

## О ВЛИЯНИИ ЛОКАЛЬНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО ОКРУЖЕНИЯ НА ВЕЛИЧИНУ РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛА КОФАКТОРОВ ЭЛЕКТРОННОГО ПЕРЕНОСА В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРАХ

© 2011 г. П.М. Красильников, П.П. Нокс, А.Б. Рубин

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,  
119992, Москва, Воробьевы горы

E-mail: krapat@mail.ru

Поступила в редакцию 09.12.10 г.

Добавление криопротекторов (глицерина, диметилсульфоксида) в водный раствор, содержащий бактериальные фотосинтетические реакционные центры, вызывает изменение величины редокс-потенциала димера бактериохлорофилла, но не изменяет редокс-потенциал первичного хинонного акцептора электрона. Показано, что изменение редокс-потенциала может быть обусловлено изменением величины электростатического взаимодействия кофакторов с локальным молекулярным окружением, модифицируемым вводимыми в раствор добавками. Степень влияния растворителя на редокс-потенциал различных кофакторов определяется способностью молекул растворителя проникать в локальное окружение кофактора в структуре реакционного центра.

*Ключевые слова:* окислительно-восстановительный потенциал, фотосинтетический реакционный центр, димер бактериохлорофилла, первичный хинон, глицерин, диметилсульфоксид.

В фотосинтетических реакционных центрах (РЦ) пурпурных бактерий в результате поглощения светового кванта первичный донор электрона – димер бактериохлорофилла (Р) – переходит в возбужденное состояние  $P^*$ , что инициирует процесс последовательного переноса электрона от  $P^*$  к бактериофеофитину  $H_A$ , затем к первичному  $Q_A$  и, далее, ко вторичному  $Q_B$  хинонным акцепторам. При отсутствии в структуре РЦ цитохрома  $c$ , являющегося естественным восстанавливающим агентом для окисленного димера  $P^+$ , а также каких-либо других экзогенных доноров, электрон от фотовосстановленного вторичного хинона  $Q_B^-$  в последующий темновой период возвращается к  $P^+$ . Если  $Q_B$  экстрагирован из структуры РЦ или замещен агентами, блокирующими прямой перенос электрона от  $Q_A^-$  к  $Q_B$ , то после фоторазделения зарядов происходит темновая рекомбинация между  $Q_A^-$  и  $P^+$ .

Существуют различные подходы к теоретическому описанию скорости этих электрон-транспортных процессов, однако во всех подходах в качестве важного параметра использу-

ется величина разности свободной энергии  $\Delta G$  реакции элементарного акта электронного переноса. Экспериментально установлено, что скорость электрон-транспортных процессов может зависеть от величины  $\Delta G$ . Так, для РЦ *Rhodobacter sphaeroides* замещением путем мутагенеза аминокислотных остатков, расположенных вблизи димера Р, варьировали его редокс-потенциал в интервале от 425 до 780 мВ. Скорость реакции темновой рекомбинация между  $Q_A^-$  и  $P^+$  при увеличении  $\Delta G$  также возрастала. Например, при изменении потенциала от 430 до 460 мВ при комнатной температуре скорость увеличивалась на 20%, а при дальнейшем росте потенциала до 475 мВ соответственно на 50% [1,2]. Вместе с тем ранее мы наблюдали неоднозначную корреляцию между изменением редокс-потенциала Р и скорости этой реакции [3]. Так, при добавлении к РЦ *Rb. sphaeroides* дикого типа глицерина (70%, по объему) редокс-потенциал Р увеличивался на 30 мВ (от 430 до 460 мВ), а при добавлении диметилсульфоксида (ДМСО, 35%) – на 45 мВ (от 430 до 475 мВ). При этом скорость данной реакции при добавлении глицерина уменьшалась примерно на 17%, а при добавлении ДМСО наблюдалась слабая тенденция к ее увеличению. В случае же прямой реакции фотопереноса элек-

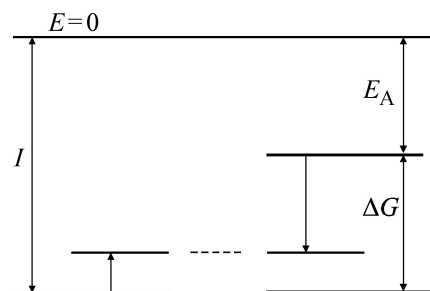
Сокращения: РЦ – реакционные центры, ДМСО – диметилсульфоксид.

