

# МОДЕЛИ РЕГУЛЯЦИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ЭЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТА

*Г. Ю. Ризниченко, А. Б. Рубин*

*Биологический факультет Московского государственного университета  
им. М.В. Ломоносова, 119992, Москва ГСП-2, Ленинские Горы, тел:  
(095)9390289, факс: (095) 9391115; E-mail: rznich@biophys.msu.ru*

Рассмотрены современные методы математического и компьютерного моделирования процессов в фотосинтетической мембране. Обобщенная кинетическая модель представляет собой систему дифференциальных уравнений и включает описание процессов в мультиферментных комплексах фотосистемы 1, фотосистемы 2, цитохромном комплексе, процессы сопряженного трансмембранного переноса протонов и других ионов, генерацию электрического и электрохимического потенциала, работу АТФ-синтазы. Модель позволяет одновременно следить за кинетикой разнородных переменных модели (концентрациями переносчиков, вероятностями состояний комплексов, величинами электрического и химического потенциалов). Модель адекватно описывает результаты экспериментов, в том числе кинетические особенности индукционной кривой флуоресценции при различных интенсивностях света, индукцию электрического потенциала в присутствии различных агентов и др.

Прямая многочастичная компьютерная модель фотосинтетической мембраны описывает процессы, происходящие на «сцене», включающей компартменты стромы, люмена и внутримембранного пространства. Движение подвижных переносчиков в компартментах описывается с помощью броуновской динамики. Модель позволяет наряду с кинетическими и статистическими характеристиками системы получить визуальное представление о движении отдельных переносчиков, перемещении электрона в системе, наглядно выявляет роль гетерогенного распределения комплексов фотореакционных центров и другие особенности пространственной организации фотосинтетической мембраны.

## **Введение**

Фотосинтетическая мембрана, в которой происходят электрон-транспортные процессы фотосинтеза и сопряженные с ними процессы запасаения энергии в виде трансмембранного потенциала и химических связей, является одной из наиболее изученных субклеточных систем. Схема

процессов в фотосинтетической мембране тилакоидов зеленых растений приведена на рис. 1.

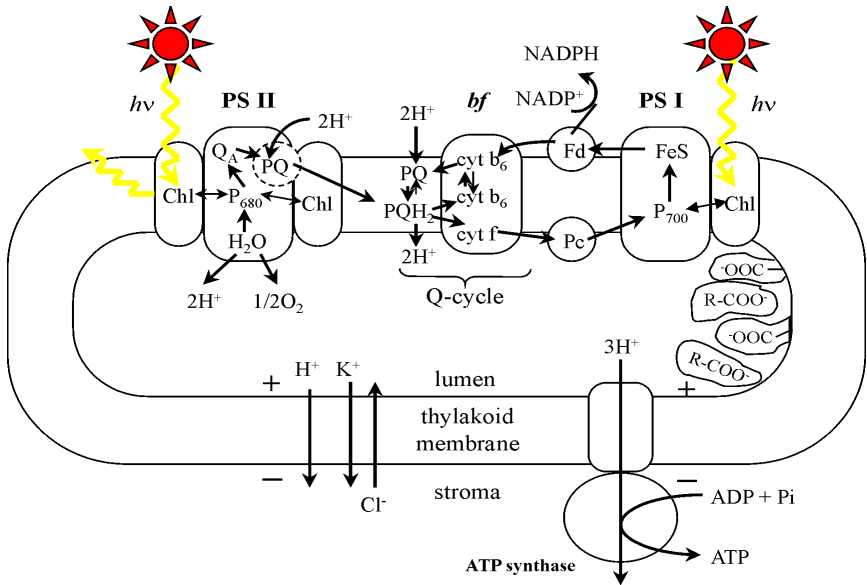


Рис. 1. Общая схема процессов, рассматриваемых в комплексной модели первичных процессов фотосинтеза: ФС1, ФС2 – фотосистемы 1 и 2, bf – цитохромный  $b_6/f$ -комплекс, Chl – хлорофилл антенны,  $P_{680}$  и  $P_{700}$  – пигменты реакционных центров фотосистем 2 и 1,  $Q_A$  – первичный хинонный акцептор электронов ФС2,  $b_l$  и  $b_h$  – низко- и высокопотенциальные гемы цитохрома b,  $FeS_R$  –железосерный центр Риске, f – цитохром f,  $FeS_I$  – акцепторный комплекс ФС1, PQ – пластохинон;  $PQH_2$  – пластохинол; Fd – ферредоксин, Pc – пластоцианин,  $R-COO^-$  – буферные группы. Знаки «+» и «-» показывают, что в результате светоиндуцированных процессов люмен тилакоида заряжается положительно, а строма хлоропласта – отрицательно. Жирные стрелки обозначают кванты света и флуоресценции. Тонкими стрелками показан перенос электронов по цепи электронного транспорта и потоки ионов  $H^+$ ,  $K^+$  и  $Cl^-$  после включения освещения

«Запуская» светом последовательность фотосинтетических процессов, можно «тестировать» систему и наблюдать кинетику переходных процессов состояний отдельных ее компонентов, в первую очередь методами спектрофотометрии, флуориметрии, ЭПР. Такая возможность прямых кинетических наблюдений за отдельными компонентами – редкое явление для субклеточных биологических систем, что делает привлекательным

построение математических моделей системы первичных процессов фотосинтеза. В этом состоит основное преимущество фотосинтетической системы по сравнению с большинством моделей метаболических сетей, где отсутствует возможность следить за изменениями концентраций отдельных внутренних метаболитов системы во времени, и потому построение моделей носит в большой мере феноменологический характер.

Возможность прямых кинетических измерений отдельных компонентов системы первичных процессов фотосинтеза и их состояний позволяет корректно ставить задачу идентификации параметров модели по данным кинетических экспериментов. В современных моделях математический аппарат описания отдельных стадий фотосинтетических процессов выбирается в соответствии с последними данными о структуре и функциональной организации этих стадий, в том числе об их пространственной организации.

В 70–80 годы 20 века было проведено большое число исследований на выделенных фрагментах реакционных центров фотосинтезирующих бактерий, а также фотосистем 1 и 2 высших растений, которые позволили оценить кинетические константы скорости переноса электрона между компонентами комплексов фотосинтетических реакционных центров. В последующие годы методом рентгеноструктурного анализа была расшифрована молекулярная пространственная структура отдельных переносчиков электрона, а также фотосинтетического реакционного центра бактерий, а потом и фотосистем 1 и 2 высших растений (Malkin and Niyogi, 2000).

В последние два десятилетия построены математические модели переноса электрона в пределах комплексов фотосинтетических реакционных центров фотосистемы 1 (Коваленко, Ризниченко, 2003, Riznichenko et al., 1990, Ризниченко и др., 1986), фотосистемы 2 ; (Lavergne and Trissl, 1995, Lazar, 2001, Shinkarev, 1998, Stirbet et al., 1998, Stirbet and Strasser, 1995, Stirbet and Strasser, 1996, Trissl et al., 1993, Trissl and Lavergne, 1994, Бухов и др., 1988) и АТФ-синтазы (Panke and Rumdberg, 1996, Rumdberg and Panke, 1998).

В основу моделей положено представление о функционировании мультиферментного комплекса как единого целого, причем в зависимости от сочетаний состояний отдельных компонентов комплекс как целое может находиться в некотором конечном числе состояний. Впервые такой подход для описания состояний комплекса фотосистемы 2 предложили независимо (Malkin, 1971) и (Сорокин, 1973). В монографии (Рубин и Шинкарев, 1984) дано строгое математическое обоснование и предложены методы анализа процессов переноса электрона в мультиферментных комплексах с помощью обыкновенных дифференциальных уравнений для вероятностей состояний. Применение этого метода для описания процессов

в комплексах реакционных центров бактерий, фотосистем 1 и 2 описано в книге (Ризниченко, 1991).

Процессы, происходящие в комплексах фотосинтетических реакционных центров, представляют биофизическую основу фотосинтеза. На этой основе строится сложная система регуляторных связей, обеспечивающих трансформацию энергии разделенных зарядов в энергию электрического и электрохимического трансмембранного потенциала, а затем в энергию АТФ и восстановленных пиридиннуклеотидов, используемых в цикле фиксации углерода. Возможность концептуального объединения знаний об отдельных элементах регуляции сложной системы процессов в фотосинтетической мембране дают математические и компьютерные модели.

В последние годы на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ разрабатываются модели совокупности процессов, происходящих в тилакоидной мембране. В настоящее время разработана генерализованная кинетическая модель фотосинтетической мембраны (Riznichenko et al., 1999, Беляева и др., 2001, Беляева и др., 2000, 2001, 2003, 2004, Ризниченко и др., 2000, Лебедева и др., 2000, 2002, 2003). Также разрабатывается прямая (многочастичная) компьютерная модель, позволяющая визуализировать процессы, происходящие в фотосинтетической мембране (Коваленко et al., 2003). В настоящей статье мы рассмотрим основные результаты и проблемы, сопряженные с данными исследованиями.

### **Типы регуляции фотосинтетических процессов**

Идентификация параметров моделей для реакций переноса электрона внутри комплексов фотосинтетических реакционных центров (бактериальных, фотосистем 1 и 2), а также констант скоростей на входе и выходе из комплексов показала существенное различие типов регуляции этих процессов (Riznichenko et al., 1999, Riznichenko and Rubin, 2003, Ризниченко и др., 2000).

Первый тип – световая регуляция в пределах мультиферментных пигмент-белковых комплексов – фотореакционных центров. Эксперименты на разных типах фотосинтетических реакционных центров показали, что эти оптимизированные в процессе эволюции системы сохраняют замечательное постоянство в своей функциональной и структурной организации при разных способах выделения в широком диапазоне внешних воздействий. Экранированные от внешних влияний белковым и липидным окружением, они сохраняют стабильность своих кинетических характеристик, в том числе способность к разделению зарядов и стабилизации разделенных зарядов и к фотоконформационным переходам. Основным регулирующим фактором на этом уровне является свет. Поглощение кванта

света приводит к перераспределению заряда в первичной фотоактивной паре и сопровождается конформационными переходами белковых компонентов комплекса фотореакционного центра, препятствующими обратному переносу электрона и потере энергии в процессе флуоресценции. Внутри комплексов константы скоростей зависят лишь от условий освещения и слабо варьируют. Регуляция здесь осуществляется в ходе электронно-колебательных и электронно-конформационных взаимодействий.

