика релаксации. Так, значительный и резко возрастающий при увеличении температуры вклад в конформационную релаксацию дают процессы с характерными временами $t \leq 1$ мс (рис. 5, верхняя кривая).

В одноэкспоненциальном приближении может быть определена температурная зависимость времени быстрой релаксации (рис. 6). Из рис. 5 видно, что наряду

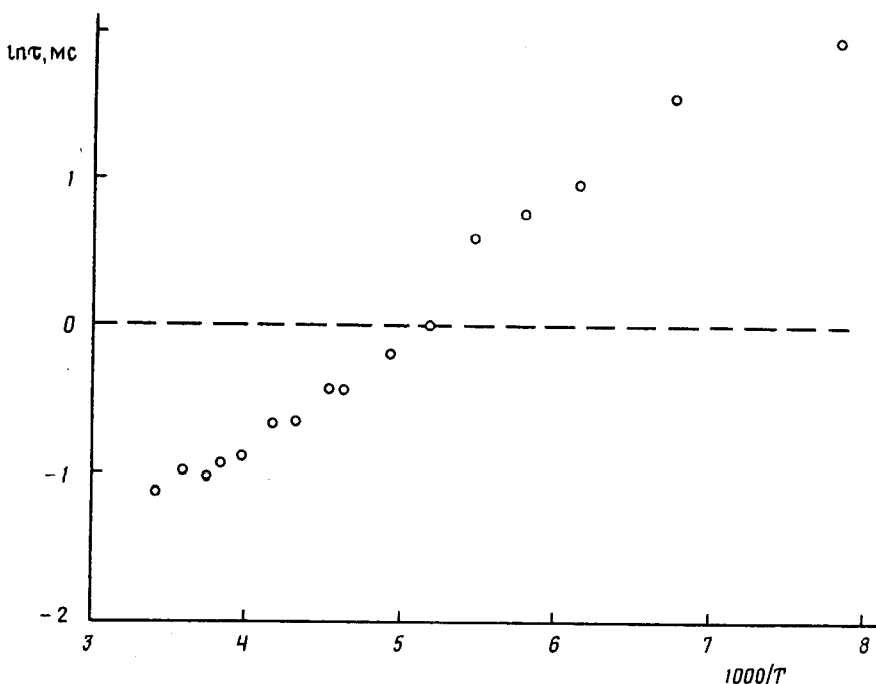


Рис. 6. Время быстрой конформационной релаксации в аррениусовских координатах. Энергия активации $E_a = 1,4$ ккал/моль

с быстрыми процессами при низких температурах основной вклад в релаксацию дают процессы с временами $t \sim 100$ мс. Вклад этих процессов незначителен при $T > 200$ К. Весьма важно, что процессы с временами ~ 100 мс, имеют место и при $T \sim 100$ К, обеспечивая практически полную релаксацию состояния Q_A^- при низких температурах. Наличие по крайней мере двух релаксационных процессов с существенно разной температурной зависимостью напоминает α - и β -релаксацию, имеющую место во многих стеклах [37]. Вместе с тем необходимо отметить, что скорость температурных изменений времени релаксации в данном случае намного ниже, чем в типичных стеклах на основе смеси органических молекул, и прямое отождествление с α - и β -процессами преждевременно. Большая гетерогенность является несомненно фактором, делающим соответствующие температурные изменения более плавными. Весьма четкое разделение релаксационного процесса на две составляющие может являться следствием существенного различия структурных элементов, участвующих в данном процессе, например, собственно молекулы убихинона, и, с другой стороны, — небольших групп и молекул (например, воды). В качестве дополнительной причины наблюдаемых релаксационных эффектов могут, по-видимому, выступать существенные различия в характеристиках взаимодействия гидрофильных и гидрофобных элементов структуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Vault D. // Quart. Rev. Biophys. 1980. V. 13. P. 387—564.
2. Jortner J. // Biochim. et biophys. acta. 1980. V. 594. P. 193—230.
3. Kuznetsov A.M., Sondergard N.C., Ulstrup J. // Chem. Phys. 1978. V. 29. P. 383—390.
4. Shaitan K.V., Rubin A.B. // J. Theor. Biol. 1980. V. 86. P. 203—211.
5. Догонадзе Р.Р., Кузнецов А.М. // Итоги науки и техники. Сер. физическая химия. Кинетика. М.: ВИНТИ, 1973. Т. 2, 209 с.
6. Kestner N.R., Logan L.J., Jortner J. // J. Phys. Chem. 1974. V. 78. P. 2148—2166.