трона от  $H_A^-$  к  $Q_A$  в обоих случаях наблюдалось уменьшение скорости процесса: в 1,1 раза в РЦ с глицерином и в 2,4 раза в РЦ с ДМСО. Вместе с тем, как показали проведенные М.Д. Мамедовым и А.Ю. Семеновым (НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова) измерения, редокс-потенциал  $Q_A$  не меняется при добавлении к раствору РЦ глицерина или ДМСО в соответствующих концентрациях. Из сказанного следует, что скорость реакции электронного переноса, по-видимому, чувствительна не только к количественному изменению разности свободной энергии  $\Delta G$  этой реакции при модификации, в частности, состава растворителя, но и к тем структурным изменениям локального молекулярного окружения, которые сопровождают это изменение. Таким образом, обсуждение вопроса об «однозначности» влияния величины изменения редокс-потенциала кофакторов на скорость электрон-транспортных процессов необходимо в любом случае начинать с анализа молекулярных механизмов самого процесса контроля редокс-потенциала кофакторов детальной организацией их структурно-динамического окружения, что и является предметом данной работы.

### ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

Прежде всего обсудим интерпретацию понятия редокс-потенциала  $E_m$  молекулы с точки зрения электронных термов. Эта величина, по сути, определяет энергетическую разность между потенциалом ионизации  $I$  и энергией сродства к электрону  $E_A$  молекулы, находящейся в конкретном молекулярном окружении. В процессе титрования эти энергии выравниваются, что и регистрируется как равенство концентраций окисленной и восстановленной форм изучаемой молекулы (рис. 1). Отсюда следует, что окислительно-восстановительный потенциал определяет разность свободной энергии  $\Delta G$  реакции перехода молекулы из восстановленной в окисленную форму, т.е.  $\Delta G = -eE_m$ , где  $e$  – элементарный заряд.

Положение энергетических уровней, а следовательно, и величина редокс-потенциала, существенно зависят от локального окружения молекулы. Это подтверждают результаты квантово-механических расчетов потенциалов ионизации и энергии сродства к электрону молекул димера бактериохлорофилла ( $P_{865}^-$ ) и хинона (убихинон-10) из РЦ *Rb. sphaeroides*, находящихся в различных условиях [4]. Например, потенциал ионизации димера в газовой фазе



**Рис. 1.** Схема изменения положения энергетических уровней молекулы в процессе титрования.  $E_0$  – нулевой уровень энергии,  $I$  – потенциал ионизации,  $E_A$  – энергия сродства к электрону,  $\Delta G$  – разность свободной энергии реакции электронного переноса.

составляет 5,39 эВ, но если его поместить в однородную среду с диэлектрической проницаемостью  $\epsilon = 4$ , то это значение уменьшится более чем на 1 эВ и составит примерно 4,32 эВ. Энергия сродства к электрону молекулы хинона в газовой фазе составляет 2,16 эВ, а в однородном диэлектрике с той же проницаемостью  $E_A$  увеличивается на 1,13 эВ, достигая значения 3,29 эВ. Для комплекса  $H_2O-Q_A-H_2O$  энергия сродства к электрону в газовой фазе составила 2,83 эВ, а в однородном диэлектрике с  $\epsilon = 4$  эта энергия увеличивается до 3,74 эВ. Эти расчетные значения хорошо согласуются с данными измерений: например, для бактериохлорофилла измеренное значение потенциала ионизации составляет 4,13 эВ [5]. Известно также, что разность свободной энергии равновесных состояний  $P^+Q_A^-$  и  $PQ_A$  составляет 0,5–0,6 эВ [2]. Из приведенных данных [4] нетрудно видеть, что разность энергии ионизации димера и энергии сродства комплекса  $H_2O-Q_A-H_2O$ , находящихся в диэлектрической среде, составляет примерно 0,58 эВ. Таким образом, наглядно продемонстрировано, что изменение локального микроокружения вызывает сдвиг электронных термов молекул и, тем самым, изменяет величину их окислительно-восстановительного потенциала (см. рис. 1). Механизмы такого влияния могут быть различными. Ниже мы рассмотрим механизм изменения редокс-потенциала димера бактериохлорофилла при добавлении ДМСО или глицерина к раствору РЦ, а также обсудим вопрос, почему при этом не меняется редокс-потенциал первичного хинона. Однако сначала сделаем ряд общих замечаний, касающихся изменения состояния квантовых систем под действием внешнего возмущения.