Другой тип регуляции электрон-транспортных процессов проявляется на участках взаимодействия комплекса ФС2 с цитохромным комплексом на уровне пластохинона, цитохромного комплекса с комплексом ФС1 на уровне пластоцианина, на участках, где в переносе электрона принимают участие подвижные переносчики. В нативной тилакоидной мембране кинетические параметры взаимодействия комплексов с подвижными переносчиками определяются числом актов этих взаимодействий, то есть как вероятностью посадки подвижного переносчика на соответствующий сайт на донорной или акцепторной стороне комплекса, так и временем диффузии подвижного переносчика к соответствующему комплексу. Здесь важную роль играют параметры диффузии подвижного переносчика в соответствующем компартменте (пластохинона – внутри мембраны, пластоцианина – в люмене, ферродоксина – в стромальном пространстве), которые во многом определяют возможность и эффективность электронного транспорта. Диапазон изменения констант скоростей переноса на этих участках при изменении внешних условий составляет несколько порядков, именно здесь находится место приложения регулирующих воздействий таких внутриклеточных факторов, как вязкость, pH, эндогенные ингибиторы, метаболиты и проч. Именно эти участки, где скорость переноса электрона зависит от пространственной организации мембраны и характера диффузии переносчиков, являются объектом регуляции со стороны целой клетки. Для изучения первичных процессов в нативных хлоропластах необходимы модели, которые учитывают всю совокупность процессов, проходящих в тилакоидной мембране. Наряду с событиями, происходящими в комплексах фотореакционных центров, большую роль здесь играют процессы, определяемые структурой и общей функциональной организацией тилакоидной мембраны – сопряженный перенос протонов во внутри-тилакоидное пространство, активность водоразлагающего комплекса, генерация электрического и электрохимического потенциала, потоки ионов через мембрану, работа АТФ-синтазы, роль буферных групп в люменальном и гранальном компартментах тилакоидов. Все эти процессы учитываются в разрабатываемой нами генерализованной кинетической модели фотосинтетической мембраны.

## Генерализованная модель процессов в фотосинтетической мембране тилакоида

Начиная с работ (Holzapfel and Bauer, 1975, Кукушкин и др., 1975), был построен ряд моделей, с разной степенью подробности описывающих процессы, протекающие согласно Z-схеме фотосинтеза, включающей последовательную работу фотосистем 2 и 1. Отличительная особенность нашей генерализованной модели заключается в том, что в ней детально описаны процессы, происходящие в комплексах фотосинтетических реакционных центров, а также учтена роль электрического и электрохимического потенциала в формировании электронных и ионных потоков через фотосинтетическую мембрану.

Схема взаимодействия систем и процессов, происходящих в мембране тилакоида, изображена на рис. 1. Светоиндуцированные процессы переноса электронов и ионов в системе происходят в поле электрически заряженной мембраны. Поэтому при описании всех стадий процессов, где заряженная частица (электрон или ион) перемещается перпендикулярно поверхности мембраны, необходимо учитывать влияние на скорость перемещения трансмембранного электрического потенциала ( $\Delta\psi$ ). В модели мы предполагали, что общее изменение количества заряда в люмене и строме при трансмембранном переносе определяет значение электрического потенциала как переменной величины модели. При этом мембрана рассматривается как конденсатор (Krab et al. 1985):

$$\frac{\tilde{n}_m}{F} \times \frac{d(\Delta\psi)}{dt} = v(q_{\text{luмен}}) - v(q_{\text{stroma}}).$$

Здесь  $c_m$  – удельная емкость тилакоидной мембраны,  $F$  – константа Фарадея,  $v(q_{\text{luмен}})$ ,  $v(q_{\text{stroma}})$  – скорости производства объемной плотности зарядов в люмене и строме.  $q_{\text{luмен}}$ ,  $q_{\text{stroma}}$  являются функциями концентраций ионов  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  в соответствующих компартментах тилакоида, которые являются переменными модели.

Концентрационная составляющая электрохимического потенциала  $\Delta p\text{H}$  также является переменной модели и в каждый момент времени определяется разностью концентраций протонов в строме и люмене:

$$\Delta p\text{H} = \ln [\text{H}_p] - \ln [\text{H}_n].$$

Таким образом, наряду с концентрациями отдельных переносчиков, модель описывает кинетику изменений электрического и электрохимического потенциала на фотосинтетической мембране. Рассмотрим основные типы структурных элементов системы и их описание в модели.

**Мультиферментные комплексы.** В липидную мембрану встроены пигмент-белковые комплексы фотосистемы 1, фотосистемы 2, цитохром-

ный комплекс, комплекс АТФ-синтазы, которые в определенных обстоятельствах могут перемещаться в мембране, однако скорости этого перемещения малы по сравнению с характерными временами первичных процессов фотосинтеза (менее  $0.1 \text{ сек}^{-1}$ ). Для описания процессов в пределах мультиферментных комплексов мы использовали уравнения для вероятностей состояний комплекса (Ризниченко, 1991; Рубин, Шинкарев, 1984).

В общем виде математическое описание процессов переноса электрона в молекулярном комплексе сводится к следующему. Состояние комплекса

$$\rightarrow [C_1 C_2 \dots C_n] \rightarrow \quad (1)$$

описывается упорядоченной совокупностью состояний компонентов  $C_i$ , входящих в комплекс. Каждый из переносчиков может находиться в окисленном, восстановленном, нейтральном, возбужденном, том или другом конформационном или ином состоянии. Переходы между состояниями описываются обыкновенными дифференциальными уравнениями, линейными относительно вероятностей состояний:

$$\frac{dp_i}{dt} = \sum_{j=1}^l (p_j k_{ij} - p_i k_{ji}), \quad p_i(0) = b, \quad i = 1, \dots, l. \quad (2)$$

Или в векторной форме:

$$\frac{dP}{dt} = K^T P, \quad P(0) = B. \quad (3)$$

Вероятность найти переносчик в состоянии  $D$  представляет собой сумму вероятностей состояний комплекса  $p_i$ , в которых данный компонент представлен в состоянии  $D$ :

$$P(D) = \sum_{S_q \in D} P(S_q, t). \quad (4)$$

Отметим, что вероятности переходов между состояниями  $k_{ij}$  могут не быть постоянными величинами, а зависеть как от состояния всего комплекса (например, локализованного в стромальной или гранальной части тилакоида), так и от иных переменных или параметров системы: температуры, трансмембранного потенциала, внешнего электрического поля и проч.

Схемы состояний отдельных мультиферментных комплексов могут входить в модель с разной степенью подробности в зависимости от целей моделирования. Наиболее часто используемым индикатором состояния фотосинтетического аппарата нативной фотосинтетической мембраны является флуоресценция, источником которой служит фотосистема 2. Поэтому наиболее детально нами рассматривалась схема состояний ФС2 (рис. 2). Обозначения приведены в подписи к рисунку. На рис. 3, 4 приведены схемы состояний цитохромного комплекса и фотосистемы 1. Более подробному описанию этих комплексов посвящены наши работы (Коваленко and Ризниченко, 2003, Лебедева et al., 2003).

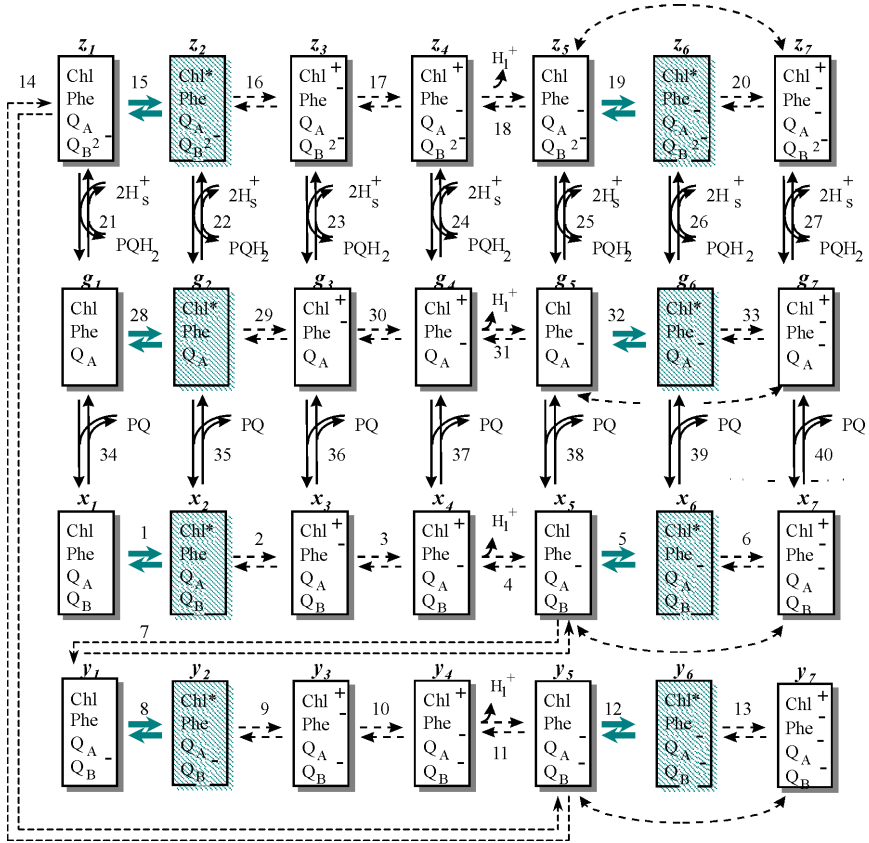


Рис. 2. Схема каталитического цикла фотосистемы 2. Каждый прямоугольник представляет собой одно из кинетических состояний ФС2, определяемое редокс-состоянием входящих в него переносчиков электронов. Затененными показаны состояния, способные к испусканию квантов флуоресценции. *Chl* – весь хлорофил ФС2, включая пигменты антенны и пигмент реакционного центра P680; *Phe* – первичный акцептор электронов феофитин;  $Q_A$  и  $Q_B$  – первичный и вторичный хиноновые акцепторы. *PQ* – пластохинон; *PQH<sub>2</sub>* – пластохинол;  $H_L^+$  – протоны, выделяемые в люмен,  $H_S^+$  – протоны, поглощаемые из стромы тилакоида. Пунктирными стрелками показаны быстрые (с характерным временем менее 0.1 мс) стадии цикла, сплошными стрелками – медленные (с характерным временем не менее 1 мс) стадии, жирными стрелками – световые стадии. Цифры рядом со стрелками соответствуют номерам реакций, буквы над прямоугольниками ( $x_i, y_i, z_i, g_i, i=1, \dots, 7$ ) – обозначениям переменных модели



