

Название проекта:

Роль конформационных движений белка в регуляции динамики процессов переноса электрона в фотосинтетических реакционных центрах.

Основные результаты проекта

1. Изучение механизма первичных реакций разделения зарядов в ФС 1 затруднено тем обстоятельством, что прямое возбуждение первичного донора электрона – специальной пары молекул хлорофилла P700 – в выделенных комплексах неосуществимо в обычных условиях из-за наличия в реакционном центре 90 молекул хлорофилла антенны, имеющих поглощение в том же спектральном диапазоне, что и P700. В связи с этим в работе осуществлялось возбуждение комплексов ФС 1 из цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 фемтосекундными импульсами, центрированными в красной и дальней красной областях спектра на длине волны 760 нм. В этой области спектра в ФС 1 из данного штамма цианобактерий отсутствует поглощение длинноволновых форм Хл антенны. Поглощение на длине волны 760 нм составляет около 1% от поглощения на длине волны 705 нм, соответствующей максимуму поглощения первичного донора P700. Был проведен детальный анализ механизма многофотонного возбуждения ФС 1 фемтосекундными импульсами в дальней красной области QY полосы поглощения хлорофилла. Однофотонное возбуждение дает промежуточные продукты с переходными спектрами поглощения, аналогичными спектрам первичной P700+A0- и вторичной P700+A1- ион-радикальных пар в реакционном центре ФС 1. Была исследована функциональная роль длинноволновых форм хлорофилла в ФС 1. Возбуждающие фемтосекундные лазерные импульсы на длине волны 760 нм были модулированы таким образом, чтобы отсечь коротковолновые компоненты в интервале 725-750 нм. Динамика анизотропии может быть хорошо аппроксимирована двумя кинетическими компонентами, причем главные изменения происходят в области 690-705 нм полосы поглощения QY. Основная спектральная компонента со временем 26 пс может быть приписана реакции переноса электрона ко вторичному акцептору A1. Таким образом, была разработана методика непосредственного возбуждения первичного донора электрона P700 ФС 1 фемтосекундными импульсами в дальней красной области поглощения. Методом «возбуждение-зондирование» было подтверждено, что формирование спектра первичной ион-радикальной пары P700+A0- в переходном спектре ФС 1 происходит за время короче 100 фс. Разработана квантовая модель адиабатического взаимодействия возбужденного состояния димера Хл P700* и двух симметричных состояний с разделенными зарядами P700+A0A- и P700+A0B- в двух ветвях кофакторов А и В. Показано, что квантовое смешение трех состояний обуславливает высокую поляризуемость возбужденного состояния реакционного центра и может приводить к появлению плоской потенциальной поверхности вдоль эффективной координаты реакции. Наличие плоского адиабатического терма позволяет объяснить сверхбыструю кинетику разделения зарядов.

2. Исследована температурная зависимость кинетики рекомбинации зарядов в комплексах ФС 1, лишенных железо-серных кластеров. 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. Количественное описание температурной зависимости кинетики прямых и обратных реакций переноса электрона с участием филлохинона в сайтах A1A и A1B ФС 1 было получено в рамках общей многофононной теории безызлучательных переходов Левича-Догонадзе-Джортнера. 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.
3. Были проведены измерения фотоиндуцированных изменений в комплексах ФС 2 из высших растений. 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 температуре 279 К и криогенной (77 К) температуре. 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.
4. Было исследовано влияние дегидратации комплексов ФС 1, иммобилизованных в стекловидной матрице трегалозы при относительной влажности 11%, на кинетику реакций прямого переноса электрона. Кинетика оптических изменений, обусловленных первичной и вторичной реакциями переноса электрона, измерялась с помощью фемтосекундной лазерной спектроскопии. Кинетика обратных реакций рекомбинации измерялась с помощью высокочастотной спектроскопии ЭПР высокого разрешения. Кинетика прямой реакции переноса электрона на железо-серные кластеры измерялась с помощью абсорбционной импульсной спектроскопии на длине волны 480 нм. Кинетика реакций образования первичной P700+A0- и вторичной P700+A1- ион-радикальных пар практически не зависела от степени дегидратации трегалозной матрицы. Кинетика прямого переноса электрона от молекул филлохинона в сайтах A1A и A1B к кластеру FX замедлялась с 220 нс и 20 нс в растворе до 13 мкс и 80 нс в высушенной трегалозной матрице, соответственно. Эти данные демонстрируют, что прямые реакции переноса электрона вплоть до филлохиноновых акцепторов в ветвях кофакторов А и В (A1A и A1B) являются нечувствительными к иммобилизации в трегалозе, тогда как перенос электрона в

области железо-серных кластеров существенно замедляется или полностью блокируется при стекловании комплекса ФС 1 в высушенной трегалозной матрице.