## СДВИГ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ

Рассмотрим квантовую систему, например изолированную молекулу. Стационарные состояния этой системы определяются из решения уравнения Шредингера:

$$H_0 \psi_n = E_n^0 \psi_n,$$

где  $H_0$  – гамильтониан изолированной молекулы,  $\psi_n$  и  $E_n^0$  – собственные функции и собственные значения (энергетический спектр) этого гамильтониана. Если молекула находится не в вакууме, а в конденсированной среде, то ее взаимодействие с этой средой приводит к сдвигу энергетических уровней. Полагая энергию взаимодействия молекулы со средой существенно меньшей, чем энергия внутримолекулярных взаимодействий, влияние среды можно учесть в рамках теории возмущений. Если возмущение  $V$  не зависит от времени, то в первом порядке теории возмущений сдвиг энергетических уровней системы равен среднему значению оператора возмущения в соответствующих состояниях, т.е.  $E_n = E_n^0 + V_{nn}$ , где  $V_{nn} = \langle \psi_n | V | \psi_n \rangle$ . Уровень  $E_n$  либо повышается, либо понижается в зависимости от характера взаимодействия. В общем случае  $V_{nn} \neq V_{mm}$  при  $n \neq m$ . Если энергия взаимодействия молекулы со средой удовлетворяет неравенству  $V \ll |E_n - E_m|$ , то возмущение не вызывает переход молекулы из одного состояния в другое. Тогда в условиях равновесия, когда завершились все релаксационные процессы, среднее значение оператора возмущения определяет энергию взаимодействия молекулы с внешним окружением  $V_{nn} = \langle \psi_n | V | \psi_n \rangle = V_n^0$ .

## ЭНЕРГИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ ПОЛЯРИЗАЦИЕЙ МОЛЕКУЛЯРНОГО ОКРУЖЕНИЯ

Рассмотрим конкретные виды межмолекулярного взаимодействия. Образование отрицательного иона означает локализацию на молекуле избыточного электрона. Он возбуждает в окружающем пространстве неоднородное электрическое поле:

$$\vec{E}(\vec{r}) = \frac{e}{r^2} \frac{\vec{r}}{r}, \quad (1)$$

которое поляризует окружающую среду. Эту среду представим в виде связанной системы нейтральных атомов и точечных диполей. Поляризуясь и ориентируясь в поле электрона, каждый атом или диполь вносит вклад в общую

поляризацию в виде индуцированного дипольного момента:

$$\vec{p}_i = \alpha_i \vec{E}(\vec{r}_i), \quad (2)$$

где  $\alpha_i$  – эффективная поляризуемость  $i$ -го атома или точечного диполя, находящегося в точке  $\vec{r}_i$ . Поляризационный эффект от ориентации точечного диполя  $\vec{\mu}_0$ , удерживаемого в некотором положении химическими связями, определяется изменением проекции дипольного момента  $\vec{\mu}_0$  на направление поля. При небольших углах поворота диполя из равенства моментов упругих и электрических сил в линейном приближении нетрудно получить величину изменения этой проекции, которая пропорциональна напряженности поля в соответствии с формулой (2):

$$p_\mu = \mu_0^2 g(\phi_0) \gamma^{-1} E \equiv \alpha_\mu E,$$

где  $g(\phi) = \sin \phi_0 ((1 + 3 \sin^2 \phi_0)^{1/2} - \cos \phi_0)$  – фактор, зависящий от начальной ориентации  $\phi_0$  вектора дипольного момента относительно вектора напряженности электрического поля:  $\gamma = \partial^2 U / \partial \phi^2 |_{\phi=0}$  – жесткость удерживающей диполь химической связи при ее деформации, вызываемой вращением.