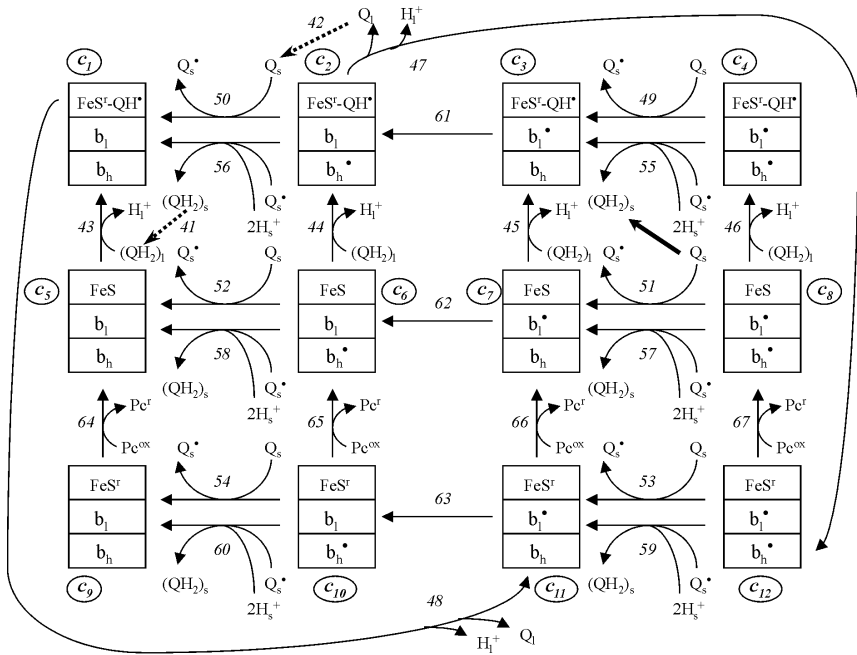


Рис. 3. Схема каталитического цикла цитохромного  $b_6f$ -комплекса. Каждый прямоугольник представляет собой одно из возможных кинетических состояний  $b_6f$  комплекса, определяемое редокс-состоянием входящих в него переносчиков электрона. Блок цитохромного  $b_6f$ -комплекса включает перенос электронов от  $PQH_2$ , восстановленного на стромальной стороне ФС2 согласно схеме процессов, называемой  $Q$ -циклом. После восстановления в ФС2 пластохинол  $PQH_2$  диффундирует в мембране (реакция 41). При окислении  $PQH_2$  в люменальном сайте  $b_6f$ -комплекса один электрон поступает на железосерный центр Риска (высокопотенциальный путь), другой – на окисленный гем  $b_l$  (низкопотенциальный путь). Электрогенными полагали стадии: (1) выделение двух протонов в люмен (реакции 43-48), сопутствующее окислению  $PQH_2$  до  $PQ$ , (2) поглощение двух протонов ( $H_5^+$ ) из стромы (реакции 55–60) в стромальном сайте, (3) трансмембранный перенос электрона от гема  $b_l$  к окисленному высокопотенциальному гему  $b_h$  (реакции 61-63).  $c_i$ ,  $i = 1, 2, \dots, 12$  – обозначения переменных модели.  $Pc^r$  и  $Pc^{ox}$  – пластоцианин, восстановленный и окисленный соответственно

**Зависимость параметров модели от потенциала.** Фотосинтетическая мембрана представляет собой своеобразный конденсатор. Процессы трансмембранного переноса электронов и ионов приводят к созданию трансмембранного электрического потенциала на мембране, который в свою очередь оказывает влияние на электронные потоки. Многочислен-

ные эксперименты с воздействием внешнего поля подтверждают, что скорость переноса электрона в пределах мультиферментного комплекса зависит от потенциала на тилакоидной мембране (Dau and Sauer, 1992, Zheng et al., 1990).

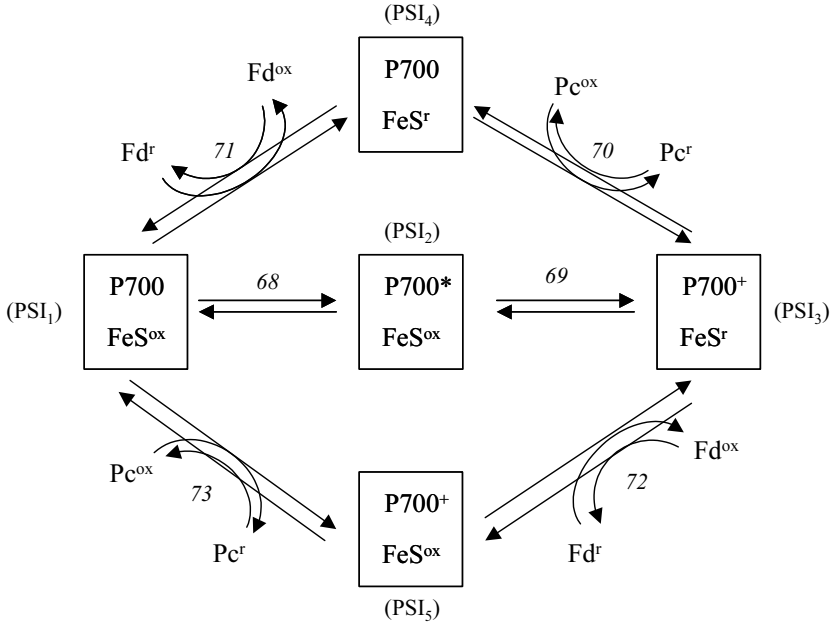


Рис. 4. Упрощенная схема процессов переноса электрона в ФС1: P<sub>700</sub> – хлорофилл реакционного центра; FeS<sup>r</sup> и FeS<sup>ox</sup>, Fd<sup>r</sup> и Fd<sup>ox</sup>, Pc<sup>r</sup> и Pc<sup>ox</sup> – акцепторный комплекс ФС1, ферредоксин и пластоцианин в восстановленном (r) и окисленном (ox) состояниях. Обозначения PSI<sub>i</sub>, i = 1, 2, ... 5, соответствуют переменным модели

В модели мы полагали, что скорость переноса электрона на участках, перпендикулярных плоскости мембраны, зависит от  $\Delta\psi$ . При этом для равновесного состояния суммарной реакции переноса заряда через мембрану справедливо следующее соотношение:

$$\frac{[\text{исходные реагенты}]}{[\text{результатирующие реагенты}]} = K_{eq} \cdot \exp\left(\frac{nF\Delta\psi}{RT}\right).$$

В левой части формулы отношение концентраций реагентов, участвующих в переносе заряда, в правой части – константа равновесия, учитывающая изменение свободной энергии за счет воздействия  $\Delta\psi$  на суммарный переносимый заряд.  $F$  – константа Фарадея,  $n$  – общее число зарядов,

переносимых через мембрану,  $K_{eq}$  – константа равновесия в отсутствие  $\Delta\psi$ . Подобное соотношение использовали для оценки электрогенности каждой отдельной стадии переноса заряда, при этом и константы скорости соответствующих реакций зависят от  $\Delta\psi$  следующим образом:

$$k_j(\Delta\psi) = k_j^0 \exp(\delta\beta_j F\Delta\psi / 2RT),$$
$$k_{j-}(\Delta\psi) = k_{j-}^0 \exp(-(1-\delta)\beta_j F\Delta\psi / 2RT).$$

Здесь индекс ( $^0$ ) относится к константе скорости при  $\Delta\psi=0$ .  $\beta_j$  указывает вклад каждой электрогенной стадии в генерацию  $\Delta\psi$ ,  $\delta$  – часть общего мембранного потенциала ( $\beta_j \Delta\psi$ ), которая влияет на константу скорости прямой реакции.

Учет зависимости скоростей реакций от трансмембранного электрического потенциала является важной особенностью модели и позволяет описать в рамках единой модели целый класс экспериментальных зависимостей.

**Подвижные переносчики.** Перенос электрона между комплексами осуществляется подвижными переносчиками, при этом в каждом из пространственных компартментов системы перемещаются биомакромолекулы разной природы. В люменальном внутреннем пространстве тилакоида – это молекулы белка пластоцианина, во внешнем стромальном пространстве – молекулы белка ферродоксина, внутри бислоевого липидного слоя мембраны – молекулы пластохинона в нейтральной и дважды протонированной форме (пластохинол). Во второй части данной работы мы рассмотрим подход «прямого» моделирования, позволяющий с помощью формализма броуновской динамики описывать индивидуальных подвижных переносчиков в различных компартментах тилакоида. В кинетической генерализованной модели мы описывали их взаимодействие с комплексом с помощью традиционного аппарата уравнений действующих масс.

**Трансмембранный перенос протонов и других ионов.** Трансмембранный перенос протонов внутрь мембраны против градиента концентраций сопряжен с процессами электронного транспорта и происходит на нескольких участках фотосинтетической цепи.

