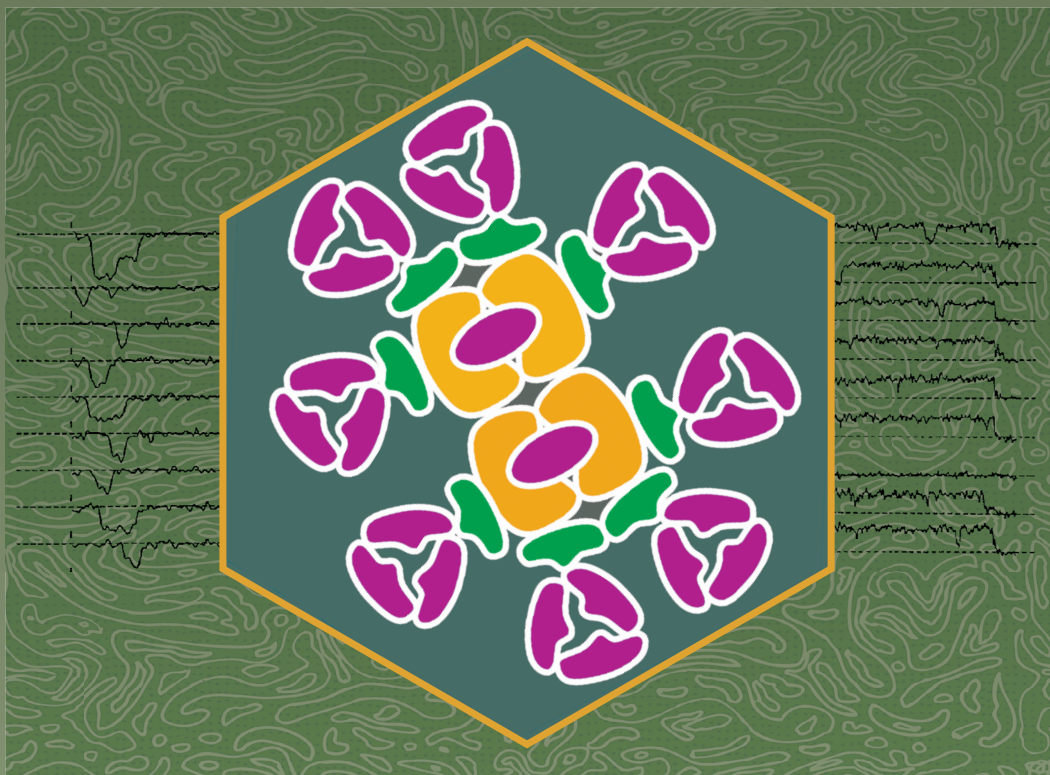


УЧЕБНИК ДЛЯ ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ

# ПРАКТИКУМ ПО БИОФИЗИКЕ

## 2



УДК 373.167.1:57  
ББК 28.57я73  
П69

*Серия основана в 2009 г.*

**Практикум по биофизике** : в 2 ч. Ч. 2 / А. М. Абатурова [и др.] ; под ред. А. Б. Рубина, Г. В. Максимова, С. М. Ременникова. — 2-е изд., электрон. — М. : Лаборатория знаний, 2020. — 512 с. — (Учебник для высшей школы). — Систем. требования: Adobe Reader XI ; экран 10". — Загл. с титул. экрана. — Текст : электронный.

ISBN 978-5-00101-775-2 (Ч. 2)

ISBN 978-5-00101-773-8

Практикум по биофизике содержит описания практических работ с применением ряда биофизических методов и служит дополнением к теоретическим материалам по курсу «Биофизика». Каждая практическая работа предваряется теоретическим введением и включает описание экспериментальной установки или используемой математической модели, а также порядок выполнения работы. В ходе выполнения работ студенты ознакомятся с устройством приборов, овладеют современными биофизическими методами и приобретут навыки применения этих методов в научных исследованиях.

Часть 2 практикума рассчитана на магистрантов, студентов биологических специальностей 5–6-го курсов вузов.

УДК 373.167.1:57

ББК 28.57я73

**В соответствии со ст. 1299 и 1301 ГК РФ при устранении ограничений, установленных техническими средствами защиты авторских прав, правообладатель вправе требовать от нарушителя возмещения убытков или выплаты компенсации**

ISBN 978-5-00101-775-2 (Ч. 2)

ISBN 978-5-00101-773-8

© Лаборатория знаний, 2017

# 1. Математическое моделирование фотосинтетических процессов в фотосистеме II высших растений

*Н. Е. Беляева, Г. Ю. Ризниченко*

## Аннотация

Задача дает возможность обучиться основным принципам моделирования процессов переноса электрона и трансформации энергии в фотосинтетическом аппарате растений. На примере моделирования процессов в фотосистеме II (ФС II) рассматриваются различные способы построения модели — от упрощенных моделей до детального описания процессов переноса электрона в ФС II. Предусматривается построение модели миллисекундных процессов в ФС II (модель двухэлектронных ворот) и модели «быстрых» (пико- и микросекундных) процессов первичного разделения зарядов. Кроме того, предполагается построение детальной модели каталитического цикла ФС II. В рамках каждой из моделей предлагается произвести моделирование эффекта индукции флуоресценции хлорофилла при разных интенсивностях освещения объекта с интерпретацией полученных результатов. На основе сопоставления полученных результатов делают выводы о преимуществах и ограничениях каждого способа моделирования.