Индукцированные диполи взаимодействуют с электроном, и суммарная энергия этого самосогласованного взаимодействия определяется выражением:

$$w = - \sum_i \vec{p}_i \vec{E}_a(\vec{r}_i) = - \sum_i \frac{\alpha_i}{\epsilon(\vec{r}_i)} E^2(\vec{r}_i) = - \sum_i \frac{\alpha_i}{\epsilon(\vec{r}_i)} \frac{e^2}{r_i^4}, \quad (3)$$

где учтено, что  $\vec{E}_a(\vec{r}_i) = \frac{\vec{E}(\vec{r}_i)}{\epsilon(\vec{r}_i)}$  – действующее на данный диполь поле, отличие которого от вызывающего поляризации поля мы учитываем с помощью введения эффективной диэлектрической проницаемости  $\epsilon(\vec{r}_i)$ , величина которой зависит от положения данной точки  $\vec{r}_i$ .

Используем формулу (3) для оценки энергии взаимодействия избыточного электрона с поляризованным внешним окружением. Положим, что электрон локализован в сферической области, радиус которой примерно совпадает с радиусом отрицательного иона  $R_0$ . Используя известное соотношение электростатики для диэлектрической восприимчивости среды

$$\chi = \frac{1}{V} \sum \alpha_i$$

$$\chi = (\epsilon - 1)/4\pi$$

и переходя в выражении (3) от суммирования к интегрированию, получим следующее выражение для этой энергии:

$$w = -\frac{e^2}{4\pi} \int_{\Omega} \frac{\epsilon(\vec{r}) - 1}{\epsilon(\vec{r})r^4} d\Omega, \quad (4)$$

где  $\Omega$  – объем, занимаемый средой, а величина  $\epsilon(\vec{r})$  выполняет роль эффективной функции распределения. Эта формула является обобщением известной формулы Борна. Действительно, при  $\epsilon(\vec{r}) = \text{const}$  (используя сферические координаты  $(r, \theta, \phi)$ ) из (4) получим формулу Борна:

$$w = -\left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) \frac{e^2}{R_0}.$$

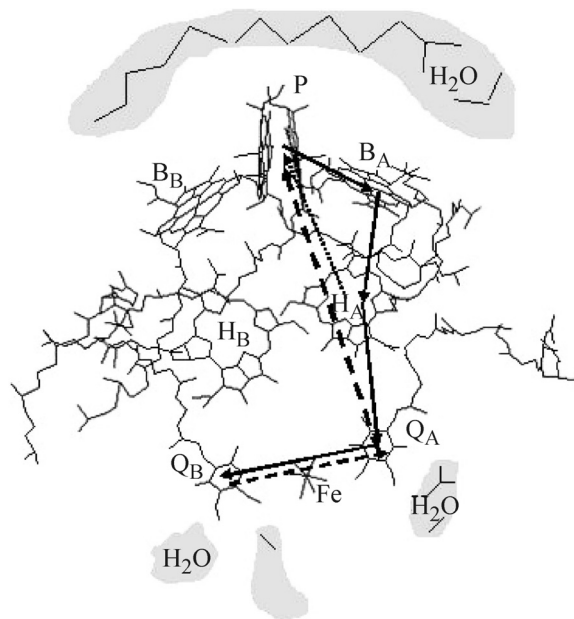
В отличие от формулы Борна, однако, применение формулы (4) позволяет при вычислениях так или иначе учесть пространственную неоднородность среды, что может существенно сказаться на количественной величине эффекта.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ РЕДОКС-ПОТЕНЦИАЛА КОФАКТОРОВ

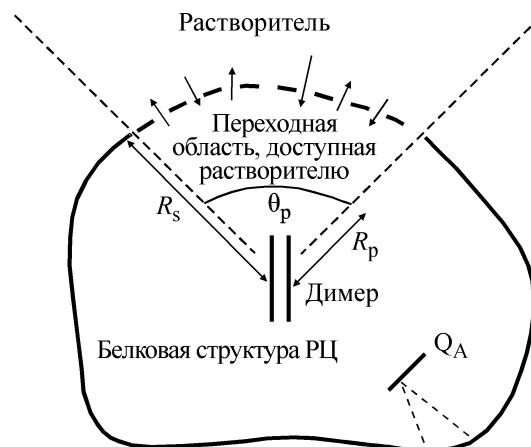
Используем формулу (4) для интерпретации наблюдаемого в экспериментах по титрованию изменения редокс-потенциала димера бактериохлорофилла при модификации растворителя. Основываясь на данных рентгеноструктурного анализа для РЦ *Rhodobacter sphaeroides* (например, структура 1PCR [6] или структура 1AIJ [7] PDB), а также на данных по расположению кластеров молекул воды в этом РЦ [8] (рис. 2), можно предложить следующую схему канала доступа молекул растворителя к димеру бактериохлорофилла в структуре РЦ (рис. 3). На этом рисунке схематически обозначены области с различными значениями диэлектрической проницаемости:  $\epsilon_p$  – для белковой структуры;  $\epsilon_s$  – для растворителя и  $\epsilon(r)$  – для области смешивания, диффузионно доступной молекулам растворителя. Согласно этой схеме диэлектрическую проницаемость молекулярной системы представим в следующем виде:

$$\epsilon(r, \theta, \phi) = \begin{cases} \epsilon(r), & \text{при } 0 \leq \theta \leq \theta_p, \\ \epsilon_p, & \text{при } \theta_p \leq \theta \leq \pi, \end{cases} \quad (5)$$

где угол  $2\theta_p$  равен коническому углу, вершина которого располагается на димере,  $r, \theta, \phi$  – сферические координаты.



**Рис. 2.** Молекулярная структура кофакторов электронного переноса фотосинтетического РЦ *Rhodobacter sphaeroides* (структура 1PCR [6], 1AIJ [7] PDB). Сплошными стрелками показано прямое разделение зарядов в структуре РЦ, пунктиром – процесс их рекомбинации. Затененные области отражают водные кластеры в структуре РЦ по данным рентгеноструктурного анализа [8].



**Рис. 3.** Схематическое изображение каналов проникновения молекул растворителя вглубь структуры РЦ.

Диэлектрическая проницаемость переходной области  $\epsilon(r)$  будет иметь различные значения в зависимости от способности молекул растворителя проникать в эту область. Более того, если молекулы растворителя проникают вглубь белковой структуры, например, молекулы воды или ДМСО, то при этом происходит разрыхление белка и, возможно, его набухание, что

может сказаться на величине угла  $\theta_p$ . Предположим, что проникновение молекул растворителя вглубь белковой структуры достаточно интенсивно на ее границе и уменьшается по мере достижения более гидрофобных областей. Тогда, в простейшем варианте, зависимость  $\epsilon(r)$  можно представить в следующем виде:

$$\epsilon(r) = \begin{cases} ar + b & \text{при } R_p \leq r \leq R_s, \\ \epsilon_s & \text{при } r \geq R_s, \end{cases} \quad (6)$$

где  $R_p$  – радиус области локализации димера, который в пределе совпадает с эффективным радиусом димера  $R_0$ ;  $R_s$  – радиус границы переходной области, за которой простирается периферическая область чистого растворителя (см. рис. 3), а коэффициенты определены следующим образом:

$$a = \frac{\epsilon_s - \epsilon_p}{R_s - R_p}, \quad b = \frac{\epsilon_p R_s - \epsilon_s R_p}{R_s - R_p}.$$

Возможна и другая ситуация, когда диффузия молекул добавляемого растворителя через границу области затруднена. В этом случае эффективная диэлектрическая проницаемость  $\epsilon_{\text{eff}}$  переходной области определяется ее предшествующим состоянием, т.е. зависит от проникающих свойств предыдущего растворителя:

$$\epsilon(r) = \begin{cases} \epsilon_{\text{eff}} & \text{при } R_p \leq r \leq R_s, \\ \epsilon_s & \text{при } r \geq R_s. \end{cases} \quad (7)$$

Воспользуемся формулой (4) и вычислим энергию взаимодействия аниона димера со средой в выделенном секторе (см. рис. 3), когда диэлектрическая проницаемость является неоднородной и зависит от координат согласно (5) и (6). В результате получим:

$$w(\epsilon_s) = -\frac{e^2}{R_p} \left( 1 - \frac{1}{2}(1 - \cos\theta_p) \times \left[ \frac{R_p}{\epsilon_s R_s} + \frac{1}{b} \left( 1 - \frac{R_p}{R_s} \right) + \frac{a R_p}{b^2} \ln \left( \frac{\epsilon_s R_p}{\epsilon_p R_s} \right) \right] \right). \quad (8)$$