Наибольший вклад в создание электрохимического протонного потенциала на мембране вносит перенос протонов молекулами двухэлектронного переносчика пластохинона. Подвижная в мембране молекула пластохинона присоединяется к акцепторному сайту фотосистемы 2, получает последовательно два электрона и присоединяет из стромального пространства два протона. Дважды протонированная нейтральная молекула пластохинола ( $PQH_2$ ) отсоединяется от комплекса ФС2 и начинает

свободно диффундировать во внутримембранном пространстве, пока не осуществится контакт с люминальным сайтом цитохромного комплекса. В процессе этого контакта два электрона последовательно переходят в цепь цитохромного комплекса, а два протона выделяются в люминальное пространство, внося вклад в создание электрохимического градиента протонов на мембране. Выделение протонов в люминальное пространство происходит также в процессе разложения воды водоразлагающим комплексом на донорной стороне ФС2. Эти процессы включены в схему переходов между состояниями мультиферментного комплекса ФС2 (рис.2), учитывающую процессы, связанные с созданием трансмембранного градиента протонов.

Перенос протонов внутрь тилакоида может происходить также в процессе циклического транспорта электронов вокруг фотосистемы 1 с участием молекулы PQ.

Расходование  $\Delta\mu\text{H}$  происходит в процессе работы АТФ-синтазы, в ходе которой создаются молекулы АТФ из АДФ и неорганического фосфата. При этом используется энергия градиента протонов, процесс сопровождается возвращением протонов из люминального в стромальное пространство. Уменьшение градиента протонов происходит и вследствие пассивной утечки протонов из люминального пространства.

Захват и освобождение протонов в стромальном и люминальном сайтах ФС2 и цитохромного комплекса, сопряженные со светоиндуцированным переносом электрона, приводят к перераспределению зарядов в стро-ме и люмене. Создаваемый электрический потенциал ( $\Delta\psi$ ) вызывает пассивные потоки ионов через тилакоидную мембрану. Наряду с пассивной утечкой протонов, имеют место потоки других ионов, в нашей модели мы учитывали потоки ионов  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ .

Для описания процессов утечки ионов мы использовали представление о трехбарьерном механизме переноса ионов через канал (эйринговский подход). Влияние трансмембранного потенциала  $\Delta\psi$  на скорость процесса описывали в соответствии с формулой (Рубин, 2000):

$$V_I = \frac{V_I \cdot e^{\delta_I \psi} \cdot (I_p - e^{-\psi} \cdot I_n)}{\left(1 + \frac{I_p \cdot e^{\delta_K \psi}}{K_p}\right) \cdot \left(1 + \frac{I_n \cdot e^{\delta_I \psi}}{K_n}\right)}$$

Этот же формализм использовали для описания механизма АТФ-синтазной реакции.

В формировании градиента протонов принимают участие буферные группы, локализованные в люминальном и стромальном пространстве. В модели учитываются реакции ассоциации-диссоциации этих групп.

## **Флуоресценция – индикатор состояния фотосинтезирующей системы**

Современные исследования в основном сосредоточены на изучении хлоропластов и целых фотосинтезирующих клеток водорослей и высших растений. Спектральные измерения, регистрирующие изменение редокс-состояний отдельных переносчиков, входящих в состав фотосинтетических реакционных центров на нативных объектах, значительно затруднены по сравнению с выделенными фотосинтетическими реакционными центрами. Поэтому основным показателем фотосинтетической активности является флуоресценция. В большой мере это связано также с тем, что для наблюдения кинетической кривой индукции флуоресценции разработаны удобные экспериментальные приемы, например, так называемые РАМ-флуорометры, использующие быстро следующие друг за другом насыщающие импульсы света малой длительности (Hormann, 1994, Schreiber and Bulger, 1993).

Основным источником испускания флуоресценции являются возбужденные молекулы хлорофилла фотосистемы 2, однако интенсивность свечения зависит от всей совокупности процессов, происходящих в фотосинтетической мембране. Таким образом, регистрируя кинетическую кривую изменения интенсивности флуоресценции во времени при различных условиях, можно получать информацию о процессах, происходящих на разных стадиях преобразования энергии в фотосинтетической мембране.

Классические экспериментальные индукционные кривые флуоресценции для разных интенсивностях света приведены на рис. 5а. Кинетическую кривую флуоресценции, регистрируемую после включения освещения, принято разделять на две фазы: быстрая фаза – возрастание интенсивности флуоресценции от начального уровня  $F_0$  до максимального  $P$  за времена порядка одной секунды, и медленная фаза – релаксация интенсивности флуоресценции к некоторому стационарному состоянию за времена порядка десятков секунд. Кривая может иметь весьма сложный характер, причем отдельные кинетические особенности приписываются влиянию разных компонентов фотосинтетического аппарата (Dau, 1994). Встает вопрос, что можно сказать о состоянии фотосинтетического аппарата растительной клетки, изучая кинетическую кривую индукции флуоресценции, и насколько эти выводы однозначны. Обсуждению этого вопроса посвящено большое количество работ, например: (Bernhardt and Trissl, 1999, Edwards and Baker, 1993, Govindjee, 1995, Schreiber and Bulger, 1993).

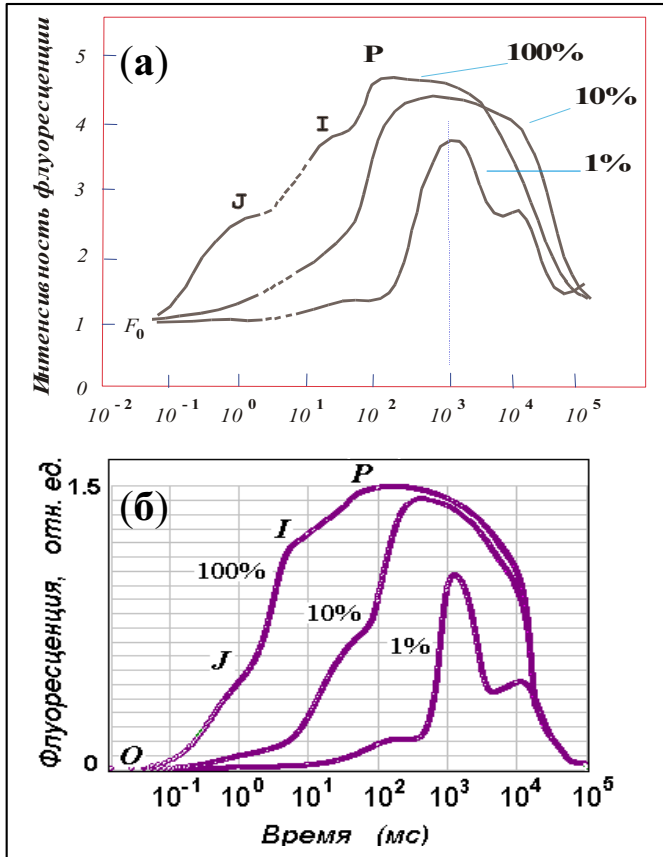


Рис. 5. Экспериментальные и модельные кривые индукции флуоресценции хлорофилла при разных интенсивностях освещения. (а) Кривые ИФ, полученные в эксперименте при освещении адаптированных к темноте листьев гороха красным (650 нм) светом интенсивностью 600 (100%), 60 (10%) и 6 (1%) Вт·м<sup>-2</sup>. Цитируется по (Strasser *et al.* 1995). (б) Кривые ИФ, рассчитанные с помощью модели. Расчеты производились для трех разных уровней освещения объекта: 1000 (100%), 100 (10%) и 10 (1%) Вт·м<sup>-2</sup>, которым соответствовали значения световых констант ФС2, равные 1500, 150 и 15 с<sup>-1</sup>

В последнее десятилетие большинство моделей фотосинтетических процессов ставило своей целью воспроизвести особенности индукционной кривой флуоресценции. Эти работы делятся на две группы. К первой группе относятся работы, посвященные изучению и моделированию кинети-

тических особенностей быстро нарастающего участка индукционной кривой (рис. 5, участок O–P). Рассматриваются процессы, протекающие на временах от миллисекунд до одной секунды. Ко второй группе относятся модели, описывающие участок спада индукционной кривой. Кинетические особенности здесь определяются процессами с характерными временами секунды, десятки секунд – минуты. Понятно, что на таких временах начинают сказываться регуляторные влияния более медленных процессов генерации трансмембранного электрохимического потенциала, взаимодействия системы первичных реакций с циклом Кальвина фиксации углерода, процессы энергизации мембраны, хлоропластного дыхания и другие. (Flugge, 1995, Foyer et al., 1990, Ireland et al., 1984, Riznichenko et al., 1996, Кузнецова и Кукушкин, 1996). В настоящее время установлено, что основной вклад в излучение флуоресценции вносит хлорофилл фотосистемы 2 (Hall and Rao, 1994) поэтому для описания процессов быстрой фазы флуоресценции строили модели электрон-транспортных процессов в комплексе фотосистемы 2. В работах (Бухов и др., 1988; Lavergne and Trissl, 1995, Trissl et al., 1993, Trissl and Lavergne, 1994) моделировали кривую флуоресценции в присутствии диурона, не рассматривая деталей переноса электронов в реакционный центр ФС 2 от водоразлагающего комплекса и полагая заблокированным перенос между первичным и вторичным хиноном. (Baake and Schloder, 1992, Baake and Strasser, 1990, Hsu, 1992, Hsu, 1993, Renger and Shulze, 1985) рассматривали процессы в фотосистеме 2 при низкой интенсивности света. В работах (Stirbet et al., 1998, Stirbet and Strasser, 1995, Stirbet and Strasser, 1996, Lazar, 2003) процессы в фотосистеме 2 описаны значительно более детально. Рассмотрены процессы переноса электронного возбуждения от молекул хлорофилла светособирающего комплекса на фотоактивный пигмент фотосистемы 2, взаимодействие фотореакционного центра ФС2 с водоразлагающим комплексом и хиноновым пулом. В результате на модели получены характерные особенности быстрой стадии кинетической кривой индукции флуоресценции – промежуточный максимум и точки перегиба, характерные для высоких интенсивностей освещения. Однако модель изолированной фотосистемы 2 не позволяет описать кинетику индукции флуоресценции при средних и низких интенсивностях света, а также медленную фазу индукционной кривой. Причина этого очевидна – в более медленных процессах лимитирующими становятся реакции не в самой ФС2, а на более удаленных стадиях электрон-транспортной цепи.