При выполнении задачи используется предназначенный для построения и исследования моделей сложных метаболических систем пакет программ DBSOLVE. Для выполнения задачи как отдельного исследования необходимо наличие трех компьютеров с достаточным вычислительным ресурсом. Исследование может проводиться как отдельная задача или в рамках цикла задач по освоению методов изучения фотосинтезирующих образцов.

## Цель работы

Освоение методов кинетического моделирования метаболической системы в приложении к процессам ФС II и методик верификации моделей с использованием данных по индукции фотосинтеза.

## Объекты исследования

Структурные и функциональные схемы процессов тилакоидной мембраны, экспериментальные данные по световой индукции флуоресценции и формированию электрохимического потенциала мембраны.

## Методы

Построение редуцированных и детальных моделей процессов ФС II, применение пакета DBSOLVE для верификации моделей и для фитирования расчетов детальной модели ФС II по комплексу индукционных данных.

## План работы

1. Систематизация литературных данных по описанию процессов переноса заряда в ФС II и индукции фотосинтеза.
2. Отладка редуцированных моделей ФС II.
3. Фитирование детальной модели ФС II по выходу флуоресценции, измеренному в определенных условиях эксперимента.
4. Анализ результатов идентификации параметров детальной модели ФС II и сравнение возможностей использованных моделей.

## Предполагаемые результаты и навыки

1. Освоение основных принципов моделирования процессов переноса электронов, протекающих в пределах фотосинтетических пигментбелковых комплексов (ПБК). Специфика моделирования таких процессов состоит в необходимости рассмотрения вероятностей нахождения ПБК в различных окислительно-восстановительных состояниях.
2. На примере построения упрощенных и детальных моделей фотосистемы II (ФС II) предполагается сделать выводы о преимуществах и ограничениях каждого способа моделирования.
3. Использование детальной модели каталитического цикла ФС II позволяет добиться хорошего соответствия модельных и экспериментальных результатов по регистрации кривых индукции флуоресценции хлорофилла и интерпретировать отдельные кинетические компоненты кривых в терминах концентраций соответствующих окислительно-восстановительных состояний ФС II.

4. Освоение фитирования многопараметрической модели к экспериментальным данным, определяя оптимальные диапазоны значений параметров модели.
5. Выполнение задачи формирует навыки применения имитационных моделей к количественному описанию экспериментов по изучению процессов фотосинтетической мембраны.

## Теоретическое введение

### Структура и функция фотосистемы II высших растений

#### Организация ФС II

Фотосистема II представляет собой пигмент-белковый комплекс с общей молекулярной массой более 400 кДа. Функциональный комплекс ФС II содержит 200–300 молекул хлорофилла, из которых примерно 30% составляет Chl *b*, а также различные каротиноиды и ксантофилы.

В состав индивидуального комплекса ФС II [1, 2] (рис. 1.1) входят:

- единичный мультимерный содержащий Chl *a* сердцевидный комплекс (250 кДа), так называемый «**core complex**» ФС II;
- примерно 14 содержащих Chl *a/b* белков с молекулярной массой около 28 кДа, представляющих собой **светособирающий комплекс (ЛНС)**. Число молекул хлорофилла на один мономер в 28 кДа около 14,  $N_{\text{Chl } a}/N_{\text{Chl } b} \sim 1\text{--}2,5$ . Число компонентов ЛНС может варьировать в зависимости от условий роста растения.

Возможно, что при упаковке в граны светособирающие комплексы и ПБК реакционных центров (РЦ) образуют единую динамическую белковую сеть, в которой не исключена одновременная ассоциация одного ЛНС с более чем одним РЦ. Для такой динамической системы невозможно точно определить размер и состав единичного комплекса ФС II.

**ЛНС II.** Основная фракция светособирающей антенны ЛНС II (около 75%) представляет собой группу тесно связанных друг с другом белков с высоким содержанием Chl *b*. Эти комплексы, скорее всего, образуют тримеры или олигомеры. Хлорофиллы этих тримеров исключительно плотно упакованы — расстояния между отдельными молекулами пигментов составляют всего 9–14 Å. Расположение пигментов внутри одного мономера не похоже на регулярную решетку, как это предполагалось ранее. Девять пигментов каждого ЛНС-тримера расположены по внешнему