В случае же, когда диффузия молекул растворителя в переходную область затруднена, для энергии взаимодействия аниона димера с поляризацией этой области получим более простое выражение:

$$w(\epsilon_{\text{eff}}) = -\frac{e^2}{R_p} \left( 1 - \frac{1}{2}(1 - \cos\theta_p) \times \left[ \frac{1}{\epsilon_{\text{eff}}} + \frac{R_p}{R_s} \left( \frac{1}{\epsilon_s} - \frac{1}{\epsilon_{\text{eff}}} \right) \right] \right). \quad (9)$$

Очевидно, что для сравнения с экспериментальными данными важно не само значение энергии  $w$ , вычисляемое по формуле (4), а величина ее изменения при вариации растворителя. Если принять, что параметры системы  $\epsilon_p$ ,  $R_p$ ,  $R_s$  при модификации растворителя остаются примерно постоянными, то величину энергии, выражаемую формулой (8), можно рассматривать как функцию макроскопической диэлектрической проницаемости растворителя  $\epsilon_s$  и угла  $\theta_p$ , определяющего эффективный размер области, доступной растворителю, т.е.  $w = w(\epsilon_s, \theta_p)$  (см. рис. 3). Тогда изменение энергии взаимодействия при смене растворителя вычисляется как разность:

$$\Delta w = w_2 - w_1 = w(\epsilon_{s2}, \theta_{p2}) - w(\epsilon_{s1}, \theta_{p1}). \quad (10)$$

Для удобства обозначений присвоим номера растворителям:  $\text{H}_2\text{O}$  (вода) – 1,  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$  (диметилсульфоксид) – 2,  $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$  (глицерин) – 3. При комнатных температурах средние значения диэлектрической проницаемости этих веществ составляют соответственно:  $\epsilon_1 \approx 80$ ,  $\epsilon_2 \approx 47$ ,  $\epsilon_3 \approx 41$ . В условиях эксперимента основным растворителем является вода, другие вещества добавляются к водному раствору РЦ. Если принять, что диэлектрическая проницаемость смеси примерно пропорциональна объемным долям компонентов, то для смеси вода/ДМСО при добавлении 35% ДМСО получим для диэлектрической проницаемости этой смеси значение  $\epsilon_{12} \approx 69$ , а для смеси вода/глицерин при добавлении 70% глицерина получим соответственно  $\epsilon_{13} \approx 53$ .

Для оценки величины изменения редокс-потенциала димера, основываясь на структурных данных РЦ, примем следующие значения параметров:  $R_p \approx 5 \text{ \AA}$ ,  $R_s \approx 30 \text{ \AA}$ , а начальное значение угла  $\theta_p$ , характерного для водного раствора РЦ, примем равным:  $\theta_{p0} = 60^\circ$ . Значение диэлектрической проницаемости белкового матрикса примем равным:  $\epsilon_p = 4$ . Воспользуемся формулами (8) и (10). Тогда, при неизменном значении угла  $\theta_p$ , модификация водного раствора добавлением 35% ДМСО приведет к изменению энергии взаимодействия аниона димера с раствором  $\Delta w_{12} = 4,1 \text{ мэВ}$ , что соответствует увеличению редокс-потенциала димера на 4,1 мВ. Модификация водного раствора добавлением 70% глицерина, при том же условии постоянства угла  $\theta_p$ , вызовет повышение редокс-потенциала димера на 12 мВ. Эти данные не согласуются с измеренными, которые составляют соответственно 45 и 30 мВ.

Однако следует учесть, что проникновение в переходную область молекул добавляемого растворителя, стерические параметры которых существенно отличны от параметров молекул воды, может вызывать изменение геометрии этой области, например, ее набухание. Известно, что глицерин является достаточно инертным растворителем, молекулы которого относительно плохо проникают вглубь белковых структур, а ДМСО, наоборот, является очень активным растворителем, превосходя в этом отношении даже воду [9]. Действительно, ранее с помощью метода малоуглового рентгеновского рассеяния мы наблюдали увеличение радиуса инерции РЦ *Rb. sphaeroides* на 15% при добавлении к препаратам РЦ 40% ДМСО [3], а при добавлении к раствору РЦ пропиленгликоля ( $C_3H_6(OH)_2$ ) в большей концентрации (50%) радиус инерции увеличился на меньшую величину, не более 10%.