Разработанная нами генерализованная модель (Riznichenko et al., 1999, Беляева и др., 2000, 2001, 2003; Ризниченко и др., 2000; Лебедева и др., 2000, 2002), включающая описание всей электрон-транспортной цепи, позволяет описать вид кривой индукции флуоресценции при различных интенсивностях света. Результаты моделирования экспериментальной ки-

нетической кривой быстрой индукции флуоресценции при разных интенсивностях света, основанные на детальном рассмотрении схемы возможных состояний комплекса реакционного центра ФС2, представлены на рис. 5 б. Интенсивность флуоресценции пропорциональна сумме состояний с индексами 2 и 6 в схеме состояний комплекса фотосистемы 2, приведенной на рис. 2. Обозначения даны в подписи к рисунку.

Исследование показало, что для описания индукции флуоресценции при низких интенсивностях света и процессов на временах более 1 с (медленная фаза индукции флуоресценции) необходимо включить в модель процессы генерации электрического и электрохимического потенциала, а также рассмотреть процессы в цепи переноса электрона, происходящие в цитохромном комплексе и комплексе фотосистемы 1. Подробное описание результатов моделирования дано в (Беляева и др., 2001, Лебедева и др., 2000, 2002).

### **Результаты и возможности моделирования**

Сформулированная модель дает возможность изучать поведение целостной фотосинтетической мембраны на основе заложенных в модель представлений об отдельных элементах системы и их взаимосвязи. Интеграция знаний в виде генерализованной модели позволяет проводить вычислительные эксперименты, в процессе которых изучать кинетику отдельных компонентов при разных значениях внутренних и внешних параметров системы и таким образом выяснять механизмы регуляции процессов. Кинетика компонентов системы при включении света разной интенсивности приведена на рис. 6. Анализ и сравнение кинетического хода кривых позволяет выявить роль отдельных состояний комплекса фотосистемы 2 (рис. 6 б) и ионных потоков (рис. 6 в) в формировании индукционных кривых флуоресценции ( $I$ ) и трансмембранного электрического потенциала (кривая  $F$ , рис. 6 а, кривая  $\Delta\psi$ ).

Модель позволяет описать совокупность экспериментальных данных по регистрации индукции электрического потенциала в различных условиях эксперимента и прояснить роль потенциала в формировании сигнала флуоресценции. В настоящее время с помощью модели изучаются детали механизмов формирования индукционной кривой флуоресценции, зарегистрированной с помощью использующих серии вспышек РАМ-флуорометров и роль параметров системы в формировании сигнала флуоресценции на временах, превышающих 1 сек, когда существенную роль начинают играть процессы генерации трансмембранного электрохимического потенциала.



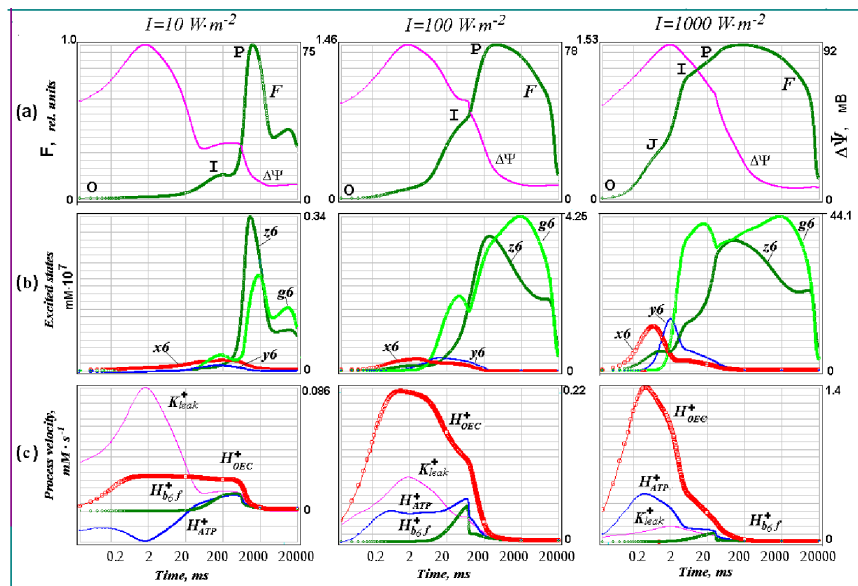


Рис. 6. Индукционные кривые, рассчитанные с помощью модели первичных процессов фотосинтеза для трех разных интенсивностей освещения объекта: 1000, 100 и 10 (1%)  $\text{Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ . Рисунки, расположенные в одном столбце, соответствуют одинаковому уровню освещенности. Результаты показаны на логарифмической шкале времени. **(а)** относительный выход флуоресценции (F) и значение трансмембранного электрического потенциала ( $\Delta\Psi$ ); **(б)** концентрации различных возбужденных состояний ФС2; **(в)** скорости процессов, генерирующих и потребляющих электрический заряд в люмене тилакоида:  $H_{\text{bf}}^+$  – поток протонов в люмен при окислении пластохинола на люменальной стороне bf-комплекса;  $H_{\text{КВК}}^+$  – поток протонов в люмен от кислородвыделяющего комплекса ФС2;  $H_{\text{АТФ}}^+$  – скорость потребления протонов люмена в АТФ-синтазной реакции;  $K_{\text{leak}}^+$  – скорость утечки ионов  $K^+$  из люмена тилакоида.

Модель допускает изменения структуры, связанные с потребностью более детального исследования тех или иных компонентов системы.

### Недостатки кинетического моделирования. Прямое моделирование процессов в фотосинтетической мембране

Кинетические модели, построенные на основе математического аппарата обыкновенных дифференциальных уравнений, исходят из предположения о гомогенном распределении компонентов системы в пространстве. Предполагается, что мультиферментные комплексы фотосистем 1 и 2 и цитохромного комплекса распределены в мембране равномерно, взаи-

действие комплексов с подвижными переносчиками описывается с помощью уравнений действующих масс.

В последние годы было выполнено большое число работ по изучению гетерогенной структуры фотосинтетической мембраны. Результаты электронной микроскопии свидетельствуют о плотном расположении мультиферментных комплексов в мембране, что делает невозможным свободную диффузию PQ<sub>o</sub> в внутримембранном пространстве. Данные (Albertsson, 2001, Норе, 2000) показывают, что фотосинтетические реакционные центры в тилакоидной мембране расположены настолько близко друг к другу, что в люминальном пространстве необходимо рассматривать ограничения движения молекул PC в силу того, что мембранные комплексы выступают на значительное расстояние внутрь мембраны. Нельзя считать диффузию априори свободной и в стромальном пространстве.

Таким образом, выявляются недостатки кинетического моделирования, в основу которого положено предположение о гомогенности системы. Главные из них – трудность моделирования гетерогенной структуры и неправомерность предположения о свободной диффузии подвижных переносчиков.

Структурные особенности организации гетерогенной фотосинтетической мембраны могут быть описаны с помощью прямой многочастичной компьютерной модели. Возможность построения такой модели появилась в последнее время в связи с бурным развитием информационных технологий, многократно возросшими вычислительными ресурсами, развитием объектно-ориентированного программирования и методов визуализации. Наряду с кинетическими характеристиками, которые можно получить на традиционной кинетической модели, прямая модель позволяет дать трехмерное визуальное представление динамики процессов в системе на разных пространственных и временных масштабах, дает возможность наблюдать за поведением индивидуальных компонентов и получать статистические сведения о системе.

При кинетическом подходе к моделированию представляют трудности моделирования докинга, то есть образования комплекса подвижной молекулы, например P<sub>c</sub>, с мультиферментным комплексом, например комплексом реакционного центра фотосистемы I. Процесс «заякоривания» молекулы определяется не только вероятностью столкновения с донорной частью комплекса, но и тем, насколько близко окажутся при этом активные центры, то есть необходимо рассматривать, какие части реагирующих макромолекул сближаются.

При описании системы с помощью дифференциальных уравнений естественным образом затруднено моделирование конформационных переходов и других процессов, связанных с пространственной структурой и особенностями функционирования как самих реагентов, так и их окруже-

ния. Все эти особенности могут быть воспроизведены при использовании метода «прямого» или многочастичного моделирования.

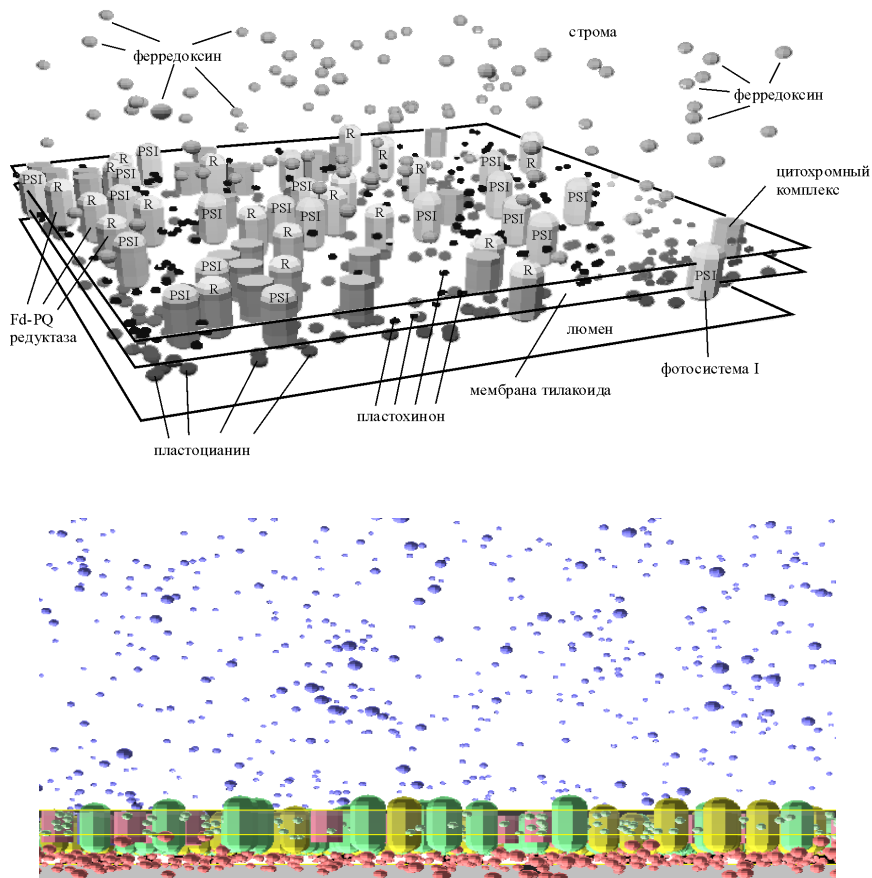


Рис. 7. Трехмерная сцена прямой многочастичной модели фотосинтетической мембраны. Показаны часть мембраны тилакоида, люменальное и стромальное пространства. Вверху: вид сверху под углом. Внизу: вид сбоку, в плоскости тилакоидной мембраны

Модель представляет собой трехмерную сцену (рис. 7), в которую включены: мембрана тилакоида, внутритилакоидное пространство, люменальное пространство. На сцене находятся фиксированные в данной версии модели мультиферментные комплексы (ФС 1, ФС2, цитохромный

комплекс, АТФ-синтазный комплекс) и подвижные переносчики электрона (Pc, Fd, PQ).