7. De Vault D., Chance B. // Biophys. J. 1966. V. 6. P. 825—877.
8. Kuhn H. // Phys. Rev. A. 1986. V. 34. P. 34—9—3425.
9. Bixon M., Jortner J. // FEBS Lett. 1986. V. 200. P. 303—308.
10. Шайтан К.В., Рубин А.Б. // Молекуляр. биология. 1981. Т. 15. С. 368—386.
11. Шайтан К.В., Рубин А.Б. // Молекуляр. биология. 1982. Т. 16. С. 794—807.
12. Шайтан К.В., Рубин А.Б. // Молекуляр. биология. 1983. Т. 17. С. 1280—1296.
13. Шайтан К.В., Рубин А.Б. // Биофизика. 1985. Т. 30. С. 517—526.
14. Knapp E.W., Fisher S.H. // J. Chem. Phys. 1987. V. 87. P. 3888—3897.
15. Plata M., Michel-Beyerle M.E., Bixon M., Jortner J. // FEBS Lett. 1989. V. 249. P. 70—74.
16. Rubin A.B., Shaitan K.V., Kononenko A.A., Chamarovski S.K. // Photosynth. Res. 1989. V. 22. P. 219—231.
17. Рубин А.Б., Кононенко А.А., Шайтан К.В. // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. М.: ВИНТИ, 1987. Т. 21, 160 с.
18. Кононенко А.А., Рубин А.Б. // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева. 1986. Т. 31. N 6. С. 502—507.
19. Kononenko A.A., Rubin A.B. // Interactions of Water in Ionic and Organic Hydrates / H. Kleeberg, ed. Berlin; Heidelberg; New York; London; Paris; Tokyo: Springer-Verlag. 1987. P. 185—188.
20. Упоров И.В., Шайтан К.В. // Хим. физика. 1990. Т. 9. С. 128—139.
21. Нокс П.П., Лукашев Е.П., Кононенко А.А., Венедиктов П.С., Рубин А.Б. // Молекуляр. биология. 1977. Т. 11. С. 1090—1099.
22. Feher G., Okamura N., Kleinfeld D. Electron Transfer Reactions in Bacterial Photosynthesis. Charge Recombination Kinetics as a Structure Probe // Austin R., Bunks E., Chance B., De Vault D., Dutton P.L., Frauenfelder H., Goldanskii V.I. eds. N.Y.: Springer-Verlag. 1987. P. 399—421.
23. Kirmaier G., Blankenship R.E., Holten D. // Biochim. et biophys. acta. 1986. V. 850. P. 275—285.
24. Kleinfeld D., Okamura M.Y., Feher G. // Biochem. 1984. V. 23. P. 5781—5786.
25. Kleinfeld D., Okamura M.Y., Feher G. // Biochem. 1984. V. 23. P. 5781—5786.
26. Лукишене Ж.Б., Лукашев Е.П., Лукиас А.К., Носов В.Н., Захарова Н.И., Кононенко А.А., Рубин А.Б. // Молекуляр. биология. 1986. Т. 20. С. 233—241.
27. Горбач В.В., Лукашев Е.П., Нокс П.П., Комаров А.И., Кононенко А.А., Верхотуров В.Н., Петров Э.Г., Рубин А.Б. // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1986. N 1. С. 11—23.
28. Нокс П.П., Быстряк И.Н., Котельников А.И., Шайтан К.В., Кононенко А.А., Захарова Н.И., Лихтенштейн Г.И., Рубин А.Б. // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1989. N 5. С. 651—659.
29. Шайтан К.В., Рубин А.Б. // Молекуляр. биология. 1980. Т. 14. С. 1046—1058.
30. Knapp E.W., Fisher S.F., Parak F. // J. Chem. Phys. 1983. V. 78. P. 4701—4711.
31. Basovets S.K., Uporov I.V., Shaitan K.V., Krupyanski Yu.F., Kurinov I.V., Suzdalev I.P., Rubin A.B., Goldanskii V.I. // Hyperfine Interactions. 1988. V. 39. P. 369—378.
32. Ichiye T., Olafson B.D., Swaminathan S., Karplus M. // Biopolymers. 1986. V. 25. P. 1909—1937.
33. McCammon I.A., Harvey S.C. Dynamisc of Proteins and Nucleic Acids. Cambridge: Cambridge University. 1987.
34. Захарова Н.И., Фабиан М., Успенская Н.Я., Кононенко А.А., Рубин А.Б. // Биохимия. 1981. Т. 46. С. 1703—1711.
35. Лукашев Е.П., Зайцев С.Б., Кононенко А.А., Рубин А.Б. // Докл. АН СССР. 1989. Т. 308. С. 225—230.
36. Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности. М.: Мир, 1986.
37. Murth S.S.N. // J. Mol. Liquids. 1989. V. 40. P. 262—276.

Поступила в редакцию
27.XI.1990.

K.V. SHAITAN, I.V. UPOROV, E.P. LUKASHEV,
A.A. KONONENKO, A.B. RUBIN

PHOTO-CONFORMATIONAL TRANSITION CAUSE TEMPERATURE AND LIGHT EFFECTS IN CHARGE RECOMBINATION IN THE REACTION CENTER OF PHOTOSYNTHETIZING BACTERIA

M.V. Lomonosov Moscow State University, Biological Department, Moscow, 119899

A theory of photo-conformational (photo-phase) transitions has been developed for macromolecular structures. On the basis of the theory a new method is proposed to analyse charge transfer kinetics in the reaction center of photosynthetic bacteria which enables separation of the kinetic effects themselves and effects associated with conformational mobility. It is shown that the slow relaxation kinetics are characterized by at least two decay times, each with its specific temperature dependence. A physical mechanism behind the processes in question is discussed.