Положим, что проникновение молекул добавляемого растворителя в переходную область вызывает ее расширение, и учтем это в изменении угла  $\theta_p$ . Тогда получим, что формулы (8) и (10) дают следующие результаты: 1) при добавлении ДМСО, когда происходит изменение диэлектрической проницаемости растворителя  $\epsilon_1 = 80 \rightarrow \epsilon_{12} = 69$ , а также геометрии переходной области  $\theta_{p0} = 60^\circ \rightarrow \theta_{p12} = 82^\circ$ , редокс-потенциал димера повышается на 45 мВ; 2) при добавлении глицерина, когда происходит изменение диэлектрической проницаемости растворителя  $\epsilon_1 = 80 \rightarrow \epsilon_{13} = 53$  и геометрии переходной области  $\theta_{p0} = 60^\circ \rightarrow \theta_{p13} = 69^\circ$ , редокс-потенциал димера повышается на 30 мВ. Таким образом, из приведенных оценок следует, что изменение редокс-потенциала димера обусловливается не только диэлектрическими свойствами добавляемого растворителя, но существенно зависит от способности молекул этого растворителя проникать внутрь белковой структуры, изменяя ее геометрические параметры. Действительно, в рассмотренном примере изменение средней величины диэлектрической проницаемости раствора  $\epsilon_s$  не вызвало большого изменения редокс-потенциала димера: при добавлении ДМСО  $\epsilon_s$  уменьшалась всего на 14%, а при добавлении глицерина несколько больше – на 66%. Таким образом, основной эффект обуславливался изменением геометрии области, доступной растворителю. Принципиальная возможность этого, как отмечалось выше, косвенно подтверждается наблюдениями.

Рассмотрим другой сценарий, когда молекулы растворителя слабо проникают в переходную область. Если принять, что  $\epsilon_{eff}$  пере-

ходной области остается неизменной при добавлении других растворителей к водному раствору РЦ, то эффект будет близок к нулю. Однако можно предположить, что в этом случае действие, вызываемое модификацией растворителя, аналогично действию изменения осмотического давления при наличии полупроницаемой мембраны. Действительно, в переходном слое присутствуют молекулы воды (см. рис. 2), так как граница между переходной областью и растворителем является проницаемой для молекул воды, но непроницаема (или слабопроницаема) для молекул других растворителей. В этом случае можно ожидать, что модификация растворителя вызовет осмотический эффект, т.е. выход молекул воды из переходной области. Это, в свою очередь, повлечет изменение ее эффективной диэлектрической проницаемости. Для оценки примем, как и в предыдущем случае,  $R_p = 5 \text{ \AA}$ ,  $\epsilon_p = 4$ . Теперь, однако, мы должны фиксировать геометрические параметры переходной области, полагая, что выход из нее некоторого количества молекул воды не сильно сказывается на ее геометрии, т.е. необходимо принять  $\theta_p = \text{const}$ . Величину этого угла возьмем равной начальному значению из предыдущего случая, т.е.  $\theta_p = \theta_{p0} = 60^\circ$ . Далее, существенным вопросом здесь является выбор числового значения  $R_s$ . Если в предыдущем случае мы могли в принципе устремить его к бесконечности  $R_A \rightarrow \infty$ , что не сильно отразилось бы на величине эффекта, то в этом случае мы так поступить не можем, так как это нивелирует весь эффект. Из общих соображений примем толщину переходного слоя равной  $10 \text{ \AA}$ , тогда  $R_s = 15 \text{ \AA}$  (см. рис. 3). Воспользуемся формулами (9) и (10) и для величины эффекта от модификации растворителя получим следующие результаты: 1) при добавлении ДМСО, когда происходит изменение диэлектрической проницаемости растворителя  $\epsilon_1 = 80 \rightarrow \epsilon_{12} = 69$ , а эффективная диэлектрическая проницаемость переходного слоя уменьшается  $\epsilon_{eff}^{(0)} = 15 \rightarrow \epsilon_{eff}^{(1)} = 6,26$ , редокс-потенциал димера повышается на 45 мВ; 2) при добавлении глицерина, когда происходит изменение диэлектрической проницаемости растворителя  $\epsilon_1 = 80 \rightarrow \epsilon_{13} = 53$  и эффективной диэлектрической проницаемости переходного слоя  $\epsilon_{eff}^{(0)} = 15 \rightarrow \epsilon_{eff}^{(1)} = 8$ , редокс-потенциал димера повышается на 30 мВ. Таким образом, в рамках этой модели также можно привести в согласие расчетные и экспериментальные данные, правда для этого требуется предположить весьма существенную дегидратацию переходной области, которая вызвала значительное уменьшение (в два–три раза) эф-

фективной диэлектрической проницаемости этой области. Разное действие добавляемых растворителей при этом обусловлено различием в их «осмотической» способности, которая, как следует из приведенных оценок, более высокая у ДМСО.