Для моделирования движения Pc, Fd, PQ в пространствах соответствующих компартментов использовался математический аппарат описания броуновского движения с учётом геометрических ограничений, налагаемых сформированной модельной сценой. Предполагается, что движение частицы происходит в вязкой среде под действием случайной силы, возникающей из-за столкновений с молекулами среды. Для моделирования этого процесса использовали уравнение Ланжевена, описывающее изменение каждой координаты со временем под действием случайной силы:

$$\xi \frac{dx}{dt} = f(t),$$

где  $\xi$  – коэффициент трения,  $f(t)$  – случайная сила, распределенная нормально с нулевым средним и дисперсией, равной  $2kT\xi$ . Здесь  $k$  – постоянная Больцмана,  $T$  – температура. Коэффициент трения для сферической частицы определяется по формуле  $\xi = 6\pi\eta a$ , где  $\eta$  – вязкость среды,  $a$  – радиус частицы.

Уравнение решается численно, причем шаг по времени  $dt$  подбирается таким, чтобы корень из дисперсии перемещения частицы на каждом шаге (среднее перемещение частицы на каждом шаге) был порядка одной десятой диаметра мобильного переносчика. Такой выбор шага обеспечивает приемлемую точность вычислений и время расчета. На боковых границах области моделирования использовали тороидальные (периодические) граничные условия, также учитывалось отражение частиц от физических поверхностей, включая мембрану и белковые комплексы. Каждый из переносчиков, принимающих участие в процессе электронного транспорта, мог переносить или не переносить электрон, что при визуализации динамики системы в виде «мультифильма» изображалось условным изменением цвета частицы.

Состояния комплексов, механизмы взаимодействия комплексов и переносчиков, законы движения переносчиков задаются с помощью определенных правил. На использованном нами уровне детализации это выглядит следующим образом (рис. 7). Внутренняя часть тилакоида ограничена мембраной. Внутри тилакоида (в люмене) движутся частицы Pc, которые могут нести на себе электрон. Снаружи (в строме) движутся частицы Fd, которые тоже могут нести на себе электрон. Мембрану пронизывают комплексы FC1, FC2, цитохромные комплексы. Концентрации и размеры комплексов выбирали в соответствии с литературными данными (Albertsson, 2000, Albertsson, 2001, Malkin and Niyogi, 2000).

Механизм передачи электрона следующий: если частица подвижного переносчика в результате хаотического броуновского движения прибли-

жается к белковому комплексу на расстояние, меньшее некоторого эффективного радиуса взаимодействия между ними, то с некоторой вероятностью происходит посадка переносчика на комплекс. Эффективный радиус взаимодействия – это параметр модели, характеризующий максимальное расстояние, при котором возможен докинг. Эффективные радиусы взаимодействия выбирали равными размерам взаимодействующих белков, т.е. докинг происходил, когда переносчик сталкивался с комплексом. Вероятность посадки на комплекс также является параметром модели. Оценить эффективные радиусы взаимодействия и вероятности посадки подвижных переносчиков на комплексы можно, исследуя влияние этих величин на кинетические константы взаимодействия подвижного переносчика и комплекса.

Эффективный радиус взаимодействия  $r$  – это параметр модели, характеризующий расстояние между подвижным переносчиком и комплексом, при сближении на которое начинают действовать электростатические силы, приводящие к посадке (докингу) подвижного переносчика на комплекс. При этом вероятность  $p$  также является параметром модели. В разработанной к настоящему времени версии модели вероятности докинга, рассчитанные из экспериментально найденных кинетических констант скоростей связывания подвижного переносчика и комплекса, неявно включают в себя их электростатическое взаимодействие. В настоящее время ведется работа по моделированию электростатических взаимодействий в явном виде с учетом распределения заряда на макромолекулах.

Для каждого типа комплекса и подвижного переносчика задается свое характерное время реакции образования и распада комплекса и характерное время передачи электрона между комплексом и подвижным переносчиком.

Метод многочастичного прямого моделирования был проверен для системы выделенных частиц в растворе. Кинетические кривые, полученные методом многочастичного моделирования для взаимодействия двух типов частиц в растворе, совпадают с теоретическими кинетическими кривыми, соответствующими закону действующих масс. Это подтверждает правомерность применения метода прямого моделирования для описания процессов электронного переноса.

## **Моделирование циклического транспорта электронов вокруг фотосистемы 1**

Метод прямого моделирования был применен для описания процессов циклического электронного транспорта вокруг фотосистемы 1. Параллельно была построена серия кинетических моделей разной степени детализации. Решали задачу о механизмах формирования кинетики релакса-

ции сигнала ЭПР (рис. 9а) при различных концентрациях добавленного Fd, в частности, вопрос о природе медленного компонента сигнала. В литературе этот вопрос многократно обсуждался. Высказывалась гипотеза, что этот компонент связан с восстановлением фотоактивного пигмента фотосистемы 1 P700 от пула неспецифических доноров и акцепторов.

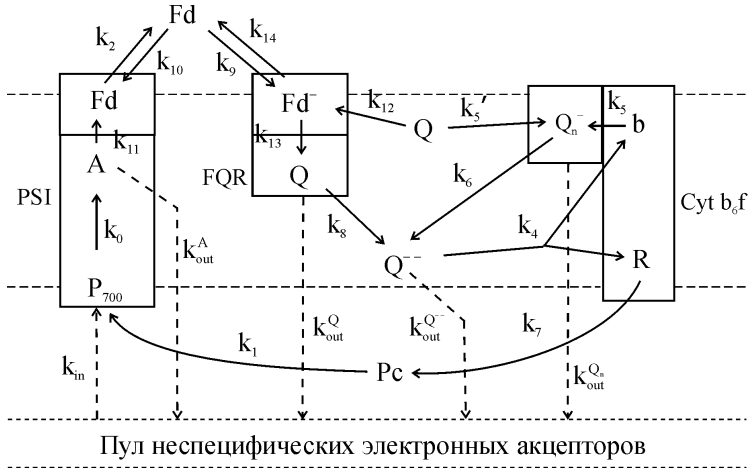


Рис. 8. Схема кинетической модели циклического транспорта электронов вокруг PSI. Прямоугольниками обозначены комплексы PSI, FQR и цитохромный b<sub>6</sub>/f-комплекс. P<sub>700</sub> – пигмент реакционного центра PSI, A – обобщенный акцептор, R – центр Риске, b – высокопотенциальный цитохром b<sub>n</sub>, Fd – ферредоксин, Pc – пластоцианин, Q – пластохинон, Q<sup>-</sup> – пластохинол, Q<sub>n</sub> – семихинон на n-сайте комплекса цитохромов (у внешней поверхности мембраны). Стрелками показаны пути электронного транспорта, k<sub>in</sub>, k<sub>out</sub>, k<sub>1</sub>, ..., k<sub>14</sub> – константы скоростей соответствующих реакций переноса электрона. Пунктирными линиями изображены границы тилакоидной мембраны и граница пула неспецифических акцепторов и доноров электронов

Схема кинетической модели циклического транспорта вокруг фотосистемы 1 представлена на рис. 8. В схеме учтены процессы докинга молекул подвижного переносчика Fd на акцепторной стороне ФС1, участие цитохромного комплекса в окислительно-восстановительных превращениях PQ. Предполагается, что передача электрона с Fd на Pq осуществляется с помощью белкового комплекса ферредоксин-хинон-редуктазы FQR, имеющего сайт посадки Fd, экспонированный в стромальную область и сайт посадки PQ, экспонированный внутрь мембраны.

Кинетическая модель была построена с использованием систем уравнений для вероятностей состояний мультиферментных комплексов

реакционного центра фотосистемы 1 и цитохромного комплекса. Взаимодействие подвижных переносчиков с комплексами описывали с помощью закона действующих масс. Модель позволила описать совокупность экспериментальных данных по кинетике восстановления P700 при различных концентрациях Fd.

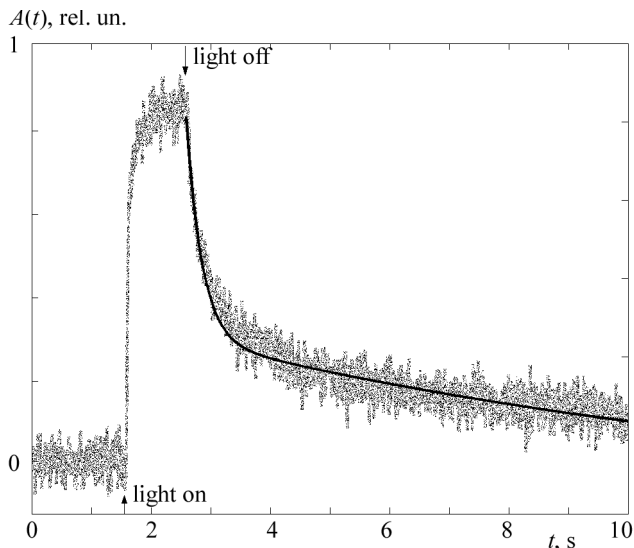


Рис. 9. Экспериментальный сигнал ЭПР (а) и полученная на прямой модели кинетика (б) окислительно-восстановительных превращений  $P700^+$  в натуральных и численных экспериментах по изучению организации циклического транспорта вокруг фотосистемы 1

Как и в эксперименте, амплитуда и вклад быстрой фазы сигнала увеличивается с ростом концентрации Fd, причем характерное время этой фазы практически не меняется, поскольку определяется скоростью взаимодействия PQ с цитохромным комплексом. Природа медленной фазы (характерное время – несколько секунд) остается неясной и вызывает большую дискуссию в литературе (Bendall and Manasse, 1995, Cleland and Bendall, 1992, Scheller, 1996). В соответствии с высказанными предположениями в кинетической модели эта фаза определяется существованием неспецифического пула доноров и акцепторов электрона (рис. 8).