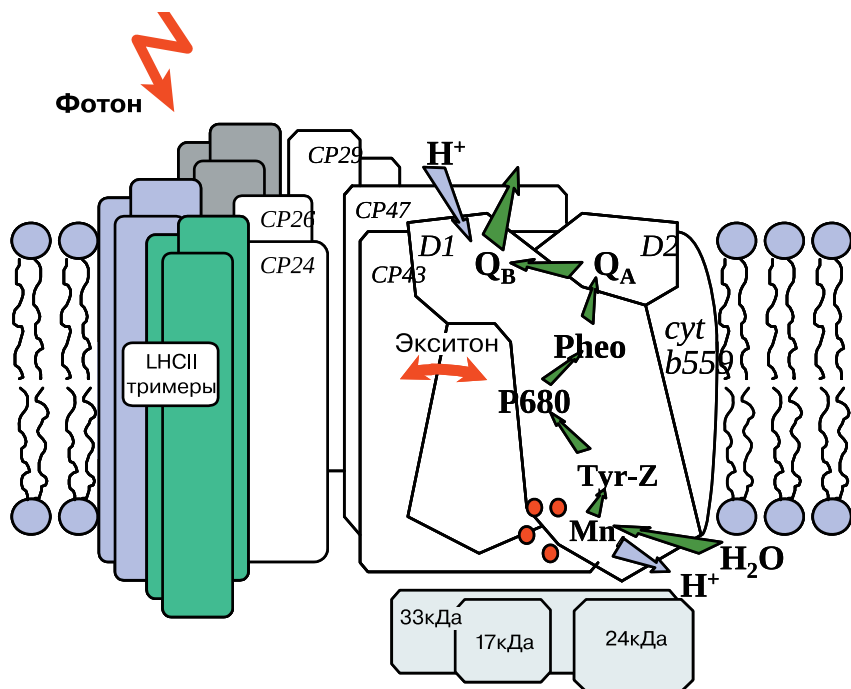


Рис. 1.1. Структура пигмент-белкового комплекса ФС II

гидрофобному периметру. Такое расположение, по-видимому, облегчает быстрый транспорт экситонов к другим LHC или к РЦ.

Основная функция LHC II — это — сбор энергии возбуждения при поглощении квантов света его пигментами и осуществление эффективного транспорта этой энергии к реакционным центрам. При фосфорилировании часть LHC II может отделяться от ФС II, что приводит к перераспределению энергии возбуждения между ФС I и ФС II.

**Core complex ФС II.** Это минимальная единица, способная окислять воду и восстанавливать пластохинон. Он состоит из четырех пигмент-содержащих полипептидов (D1, D2, CP43 и CP47) и нескольких не содержащих пигментов полипептидов, которые предположительно участвуют в стабилизации марганцевого комплекса.

Димер D1/D2 реакционного центра (рис. 1.1) содержит специальную пару хлорофиллов  $P_{680}$ , по меньшей мере еще два Chl  $a$ , два феофитина, один прочно связанный пластохинон  $Q_A$  и центр связывания пластохинона  $Q_B$ , а также редокс-активный тирозин  $Tyr_Z$ .

В различных исследованиях получены следующие результаты по пигментному составу ФС II: на один  $P_{680}$  приходится примерно 35–60 молекул Chl *a*, и практически ни одной молекулы Chl *b*. Большинство молекул хлорофилла локализованы в полипептидах CP43 и CP47 примерно по 20 Chl в каждом. Таким образом, эти белки принимают участие в транспорте энергии возбуждения (помимо стабилизации марганцевого комплекса).

### Реакция разделения зарядов

Захват энергии возбуждения светособирающим комплексом LHC II и перенос ее в реакционный центр могут завершиться возбуждением пигмента реакционного центра  $P_{680}$ . После формирования возбужденного состояния  $P_{680}^*$  энергия возбуждения может либо мигрировать обратно в антенну, либо использоваться в реакции разделения зарядов, приводящей к восстановлению феофитина Phe и окислению  $P_{680}$  (формированию  $P_{680}^+ \text{Phe}^-$ ).

По некоторым данным, в транспорте электрона от  $P_{680}$  к Phe участвует промежуточный акцептор X, предположительно Chl *a*, при этом транспорт электрона происходит настолько быстро, что не удается получить никаких свидетельств накопления  $X^-$  или  $X^+$ . Вследствие исключительной быстроты процесса участие X в электронном транспорте обычно не рассматривают, полагая что первичное разделение зарядов происходит по механизму реакции первого порядка между  $P_{680}$  и Phe с характерным временем ~3 пс.

В результате реакции разделения зарядов формируется первичная радикальная пара  $P_{680}^+ \text{Phe}^-$ . Скорость образования пары  $P_{680}^+ \text{Phe}^-$  существенно снижается в присутствии восстановленного первичного акцептора  $Q_A$ .

Первичная радикальная пара может расходоваться по одному из следующих путей:

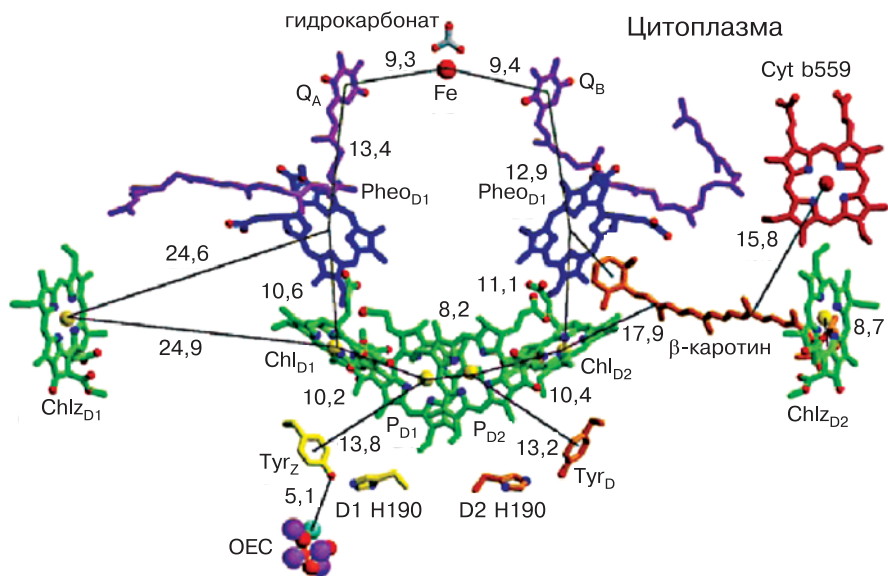
- рекомбинация зарядов, вновь приводящая к образованию возбужденного  $P_{680}$ . Это реакция, обратная по отношению к первичному разделению зарядов;
- транспорт электрона от Phe к первичному хинонному акцептору  $Q_A$ ;
- формирование триплетных состояний;
- безызлучательная диссипация энергии.

Если реализуется вторая возможность, то происходит стабилизация заряда на  $Q_A^-$ , после чего окисленный  $P_{680}^+$  восстанавливается благодаря транспорту одного электрона от  $\text{Tyr}_Z$ . Окисленный  $\text{Tyr}_{Z^+}$  окисляет систему расщепления воды (CPB, WOC), которая функционирует циклически, проходя через последовательность



так называемых S-состояний:  $S_1$  (темновое состояние)  $\rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_0 \rightarrow S_1$ . Каждое последующее S-состояние формируется при очередном одноэлектронном окислении CPB тирозином  $\text{Tyr}_Z$  (см. рис. 1.2).

Стабилизация заряда на  $Q_A^-$  происходит за время около 200 пс. Хотя пластохинон обычно действует как двухэлектронный акцептор, в сайте  $Q_A$  он работает как одноэлектронный (принимает только один электрон от феофитина). Электрон с  $Q_A$  передается затем на другую молекулу пластохинона в сайте связывания  $Q_B$ . Полное восстановление  $Q_B$  происходит в результате последовательного присоединения двух электронов от  $Q_A$  и двух протонов из стромы тилакоида. Восстановленный  $Q_B$  отсоединяется от центра связывания и диффундирует во внутреннюю гидрофобную фазу мембраны. К  $Q_B$ -сайту присоединяется другая (окисленная) молекула пластохинона, после чего процесс повторяется.



**Рис. 1.2.** Цепь переноса электрона в фотосистеме II. Вид в плоскости мембраны. Показаны кофакторы цепи переноса электрона. Зеленым — 4 хлорофилла, образующие  $P_{680}$ :  $P_{D1}$ ,  $P_{D2}$ ,  $Chl_{D1}$ ,  $Chl_{D2}$ . Синим,  $Pheo_{D1}$ ,  $Pheo_{D2}$ , фиолетовым,  $Q_A/Q_B$ . Водоразлагающий комплекс (WOC/OEC) включает ионы Mn (розовый), атомы кислорода (красный)  $Ca^{2+}$  (голубой),  $Tyr_Z$  (желтый). Показан также цитохром  $cyt\ b559$  (красный). Расстояния даны в ангстремах. По [2]



## Флуоресценция хлорофилла ФС II.

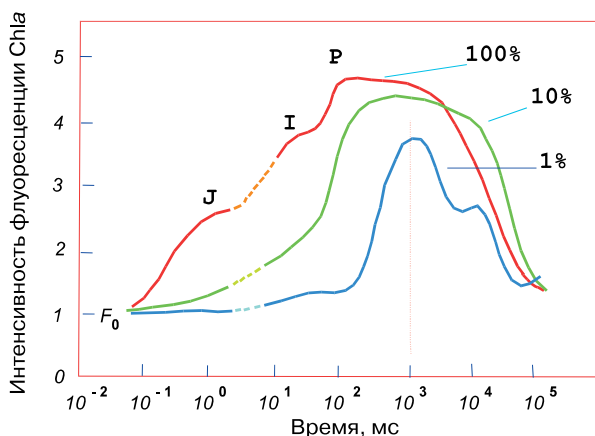
### Кривая индукции флуоресценции хлорофилла

Для изучения фотосинтетических процессов, протекающих в хлоропластах зеленых растений, широко используются данные по регистрации флуоресценции хлорофилла.

Одной из наиболее информативных характеристик работы фотосинтетического аппарата считается кривая индукции флуоресценции хлорофилла, представляющая собой изменение во времени выхода флуоресценции растения в ответ на освещение после периода темновой адаптации. Это явление было открыто Каутским в 1931 г. и в дальнейшем интенсивно изучалось [3–8].

Регистрируемая кинетика выхода флуоресценции представляет собой сложную многокомпонентную кривую, что определяется устройством фотосинтетической системы, включающей в себя процессы, различающиеся по своим характерным временам. Индукционные кривые при разных интенсивностях освещения объекта (лист гороха) приведены на рис. 1.3.