Относительно выявляемого в эксперименте отсутствия изменений редокс-потенциала первичного хинонного акцептора при добавлении к раствору РЦ обсуждаемых криорастворителей, на основе анализа данных рентгеноструктурного анализа, можно заключить, что локальное окружение  $Q_A$  просто менее проницаемо для молекул растворителя по сравнению с окружением димера (см. рис. 3).

В заключение отметим следующее. В данной работе проведен анализ возможного влияния параметров среды на величину редокс-потенциала кофакторов электронного переноса в бактериальных фотосинтетических РЦ. Подчеркнем, что мы анализировали экспериментальные данные по изменению  $E_m$  кофакторов, получаемых в результате стандартной процедуры титрования. В силу того, что титрование проводится в равновесных условиях, то при анализе его результатов нет необходимости рассмотрения переходного процесса установления равновесия в молекулярной системе. Вместе с тем отметим, что при рассмотрении электрон-транспортных процессов фактор времени имеет существенное значение, так как перенос электрона может осуществляться в условиях, когда система еще не достигла равновесного состояния. Обсуждение релаксационной динамики процесса установления равновесного состояния в мо-

лекулярной системе является предметом нашей следующей работы. Также в настоящей работе мы не обсуждали возможные причины неоднозначного влияния изменения редокс-потенциала димера бактериохлорофилла на скорость электронного переноса, о чем говорилось во введении. Обсуждение этого вопроса требует отдельного рассмотрения, которое тоже будет представлено в следующей работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 10-04-00769, Рособразования П2219, грант НШ-7885.2010.4

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. Schmid and A. Labahn, *J. Phys. Chem. B* **104**, 2928 (2000).
2. J. M. Ortega, P. Mathis, G. C. Williams, and J. P. Allen, *Biochemistry* **35**, 3354 (1996).
3. V. Z. Paschenko, P. P. Knox, S. K. Chamorovsky, et al., *Bioelectrochemistry* **53**, 233 (2001).
4. M. R. A. Blomberg, P. E. M. Siegbahn, and G. T. Babcock, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 8812 (1998).
5. A. Bernas, D. Grand, S. Hauteclouque, and T. Myasodova, *Chem. Phys. Lett.* **104**, 105 (1984).
6. U. Ermler, G. Fritsch, and H. Michel, *Structure* **2**, 925 (1994).
7. M. H. Stowell, T. M. McPhillips, D. C. Rees, et al., *Science* **276**, 812 (1997).
8. G. Fritsch, L. Kampmann, G. Kapaun, and H. Michel, *Photosynthesis Res.* **55**, 127 (1998).
9. Ю. Н. Кукушкин, *Сор. образоват. журн.*, № 9, 54 (1997).

## On the Influence of Local Molecular Environment on the Redox Potential of Electron Transfer Cofactors in Bacterial Photosynthetic Reaction Centers

P.M. Krasilnikov, P.P. Knox, and A.B. Rubin

*Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Vorob'evy Gory, Moscow, 119992 Russia*

The addition of cryosolvents (glycerol, dimethylsulfoxide) to a water solution containing bacterial photosynthetic reaction centers changes the redox potential of the bacteriochlorophyll dimer, but does not affect the redox potential of the quinone primary acceptor. It has been shown that the change in redox potential can be produced by changes of the electrostatic interactions between cofactors and the local molecular environment modified by additives entered into the solution. The degree of influence of a solvent on the redox potential of various cofactors is determined by degree of availability of these cofactors for molecules of solvent, which depends on the arrangement of cofactors in the structure of reaction centers.

*Key words: redox potential, photosynthetic reaction center, bacteriochlorophyll dimer, quinone primary acceptor, glycerol, dimethylsulfoxide*