С помощью метода прямого многочастичного моделирования как быстрая, так и медленная фазы сигнала могут быть описаны без привлечения дополнительных гипотез. Причем наличие медленной фазы оказывается связанным с пространственной гетерогенностью системы, роль кото-

рой не может быть выявлена в рамках рассмотренной кинетической модели.

Трехмерная сцена модели прямой циклического транспорта вокруг ФС1 представлена на рис. 10. Известно (Albertsson, 2001), что циклический транспорт электронов происходит в межгранных стромальных ламеллах, а в гранальных и концевых областях мембран осуществляется линейный транспорт. Поэтому сцена на рис. 10 обладает латеральной гетерогенностью, в ней присутствуют две различные смежные области – гранальная и стромальная.

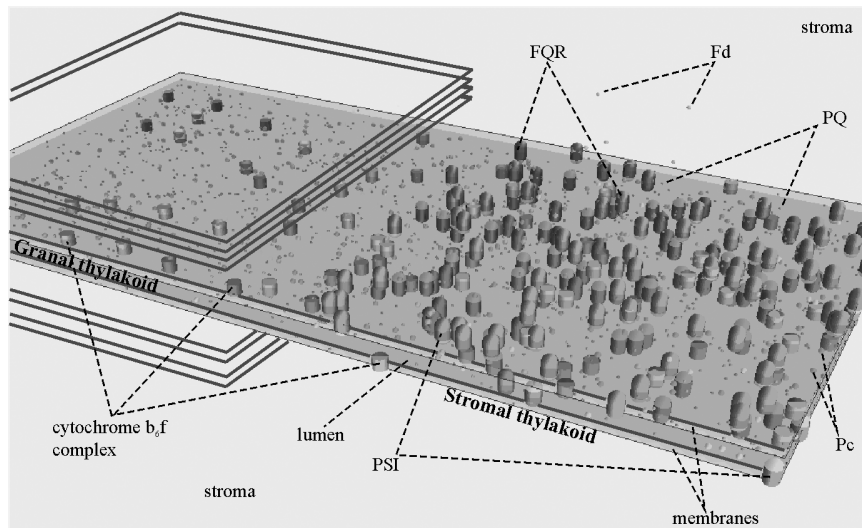


Рис. 10. Визуализация трехмерной сцены многочастичной модели циклического транспорта электронов вокруг фотосистемы 1. Показаны гранальная и стромальная области, часть мембраны тилакоида, луменальное и стромальное пространство

В компьютерном (как и в реальном) эксперименте систему в течение 1.5 сек освещали. На модели наглядно видно, что в течение этого времени восстановленные от Fd через FQR молекулы пластохинона равномерно распределяются в гранальной и стромальной областях мембраны. После выключения света электроны из пула пластохинонов продолжают поступать на Pc через цитохромный комплекс. Это происходит как в гранальной, так и в стромальной областях, т.к. цитохромный комплекс распределен в мембране однородно. В стромальной области восстановленный пластоцианин сравнительно быстро восстанавливает пигмент реакционного



центра ФС1 P700 (характерное время 200 мс), этот процесс соответствует быстрой фазе восстановления P700<sup>+</sup>. Как и в эксперименте, в модели быстрое восстановление P700<sup>+</sup> происходит неполностью, остается фракция окисленных P700<sup>+</sup>. Прямая модель показывает, что причина этого в том, что часть электронов находится на пластохиноне и пластоцианине в гранальных областях мембраны, в которых отсутствует ФС1.

В дальнейшем диффузия PQ внутри мембраны и Pс в люминальном пространстве продолжается, электроны постепенно возвращаются в стромальную область и происходит довосстановление P700<sup>+</sup>. Время этой фазы восстановления составляет до 10 с и определяется геометрией системы. Таким образом, результирующая кривая восстановления фотоокисленного P700<sup>+</sup> приближенно представляет сумму двух экспонент (рис. 9). Прямая многочастичная модель естественно объясняет наличие двух фаз темнового восстановления пространственной гетерогенностью системы. При этом нет необходимости в дополнительных предположениях о существовании пула неспецифических доноров и акцепторов.

Прямая модель циклического транспорта электронов вокруг ФС1 наглядно демонстрирует тот факт, что наблюдаемая в эксперименте кинетика окислительно-восстановительных превращений отдельных переносчиков электрона определяется не только концентрациями и редокс-состояниями реагентов, не только конформационными состояниями комплексов, но и пространственным распределением молекул подвижных переносчиков. Известно, что изменение физиологического состояния клетки приводит к изменению расстояний между гранами тилакоида и другим изменениям в геометрической структуре системы. Прямая модель дает возможность проследить, как эти изменения влияют на кинетические характеристики спектральных сигналов, являющихся биофизическими индикаторами состояния растительной клетки.

В настоящее время мы работаем над включением в прямую модель элементов кинетического моделирования, таких как системы уравнений для схем состояний мультиферментных комплексов, составляющих основу системы первичных процессов фотосинтеза. Например, в прямую модель фотосинтетической мембраны будет включена схема состояний комплекса ФС2, подробно рассмотренного в первой части данной статьи. Это позволит использовать для анализа физиологического состояния растительной клетки кинетические кривые флуоресценции, которые являются наиболее удобными показателями, регистрируемыми на нативных растительных объектах.

В получении изложенных в работе результатов принимали участие сотрудники кафедры биофизики Биологического ф-та МГУ Н.Е. Беляева, И.Б. Коваленко, Т.Е. Кренделева, Г.Р. Кукарских, Г.В. Лебедева, К.Н. Тимофеев, Д.М. Устинин, а также О.В. Демин (институт физико-химической

биологии им. Белозерского, МГУ) и А.Е. Грачев (кафедра компьютерных методов в физике Физического ф-та МГУ).

Работа поддержана грантами РФФИ 03-04-49048 и 04-01-10032.

## Литература

- Albertsson, P.-A. 2000. The domain structure and function of the thylakoid membrane. *Recent Res. Devel. Bioener.* 1: 143-171.
- . 2001. A quantitative model of the domain structure of the photosynthetic membrane. *TRENDS in Plant Science* 6: 349-354.
- Baake, E., and J. P. Schloder. 1992. Modeling the fast fluorescence rise of photosynthesis. *Bull. Math. Biol.* 54: 999-1021.
- Baake, E., and R. J. Strasser. 1990. A differential equation model for the description of the fast fluorescence rise (O-I-D-P transient) in leaves. Pages 567-570 in M. Baltschevsky, ed. *Current Research in Photosynthesis*. Kluwer Academic Press, The Netherlands.
- Bendall, D. S., and R. S. Manasse. 1995. Cyclic photophosphorylation and electron transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1229: 23-38.
- Bernhardt, K., and H.-W. Trissl. 1999. Theories for kinetics and yield of fluorescence and photochemistry: how, if at all, can different models of antenna organization be distinguished experimentally? *Biochim. Biophys. Acta* 1409: 125-142.
- Cleland, R. E., and D. S. Bendall. 1992. Photosystem I cyclic electron transport: Measurement of ferredoxin-plastoquinone reductase activity. *Photosynth. Res.* 34: 409-418.
- Dau, H. 1994. Molecular mechanisms and quantitative models of variable photosystem II fluorescence. *Photochem. Photobiol.* 60: 1-23.
- Dau, H., and K. Sauer. 1992. Electric field effect on the primary picosecond fluorescence of photosystem II and its relation to the energetics and kinetics of primary charge separation. *Biochim. Biophys. Acta* 1102: 91-106.
- Edwards, G. E., and N. R. Baker. 1993. Can CO<sub>2</sub> assimilation be predicted accurately from chlorophyll fluorescence analysis? *Photosyn. Res.* 37: 89-102.
- Flugge, U.-I. 1995. Phosphat translocation in the regulation of photosynthesis. *J. Exp. Botany* 46: 1317-1323.
- Foyer, C., R. Furbank, J. Harbinson, and P. Horton. 1990. The mechanisms contributing to photosynthetic control of electron transport by carbon assimilation in leaves. *Photosyn. Res.* 25: 83-100.
- Govindjee, W. 1995. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 131-160.