В настоящее время принято выделять следующие основные фазы и параметры индукции флуоресценции хлорофилла: быстрая фаза — возрастание интенсивности флуоресценции от начального уровня  $F_0$  до максимального  $F_P$  за времена порядка 1 с или нескольких секунд, и медленная фаза — релаксация интенсивности флуоресценции к некоторому стационарному уровню  $F_T$  за времена порядка десятков секунд. Характер быстрой фазы зави-



**Рис. 1.3.** Кривые индукции флуоресценции хлорофилла при разных интенсивностях освещения, 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>. Цит. по [3]

сит от интенсивности освещения. При низкой интенсивности света обычно наблюдается одна промежуточная фаза (I), а при высокой интенсивности — не менее двух (J, I).

Согласно экспериментальным данным, спад флуоресценции в медленной фазе происходит параллельно с формированием градиента рН на тилакоидной мембране.

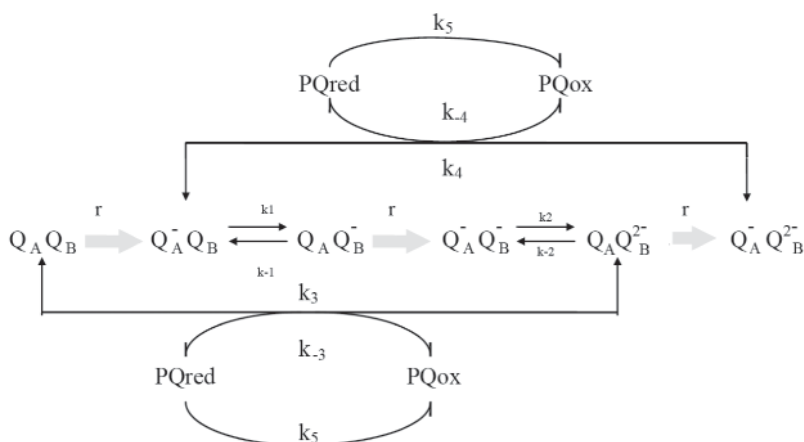
В целом индукционные кривые флуоресценции отражают совокупный результат взаимодействия процессов трансформации энергии и переноса электрона по фотосинтетической цепи. Можно качественно сопоставить отдельные кинетические компоненты индукционной кривой с протеканием определенных процессов в фотосинтетическом аппарате растения (разделение зарядов в реакционном центре, генерация трансмембранного электрохимического потенциала протонов, изменение редокс-состояния пула пластохинонов и др.). В действительности, все эти процессы взаимосвязаны, и зачастую трудно определить, какой вклад вносит каждый из них в генерацию наблюдаемых фаз на индукционной кривой.

Для интерпретации экспериментальных результатов по измерению флуоресценции хлорофилла традиционно применяются методы математического моделирования, позволяющие изучать кинетику фотосинтетических процессов, приводящих к появлению индукционных эффектов. На основе сопоставления модельных результатов с экспериментальными данными можно делать выводы о механизмах регуляции электронного транспорта в фотосинтетической системе и оценивать некоторые неподдающиеся экспериментальному измерению параметры. Однако необходимо помнить, что закладываемые в такого рода модели представления о механизме протекания фотосинтетических процессов с неизбежностью влияют и на интерпретацию результатов, полученных после фитирования параметров модели к экспериментальным данным по флуоресценции хлорофилла.

## **Изучение основных принципов моделирования первичных процессов фотосинтеза на примере различных вариантов построения модели фотосистемы II**

### **1. Модель миллисекундных процессов в ФС II (модель двухэлектронных ворот)**

При построении модели ФС II необходимо учитывать, что процессы поглощения света, транспорта энергии возбуждения к РЦ, первичного и вторичного разделения зарядов в РЦ происходят с временами различного порядка (от пико- до миллисекунд).



**Рис. 1.4.** Схема «медленных» процессов переноса электронов в акцепторном комплексе ФС II (схема «двухэлектронных ворот»)

Реакции, происходящие с временами порядка миллисекунд, изображены на рис. 1.4 [4].

Индукцированное светом разделение зарядов в реакционном центре ФС II ведет к возникновению заряда на первичном хинонном акцепторе  $Q_A$ , переходящего на вторичный акцептор  $Q_B$ , который после двух таких актов передает два электрона молекуле пластохинона RQ (из подвижного пула). Остальная часть ЭТЦ, включая RQ и ФС I упрощается (редуцируется), поскольку реокисление RQ лимитирует всю последовательность реакций электронного транспорта. Здесь реокисление представлено простой квазилинейной зависимостью как первым приближением.

## 2. Модель «быстрых процессов» в ФС II

Величина  $r$ , характеризующая скорость световой стадии на схеме миллисекундных процессов, **не является константой** скорости (в отличие от остальных констант  $k$ ), но является функцией скорости, которая становится очевидной, если подробно рассмотреть световые стадии.

На быстрой шкале времени (нано- и микросекунды) эта стадия разделяется на элементарные стадии поглощения света, транспорта возбужденных состояний и первичное разделение зарядов.

Рассмотрим схему быстрых реакций (рис. 1.5) с учетом возможности транспорта энергии экситонов между соседними фотосинтетическими единицами [7].

