

Центральной задачей проекта в 2018 году было исследование фундаментальной проблемы биофизики, относящейся к характеристике физических свойств мембранных белков. А именно, возможно ли рассматривать белок в виде однородной диэлектрической среды, физические свойства которой напоминают свойства жидкости, или же его физические свойства напоминают кристаллы и аморфные твердые тела, но с заданной уникальной высокоупорядоченной молекулярной структурой? В ходе выполнения проекта были определены и количественно проанализированы температурные зависимости скоростей прямых и обратных реакций переноса электрона с участием филлохинона в сайтах связывания A_{1A} и A_{1B} в двух ветвях редокс-кофакторов фотосистемы 1 (ФС 1) из цианобактерий *Synechococcus* sp. Были выполнены фемтосекундные измерения оптических изменений в комплексах ФС 1 дикого типа и в химически модифицированных комплексах с удаленными железо-серными кластерами в температурном интервале 77-280 К. Было показано, что первичные оптические изменения в диапазоне 200-280 К практически не зависят от температуры. При понижении температуры до 77 К реакции разделения зарядов ускорялись, основные изменения происходили во временном интервале до 5 пс. Кинетика реакций переноса электрона при криогенных температурах являлась гетерогенной, в связи с этим количественный анализ данных проводился с помощью программы CONTIN, в которой реализован метод регуляризации Тихонова для решения задачи обратного преобразования Лапласа. Оптические изменения анализировались с помощью методов глобальной минимизации, сингулярного разложения (singular value decomposition, SVD) и главных компонент (principal component analysis, PCA), а также путем решения задачи обратного преобразования Лапласа с помощью программы CONTIN и кинетического моделирования.

Было показано, что механизм реакций переноса электрона в ФС 1 не может быть интерпретирован в рамках классического уравнения Маркуса, поскольку в этом описании не учитываются квантовые эффекты поляризационной динамики белка. Такое упрощение применимо для описания полярных жидкостей, но не твердых тел, в которых фононные переходы определяют существенные особенности кристаллических и стеклообразных материалов. Количественное описание температурной зависимости кинетики прямых и обратных реакций переноса электрона с участием филлохинона в сайтах A_{1A} и A_{1B} ФС 1 было получено в рамках общей многофононной теории безызлучательных переходов Левича-Догонадзе-Джортнера. Параметры модели включали частоты и энергии реорганизации трех поляризационных мод и энергию электронного сопряжения хинонных кофакторов A_{1A} , A_{1B} и димера хлорофилла P_{700} .

Полученные результаты показывают, что динамика поляризации белкового гидрофобного

ядра реакционного центра ФС 1 напоминает свойства твердых тел и характеризуется квантовыми колебательными модами (фононами), поэтому анализ процессов переноса электрона в белковом матриксе должен проводиться в рамках квантовой теории. В этом случае колебания ядер также рассматриваются квантово-механически, а эффекты ядерного туннелирования учитываются путем вычисления коэффициентов Франка-Кондона наряду с эффектами туннелирования электронов. В частности, широко распространенные эмпирические модели «однородного белка» Мозера-Даттона и туннелирования по «выделенным путям» Бератана-Онучика-Грея переоценивают величину факторов Франка-Кондона и, как следствие, предполагают меньшую величину электронного сопряжения кофакторов по сравнению с квантовой моделью.

Для интерпретации экспериментальных данных по переносу электрона в комплексах ФС 1 в условиях низких температур и ограниченной подвижности в высушенных стекловидных пленках дисахарида трегалозы было проведено молекулярно-динамическое моделирование комплексов ФС 1 при низких температурах и в трегалозной матрице при температуре 300 К. Была рассчитана средняя подвижность белкового остова ФС 1 в условиях низких температур и в трегалозном стекловидном матриксе. Количественное сопоставление атомной подвижности, рассчитанной при температурах 77 К и 298 К, свидетельствует, что динамика белка в центральной части комплекса при комнатной температуре в пикосекундном временном интервале может быть представлена набором нормальных (гармонических) мод. Полученные данные обосновывают применимость для описания белка теории электрон-фононного сопряжения, разработанной в физике твердых тел. Были рассчитаны модели спектральные функции поляризационной динамики белкового комплекса ФС 1, их количественная интерпретация была проведена в рамках обобщенной теории ланжевеновских гармонических осцилляторов. Отдельные пики спектральной функции были приписаны движениям отдельных областей пигмент-белкового комплекса: максимум при $\sim 100 \text{ см}^{-1}$ и высокочастотные пики при 1500 и 1610 см^{-1} вызваны колебаниями пептидного остова вблизи хинона A_1 , большая узкая полоса при $\sim 800 \text{ см}^{-1}$ возникает в основном из коллективных движений аминокислот, образующих сайт связывания филлохинона, а также ароматического кольца TRP697A, которое участвует в стэкинг-взаимодействии с кольцом филлохинона.

Были проведены измерения фотоиндуцированных изменений в комплексах ФС 2 из высших растений, выделенных в виде ядерных частиц (core particles). Измерения проводились методом двухимпульсной фемтосекундной лазерной спектроскопии «возбуждение-зондирование» в интервале температур 77-283 К в спектральном диапазоне 400-700 нм с временным разрешением 0,1-500 пс. Был проведен глобальный кинетический

анализ оптической динамики комплексов ФС 2 в пикосекундном временном диапазоне, вызванный возбуждением в дальней красной области поглощения (710 нм) при температурах 77 и 279 К. Анализ выявил наличие трех кинетических компонент с характерными временами 1 пс, 13 пс и 180/530 пс (279/77 К). Показано, что только медленная компонента зависела от температуры (наблюдалось трехкратное замедление при понижении температуры до 77 К). Компонента со временем 1 пс связана с процессами перераспределения энергии от длинноволновых к коротковолновым формам хлорофилла в ФС 2, а компоненты 13 пс и 180/530 пс отражают процесс миграции энергии из антенны в реакционный центр и сопряженные с этим реакции разделения зарядов в реакционном центре.

Было проведено молекулярно-динамическое моделирование комплексов ФС 2 при температуре 77 К и в стекловидных пленках дисахарида трегалозы при температуре 300 К. Была разработана молекулярно-динамическая модель изотропного расплава трегалозы (водно-трегалозная смесь фиксированного состава, соответствующая условиям экспериментов). Для каждой исследуемой системы молекулярно-динамическое моделирование начиналось при жидком состоянии внешней среды (температура 300 К для водного раствора и 700 К для расплава трегалозы при наложенных ограничениях на конформацию белка). Для каждой моделируемой системы было получено 100 независимых конформаций, которые использовались для оценки фактора конформационной гетерогенности белкового комплекса в условиях ограниченной подвижности ниже точки стеклования окружающего раствора. По сравнению с ФС 1, пигмент-белковый комплекс ФС 2 проявляет существенно более высокую подвижность при комнатной температуре: среднеквадратичное отклонение C α -атомов белкового остова ФС 1 в неполярной части реакционного центра составляет ~ 0.5 Å, тогда как для ФС 2 она составляет величину около 0.65 Å. Также в динамике белка ФС 2 при температуре 280 К нелинейные эффекты проявляются существенно сильнее по сравнению с ФС 1.