5. Было исследовано влияние замены аксиальных лигандов молекул Хл3А и Хл3В в составе димера А0 ФС 1 на кинетику переноса электрона с первичного акцептора А0 на вторичный хинонный акцептор А1. Были проведены измерения дифференциальных фемтосекундных и стационарных разностных спектров (окисленный минус восстановленный) комплексов ФС 1 с точечными заменами аминокислотных остатков в ближней координационной сфере второй пары молекул хлорофилла Хл2А и Хл2В. Были исследованы три пары мутантов с заменами остатков аспарагина N591PsaA и N604PsaB на метионины (ANM/BNM), гистидины (ANH/BNH) или лейцины (ANL/BNL) в симметричных ветвях кофакторов А и В. Были получены равновесные разностные спектры ФС 1 из мутантов ANL/BNL, ANM/BNM и ANH/BNH. Методом фемтосекундной лазерной спектроскопии были зарегистрированы дифференциальные спектры интермедиатов переноса электрона в ФС 1 из мутантов ANL/BNL, ANM/BNM и ANH/BNH. Анализ спектров интермедиатов P700+A0- и P700+A1- ФС 1 из этих мутантных штаммов свидетельствует о том, что в случае замены аспарагинового аминокислотного остатка, ассоциированного с Хл2 в ветви А, на лейцин и гистидин происходит нарушение процесса формирования вторичной ион-радикальной пары, в то время как первичная ион-радикальная пара формируется нормально. Можно предположить, что в случае мутантов ANH и ANL после первичного разделения зарядов в значительной фракции комплексов происходит рекомбинация электрона с А0- на P700+, и образования вторичной ион-радикальной пары не происходит.
6. Для интерпретации экспериментальных данных 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 при температурах 77 К и 298 К и показано, 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. Пики спектральной функции были приписаны движениям отдельных областей пигмент-белкового комплекса: максимум при ~ 100 см⁻¹ и высокочастотные пики при 1500 и 1610 см⁻¹ вызваны колебаниями пептидного остова вблизи хинона А1, большая узкая полоса при ~ 800 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. Аналогичным образом было проведено молекулярно-динамическое моделирование комплексов ФС 2 при температуре 77 К и в стекловидных пленках дисахарида трегалозы при температуре 300 К. По сравнению с ФС 1, пигмент-белковый комплекс ФС 2 проявляет

существенно более высокую подвижность при комнатной температуре: среднеквадратичное отклонение C α -атомов белового 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.

Публикации:

1. Анастасия А. Петрова, Баина К. Босхомджиева, Георгий Е. Милановский, Ольга А. Кокшарова, Махир Д. Мамедов, Дмитрий А. Черепанов, Алексей Ю. Семенов (Anastasia A. Petrova, Baina K. Boskhomdzhieva, Georgy E. Milanovsky, Olga A. Koksharova, Mahir D. Mamedov, Dmitry A. Cherepanov, Alexey Yu. Semenov) **Interaction of various types of photosystem I complexes with exogenous electron acceptors** Photosynthesis Research (2017 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#) [Q1](#)
2. Георгий Е. Милановский, Анастасия А. Петрова, Дмитрий А. Черепанов, Алексей Ю. Семенов (Georgy E. Milanovsky, Anastasia A. Petrova, Dmitry A. Cherepanov, Alexey Yu. Semenov) **Kinetic modeling of electron transfer reactions in photosystem I complexes of various structures with substituted quinone acceptors** Photosynthesis Research (2017 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#) [Q1](#)
3. Дмитрий А. Черепанов, Иван В. Шелаев, Федор Е. Гостев, Махир Д. Мамедов, Анастасия А. Петрова, Арсений В. Айбуш, Владимир А. Шувалов, Алексей Ю. Семенов, Виктор А. Надточено (Dmitry A. Cherepanov, Ivan V. Shelaev, Fedor E. Gostev, Mahir D. Mamedov, Anastasia A. Petrova, Arseniy V. Aybush, Vladimir A. Shuvalov, Alexey Yu. Semenov, Victor A. Nadtochenko) **Excitation of photosystem I by 760 nm femtosecond laser pulses: transient absorption spectra and intermediates** Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics (2017 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#) [Q1](#)
4. Дмитрий А. Черепанов, Иван В. Шелаев, Федор Е. Гостев, Махир Д. Мамедов, Анастасия А. Петрова, Арсений В. Айбуш, Владимир А. Шувалов, Алексей Ю. Семенов, Виктор А. Надточено (Dmitry A. Cherepanov, Ivan V. Shelaev, Fedor E. Gostev, Mahir D. Mamedov, Anastasia A. Petrova, Arseniy V. Aybush, Vladimir A. Shuvalov, Alexey Yu. Semenov, Victor A. Nadtochenko) **Mechanism of adiabatic primary electron transfer in photosystem I: Femtosecond spectroscopy upon excitation of reaction center in the far-red edge of the QY band** Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics (2017 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#) [Q1](#)
5. Дмитрий А. Черепанов, Иван В. Шелаев, Федор Е. Гостев, Махир Д. Мамедов, Анастасия А. Петрова, Арсений В. Айбуш, Владимир А. Шувалов, Алексей Ю. Семенов, Виктор А. Надточено (Dmitry A. Cherepanov, Ivan V. Shelaev, Fedor E. Gostev, Mahir D. Mamedov, Anastasia A. Petrova, Arseniy V. Aybush, Vladimir A. Shuvalov, Alexey Yu. Semenov, Victor A. Nadtochenko) **Mechanism of ultrafast electron transfer in Photosystem I: Femtosecond spectroscopy upon excitation of reaction center chlorophylls in the far-red edge of the QY band** сборник материалов конференции IX Voevodsky Conference "Physics and Chemistry of Elementary Chemical Processes", 25-30 июня, Академгородок, Новосибирск, Россия (2017 г.)
6. Иван Шелаев, Майкл Горка, Антон Савитский, Василий Курашов, Махир Мамедов, Федор Гостев, Клаус Мебиус, Виктор Надточено, Джон Гольбек, Алексей Семенов (Ivan Shelaev, Michael Gorka, Anton Savitsky, Vasily Kurashov, Mahir Mamedov, Fedor Gostev,