В схему включены пигмент реакционного центра  $P_{680}$ , связанный с пулом молекул хлорофилла (Chl) антенны, первичный

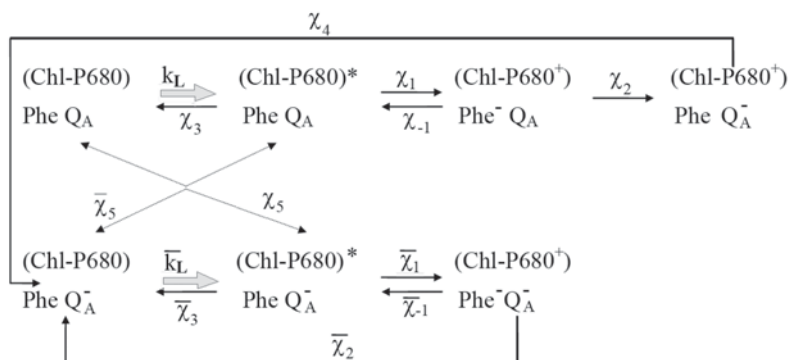


Рис. 1.5. Схема «быстрых» процессов в ФС II

нестабильный акцептор электронов феофитин (Phe) и первичный стабильный хинонный акцептор электронов  $Q_A$ , который также выступает одним из компонентов в схеме «медленных» процессов (см. рис. 1.4).

Поглощение света ( $k_L, \bar{k}_L$ ) переводит основное состояние  $x_1$   $(\text{Chl-P}_{680})\text{Phe } Q_A^-$  в возбужденное  $x_2$   $(\text{Chl-P}_{680})^*\text{Phe } Q_A^-$ . Возбуждение, локализованное на отдельной молекуле антенны, распределяется по всей антенне в течение пикосекунд. Возбужденное состояние  $x_2$  обратимо (параметры  $\chi_1, \bar{\chi}_1, \chi_{-1}, \bar{\chi}_{-1}$ ) переходит в состояние с разделенными зарядами  $x_3$  или обратно в основное состояние  $x_1$  с испусканием флуоресценции (параметры  $\chi_3, \bar{\chi}_3$ ) или по другим путям дезактивации.

Если реакционный центр открыт, т. е.  $Q_A$  находится в окисленном состоянии, заряд на  $\text{Phe}^-$  стабилизируется при переходе на  $Q_A^-(\chi_2)$ , а электронная дырка на  $\text{P}_{680}^+$  заполняется ( $\chi_4$ ) от донора водоразлагающего комплекса. Эти стадии считаются необратимыми.  $Q_A$  может принять не больше одного электрона: поэтому в случае закрытого реакционного центра  $Q_A^-$  заряд на феофитине не может быть стабилизирован и рекомбинирует с электронной дыркой либо в возбужденное состояние ( $\chi_{-1}$ ), либо в основное ( $\bar{\chi}_2$ ). До сих пор неясно, какая из этих возможностей (или обе?) на самом деле реализуется.

Схема также включает обмен возбужденными состояниями между ФСЕ с открытыми и закрытыми РЦ ( $\chi_5$ ).

### 3. Объединение схем «быстрых» и «медленных» процессов в ФС II

Скорость восстановления первичного хинона, согласно рис. 1.5, в «быстрых» процессах ФС II:

$$r(t) \cdot x_1 = k_2 \cdot x_3 = k_2 \cdot \frac{k_4 \cdot x_4}{k_2} = k_4 \cdot x_4$$

что позволяет представить величину  $r$ , для световой стадии на схеме миллисекундных процессов (см. рис. 1.4) как функцию, задающую скорость этой стадии [5] в виде:

$$r(t) = r(x_1(t)) = \frac{\tilde{k}_L}{1 - \alpha - \beta + \alpha\beta \cdot x_1(t)} \quad (1)$$

Поток фотонов, т. е. испускаемую флуоресценцию, согласно рис. 1.4, в «быстрых» процессах ФС II можно записать через концентрацию возбужденных состояний ( $x_2$  и  $x_3$ ) и получить в итоге формулу:

$$F(x_1(t)) = \tilde{S} \cdot (1 - \alpha x_1) \cdot r(x_1) \quad (2)$$

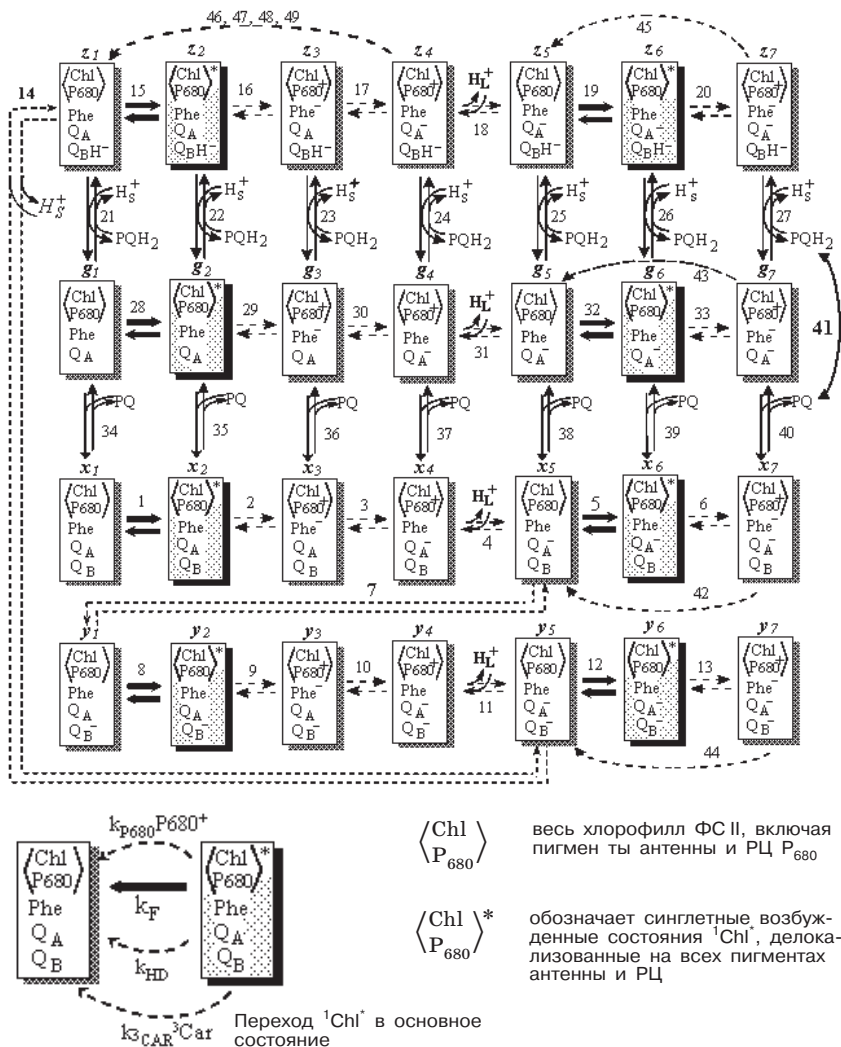
Сопоставление схем на рис. 1.3 и 1.4 приводит к заключению, что в формулах (1) и (2)  $x_1(t) = y_1(t) + y_2(t) + y_3(t)$  представляет собой сумму трех открытых состояний, включенных в схему двух-электронных ворот на рис. 1.3.

#### 4. Модель ФС II, основанная на детальном рассмотрении ее каталитического цикла

Фотосистему II можно рассмотреть как мембранный фермент (рис. 1.6), катализирующий под действием света восстановление пластохинона до пластохинола, а также создающий трансмембранный градиент электрохимического потенциала протонов  $\Delta\mu_{H^+}$  (см. [6, 8]).

Каждое кинетическое состояние ФС II определяется состоянием четырех входящих в ее состав переносчиков электрона: хлорофилла  $P_{680}$ , феофитина Phe, первичного одноэлектронного ковалентно связанного хинонного акцептора  $Q_A$  и сайта связывания вторичного хинонного акцептора  $Q_B$ . Предполагается, что энергия возбуждения, исходно локализованная на одном из пигментов антенны быстро (за времена порядка пикосекунд) уравнивается по всему пулу молекул пигментов антенны ФС II, включая пигмент реакционного центра  $P_{680}$ . Поэтому под обозначением Chl подразумевается весь комплекс этих пигментов.

Кинетические состояния  $x_i$ ,  $y_i$ ,  $z_i$ ,  $g_i$ , ( $i = 1, 2, \dots, 7$ ) отличаются состоянием сайта связывания пластохинона  $Q_B$ : в состояниях  $g_i$  сайт связывания не занят пластохиноном («пустой» сайт);  $x_i$  — в сайте связывания находится молекула невозстановленного пластохинона ( $Q_B$ );  $y_i$  и  $z_i$  — пластохинон в сайте связывания несет на себе один ( $Q_B^-$ ) и два электрона ( $Q_B^{2-}$ ) соответственно.



**Рис. 1.6.** Каталитический цикл ФС II. Каждый прямоугольник — кинетическое состояние ФС II, определяемое редокс-состояниями включенных в ФС II переносчиков электронов. Phe — первичный акцептор электронов феофитин;  $\text{Q}_\text{A}$  и  $\text{Q}_\text{B}$  — первичный и вторичный хинонные акцепторы. PQ — пластохинон;  $\text{PQH}_2$  — пластохинол;  $\text{H}_\text{L}^+$  — протоны в люмене,  $\text{H}_\text{S}^+$  — протоны в строме тилакоида. Над прямоугольниками обозначены переменные модели ( $x_i$ ,  $y_i$ ,  $z_i$ ,  $g_i$ ;  $i = 1, \dots, 7$ ). Затенены состояния, способные к испусканию квантов флуоресценции (ФЛ). Пунктирными стрелками показаны быстрые (менее 1 мс) стадии цикла, жирными — световые стадии. Цифры над стрелками соответствуют номерам реакций. Штриховые дуги показывают необратимые реакции безызлучательной рекомбинации  $\text{Phe}^-$  с  $\text{P}_{680}^+$  (42–45),  $\text{Q}_\text{A}^-$  с  $\text{P}_{680}^+$  (46–49)