- Hall, D. O., and K. K. Rao. 1994. *Photosynthesis*. Cambridge University press, Cambridge.
- Holzappel, C., and R. Bauer. 1975. Computer simulation of primary photosynthetic reactions - compared with experimental results on O<sub>2</sub> - exchange and chlorophyll fluorescence of green plants. *Z. Naturforsch.* 30: 489-498.
- Hope, A. B. 2000. Electron transfers amongst cytochrome f, plastocyanin and photosystem I: kinetics and mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta* 1456: 5-26.
- Hormann, H. N., C.; Schreiber, U. 1994. On the relationship between chlorophyll fluorescence quenching and the quantum yield of electron transport in isolated thylakoids. *Photosynth. Res.* 40: 93-106.
- Hsu, B.-D. 1992. A theoretical study on the fluorescence induction curve of spinach thylakoids in the absence of DCMU. *Biochim. Biophys. Acta* 1140: 30-36.
- . 1993. Evidence for the contribution of the S-state transitions of oxygen evolution to the initial phase of fluorescence induction. *Photosynth. Res.* 36: 81-88.
- Ireland, C. R., S. P. Long, and N. R. Baker. 1984. The relationship between carbon dioxide fixation and chlorophyll a fluorescence during induction of photosynthesis in maize leaves at different temperatures and carbon dioxide concentrations. *Planta* 160: 550-558.
- Krab, K., H. S. Van Walraven, M. J. S. Schoolts, and R. Kraayenhoff. 1985. Measurement of diffusion potential in liposomes. *Biochim. Biophys. Acta* 809: 236-244.
- Lavergne, J., and H.-W. Trissl. 1995. Theory of fluorescence induction in photosystem II: derivation of analytical expressions in a model including exciton-radical-pair equilibrium and restricted energy transfer between photosynthetic units. *Biophys. J* 68: 2474-2492.
- Lazar D. 2003. Chlorophyll a fluorescence rise induced by high light illumination of dark adapted plant tissue studied by means of a model of Photosystem II and considering Photosystem II heterogeneity. *J. theor. Biol.* 220: 469-503.
- Malkin, R., and K. Niyogi. 2000. Photosynthesis. Pages 413-429 in B. Buchanan, W. Gruissem, and R. Jones, eds. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Kluwer Academic Publishers.
- Malkin, S. 1971. Fluorescence induction studies in isolated chloroplast. On the electron-transfer equilibrium in the pool of electron acceptors of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 234: 425-427.
- Panke, O., and B. Rumberg. 1996. Kinetic modeling of the proton translocating CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>-ATP synthase from spinach. *FEBS Letters* 383: 196-200.

- Renger, G., and A. Schulze. 1985. Quantitative analysis of fluorescence induction curves in isolated spinach chloroplasts. *Photochem. Photobiol.* 9: 79-87.
- Riznichenko, G. Y., G. V. Lebedeva, O. V. Demin, N. E. Belyaeva, and A. B. Rubin. 1999. Kinetic mechanisms of biological regulation in photosynthetic organisms. *J. Biol. Phys.* 25: 177-192.
- Riznichenko, G. Y., G. V. Lebedeva, S. I. Pogosian, M. Sivchenko, and A. B. Rubin. 1996. Fluorescence induction curves registered from individual microalgae cenobiums in the process of population growth. *Photosyn. Res.* 49: 151-157.
- Riznichenko, G. Y., and A. B. Rubin. 2003. Kinetic models of regulation of primary photosynthetic processes. *Comments on theoretical biology* 8: 1-21.
- Riznichenko, G. Y., T. N. Vorobjeva, E. N. Chrabrova, and A. B. Rubin. 1990. Identification of kinetic parameters of plastocyanin and P700 interactions in chloroplasts and pigment-protein complexes of photosystem I. *Photosynthetica* 24: 37-51.
- Rumderg, B., and O. Panke. 1998. Kinetic analysis of rotary F0F1 - ATP synthase. *XI International Congress on Photosynthesis*, Budapest.
- Scheller, H. V. 1996. In vitro cyclic electron transport in barley thylakoids follows two independent pathways. *Plant Physiol.* 110: 187-194.
- Schreiber, U., and W. Bulger. 1993. Progress in chlorophyll fluorescence research: major developments during the past years in retrospect. *Prog. Bot.* 54: 151-173.
- Shinkarev, V. P. 1998. The general kinetic model of electron transfer in photosynthetic reaction centers activated by multiple flashes. *Photochem. Photobiol.* 67: 683-699.
- Stirbet, A., Govindjee, B. J. Strasser, and R. J. Strasser. 1998. Chlorophyll a fluorescence induction in higher plants: modelling and numerical simulation. *J. theor. Biol.* 193: 131-151.
- Stirbet, A. D., and R. J. Strasser. 1995. Numerical simulation of the fluorescence induction in plants. *Archs. Sci. Geneve* 48: 41-60.
- . 1996. Numerical simulation of the in vivo fluorescence induction in plants. *Math. Comp. Simulations* 42: 245-253.
- Trissl, H.-W., Y. Gao, and K. Wulf. 1993. Theoretical fluorescence induction curves derived from coupled differential equations describing the primary photochemistry of photosystem II by an exciton-radical pair equilibrium. *Biophys. J.* 64: 974-988.
- Trissl, H.-W., and J. Lavergne. 1994. Fluorescence induction from photosystem II: analytical equations for the yields of photochemistry and fluorescence derived from analysis of a model including exciton-radical pair

- equilibrium and restricted energy transfer between photosynthetic units. *Austr. J. Plant Physiol* 22: 183-193.
- Zheng, C., M. E. Davis, and J. A. McCammon. 1990. Electrofield distribution inside the bacterial photosynthetic reaction center of *Rhodospseudomonas viridis*. *Chem. Phys. Lett.* 173: 246-252.
- Беляева, Н. Е., О. В. Демин, Г. В. Лебедева, Г. Ризниченко, А. Б. Рубин. 2001. Кинетическая модель первичных процессов фотосинтеза в хлоропластах зеленых растений. Моделирование индукции флуоресценции и электрохимического потенциала на мембране тилакоида. В «*Математика. Компьютер. Образование*», вып.8 т.2 с. 587-595, Изд. РХД, М.
- Беляева, Н. Е., Г. В. Лебедева, Г. Ризниченко. 2003. Кинетическая модель первичных процессов фотосинтеза в хлоропластах. Моделирование электрического потенциала тилакоидной мембраны. В «*Математика. Компьютер. Образование*» вып.10, т.3 с. 263-276. Изд. РХД, М.
- Беляева, Н. Е., Г. В. Лебедева, О. В. Демин, Г. Ризниченко, А. Б. Рубин. Кинетическая модель первичных процессов фотосинтеза в хлоропластах. Быстрая фаза индукции флуоресценции при различной интенсивности света и воздействии ингибиторов. В "*Математика. Компьютер. Образование*", вып.11, т.2, с.765-776, Изд. РХД, М.
- Беляева, Н. Е., Г. В. Лебедева, Г. Ю. Ризниченко, А. Б. Рубин, О. В. Демин. 2000. Кинетическое моделирование индукции флуоресценции высших растений. В "*Математика. Компьютер. Образование*", вып.7, т.2, с. 606-614, Изд. РХД, М.
- Бухов, Н. Г., Х. Г. Дамиров, Т. Г. Джигладзе, Н. В. Карапетян, Г. Ю.Ризниченко, А. Б. Рубин. 1988. Кинетический анализ индукционных переходов переменной и замедленной флуоресценции в присутствии диурона и карбонилцианидхлорфенилгидраза. *Биологические науки*: 28-37.
- Камали Джалал М., Г. В. Лебедева, О. В. Демин, Н. Е.Беляева, Г.Ю. Ризниченко, А. Б. Рубин. 2004. Кинетическая модель цитохромного bf-комплекса. Оценка кинетических параметров. *Биофизика* 49 (6): 1061-1068.
- Коваленко, И. Б., Г. Ризниченко. 2003. Математическое моделирование циклического транспорта электронов с участием ФС1.
- Коваленко, И. Б., Д. М. Устинин, Н. Е. Грачев, Т. Е. Кренделева, Г. П. Кукарских, К. Н. Тимофеев, Г. Ризниченко, and А. Б. Рубин. 2003. Экспериментальное и теоретическое исследование процессов циклического электронного транспорта вокруг фотосистемы 1. *Биофизика* 48: 656-665.

- Коваленко, И. Б., А.М.Абатурова, М. Джалал Камали, Д. М. Устинин, Н. Е. Грачев, Г.Ю. Ризниченко, А. Б. Рубин. Прямое моделирование процессов взаимодействия пластоцианина с фотосистемой I в фотосинтетической мембране. В *«Математика. Компьютер. Образование»*, вып.11, т.2, с. 777-788. Изд. РХД, М.
- Кузнецова, С. А., А. К. Кукушкин. 1996. Медленная индукция флуоресценции и пентозофосфатный цикл: теоретическое исследование. *Биофизика* 41: 1247-1253.
- Кукушкин, А. К., А. Н. Тихонов, Л. А. Блюменфельд, Э. К. Рууге. 1975. Теоретические аспекты кинетики первичных процессов фотосинтеза высших растений и водорослей. *Физиол. растений*. 22: 241-250.
- Лебедева, Г. В., Н. Е. Беляева, О. В. Демин, Г. Ризниченко, А. Б. Рубин. 2002. Кинетическая модель первичных процессов фотосинтеза в хлоропластах. Описание быстрой фазы индукции флуоресценции хлорофилла при различной интенсивности света. *Биофизика* 47: 1044-1058.
- Лебедева, Г. В., Н. Е. Беляева, Г. Ризниченко, А. Б. Рубин, О. В. Демин. 2000. Кинетическая модель фотосистемы II высших растений. *Журнал физ. химии* 74: 1874-1883.
- Лебедева, Г. В., М. Д. Камали, О. В. Демин, Н. Е. Беляева, Г. Ю. Ризниченко. 2003. Кинетическая модель цитохромного b<sub>6</sub>f комплекса. Идентификация параметров модели по экспериментальным данным, полученным на суспензии тилакоидов. в сб. *Математика. Компьютер. Образование*, вып.10, т.2. с. 253-262. НИЦ "Регулярная и хаотическая динамика", М.
- Ризниченко, Г. 1991. Математические модели первичных процессов фотосинтеза. *ВИНИТИ*, Успехи науки и техники, Серия Биофизика 31.
- Ризниченко, Г., Т. Н. Воробьева, Е. Н. Храброва, А. Б. Рубин. 1986. Сравнительный анализ кинетических и конформационных характеристик солюбилизованных и встроенных в липосомы пигмент-белковых комплексов фотосистемы I высших растений. *Биофизика* 31: 793-799.
- Ризниченко, Г., Г. В. Лебедева, О. В. Демин, Н. Е. Беляева, А. Б. Рубин. 2000. Уровни регуляции процесса фотосинтеза. *Биофизика* 45: 452-460.
- Рубин А.Б., *Биофизика*. Т. 2. М.: Книжный дом «Университет».
- Рубин, А. Б., В. П. Шинкарев. 1984. *Транспорт электронов в биологических системах*. М.: Наука.
- Сорокин, Е. М. 1973. Нециклический транспорт электронов и связанные с ним вопросы. *Физиол. растений*. 20: 733-741.