Klaus Möbius, Victor Nadtochenko, John Golbeck, Alexey Semenov) **Effect of Dehydrated Trehalose Matrix on the Kinetics of Forward Electron Transfer Reactions in Photosystem I** Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-International Journal Of Research In Physical Chemistry & Chemical Physics (2017 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#)

7. Иван Шелаев, Федор Гостев, Анастасия Петрова, Махир Мамедов, Алексей Семенов, Виктор Надточенко, Дмитрий Черепанов (Ivan Shelaev, Fedor Gostev, Anastasia Petrova, Mahir Mamedov, Alexey Semenov, Victor Nadtochenko, Dmitriy Cherepanov) **Фемтосекундные исследования первичных процессов, протекающих в реакционном центре фотосистемы 1, при возбуждении в полосу поглощения** материалы VIII Съезда Российского фотобиологического общества, Всероссийская конференция “Современные проблемы фотобиологии” пос. Шепси, 10–15 сентября 2017 г. (2017 г.) [РИНЦ](#)

8. Р.А. Хатыпов, А.М. Хрустин, Т.Ю. Фуфина, В.А. Шувалов (R. A. Khatypov, A. M. Khristin, T. Yu. Fufina, V. A. Shuvalov) **An Alternative Pathway of LightInduced Transmembrane Electron Transfer in Photosynthetic Reaction Centers of Rhodobacter sphaeroides** Biochemistry (Moscow) (2017 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#)

9. Мамедов М.Д., Семенов А.Ю. (M.D. Mamedov, A.Yu. Semenov) **Vectorial Charge Transfer Reactions in the Protein-Pigment Complex of Photosystem II** Photosynthesis: Structures, Mechanisms, and Applications, Springer, Cham. (2017 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#) [Q1](#)

10. В. Курашов, М. Горка, Г.Е. Милановский, В. Джонсон, Д.А. Черепанов, А.Ю. Семенов, Д. Гольбек (V. Kurashov, M. Gorka, G.E. Milanovsky, W. Johnson, D.A. Cherepanov, A.Yu. Semenov, J.H. Golbeck) **Critical evaluation of electron transfer kinetics in P700–FA/FB, P700–FX, and P700–A1 Photosystem I core complexes in liquid and in trehalose glass** Elsevier Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics (2018 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#) [Q1](#)

11. И.В. Шелаев, М.Д. Мамедов, Ф.Е. Гостев, А.В. Айбуш, М. Ли, Д. Нджуен, Б.Д. Брюс, В.А. Надточенко (I.V. Shelaev, M.D. Mamedov, F.E. Gostev, A.V. Aybush, M.Li, J. Nguyen, B.D. Bruce, V.A. Nadtochenko) **Comparisons of Electron Transfer Reactions in a Cyanobacterial Tetrameric and Trimeric Photosystem I Complexes** PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY (2018 г.) [WOS](#) [SCOPUS](#) [РИНЦ](#) [Q1](#)

12. И.В. Шелаев, Ф.Е. Гостев, А.А. Петрова, М.Д. Мамедов, А.Ю. Семенов, Д.А. Черепанов, В.А. Надточенко (I.V. Shelaev, F.E. Gostev, A.A. Petrova, M.D. Mamedov, A.Yu. Semenov, D.A. Cherepanov, V.A. Nadtochenko) **Влияние амплитудно-фазовых характеристик возбуждающего излучения на фемтосекундную динамику первичных процессов в реакционном центре фотосистемы 1 цианобактерии Synechocystis sp. PCC 6803** Сборник трудов XXIII ежегодной конференции Института химической физики им. Н.Н. Семенова РАН Секция "Динамика химических и биологических процессов" (2018 г.) [РИНЦ](#)