При отсутствии освещения (темновая адаптация объекта) комплекс ФС II переходит в состояния  $x_1$  и  $g_1$ , между которыми устанавливается равновесие (реакция 34). После включения освещения  $P_{680}$  переходит в возбужденное состояние (реакции 1 и 28), что может сопровождаться первичным (реакции 2 и 29) и вторичным (реакции 3 и 30) разделением зарядов. Водоразлагающий комплекс (ВРК) восстанавливает окисленный пигмент реакционного центра (реакции 4 и 31). В нашей модели мы не рассматриваем молекулярный механизм функционирования ВРК, а предполагаем, что на каждый электрон, переданный от ВРК на окисленный  $P_{680}$ , во внутритилакоидное пространство выделяется один протон. Таким образом, последовательность стадий (1–4) или (28–31) приводит к образованию так называемых «закрытых» РЦ с восстановленным  $Q_A^-$  (состояния  $x_5$  и  $g_5$ ).

Дальнейшее освещение закрытых РЦ может приводить к вторичному возбуждению пигмента (реакции 5 и 32) и первичному разделению зарядов (реакции 6 и 33). В результате этих процессов образуются состояния ФС II с окисленным пигментом и восстановленными феофитином и  $Q_A^-$ , т. е.  $x_7$  и  $g_7$ .

Переход  $^1Chl^*$  в основное состояние происходит при: 1) испускании флуоресценции ( $k_F$ ); 2) безизлучательной диссипации синглетно возбужденных молекул хлорофилла посредством тушения, обусловленного катион-радикалом  $P_{680}^+$ , и/или триплетными состояниями каратиноидов с константами скоростей  $k_{P_{680}^+}$  и  $k_{3Car}$ , соответственно; 3) безизлучательной диссипации возбуждения в тепло ( $k_{HD}$ ).

В любом из состояний  $g_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ , может происходить связывание пластохинона PQ с  $Q_B$  центром ФС II (реакции 34–40) с образованием соответствующих состояний  $x_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ . Связанный пластохинон  $Q_B$  — двухэлектронный переносчик, он может последовательно акцептировать два электрона от  $Q_A^-$ . Реакции 7 и 14 описывают перенос первого и второго электронов на  $Q_B$  с образованием состояний  $y_1$  и  $z_1$ . Под действием света эти состояния могут подвергаться уже описанной для  $x_1$  и  $g_1$  последовательности превращений, включая возбуждение пигмента (реакции 8 и 15), первичное (реакции 9 и 16) и вторичное (10 и 17) разделение зарядов, восстановление окисленного  $P_{680}$  системой расщепления воды (реакция 11 и 18), а также возбуждение закрытого РЦ (реакция 12 и 19), сопровождаемое первичным разделением зарядов (13 и 20).

В каждом из состояний  $z_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ , может происходить высвобождение пластохинола  $PQH_2$  с предварительным поглощением



ем двух протонов  $H_s^+$  из стромы хлоропласта и образованием состояний  $g_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ , с пустым сайтом  $Q_B$  (реакции 21–27), что и замыкает каталитический цикл ФС II.

Стадии 1, 5, 8, 12, 15, 19, 28 и 32, показанные на схеме жирными стрелками, световые, они описывают процесс перехода  $Chl$  в возбужденное состояние  $Chl^*$  (световая константа  $k_L = k_i$ ,  $i = 1, 5, 8, 12, 15, 19, 28, 32$ ) и обратный ему процесс дезактивации возбужденного состояния (константы флуоресценции  $k_F = k_{-i}$ ,  $i = 1, 5, 8, 12, 15, 19, 28, 32$ ) с испусканием квантов флуоресценции.

В детальной модели ФС II выход флуоресценции (функцию  $F$ ) при разных интенсивностях освещения рассчитывают как сумму концентраций флуоресцирующих состояний ФС II (состояний с возбужденным  $Chl^*$ ), умноженную на отношение константы флуоресценции к световой константе ФС II:

$$F = \frac{k_F}{k_L} (x_2 + y_2 + z_2 + g_2 + x_6 + y_6 + z_6 + g_6) \quad (3)$$

## Порядок выполнения задачи

**Задание 1.** Схема реакций переноса электронов в акцепторном комплексе ФС II (схема двухэлектронных ворот; см. рис. 1.4).

1. Записать систему обыкновенных дифференциальных уравнений для состояний хинонного акцепторного комплекса, представленных на схеме, вводя следующие обозначения:

$$\begin{aligned} Q_A Q_B &= y_1; & d(y_1)/dt &= \\ Q_A^- Q_B &= y_2; & d(y_2)/dt &= \\ Q_A Q_B^- &= y_3; & d(y_3)/dt &= \\ Q_A^- Q_B^- &= y_4; & d(y_4)/dt &= \\ Q_A Q_B^{2-} &= y_5; & d(y_5)/dt &= \\ PQ_{ox} &= y_6; & d(y_6)/dt &= \end{aligned}$$

Величину пластохинонового пула обозначить  $C$ , учесть законы сохранения в системе.

2. Оценить параметры модели (константы скоростей реакций, изображенных на схеме, размер пула пластохинонов).
3. Задать начальные условия, исходя из предположения двадцатиминутной темновой адаптации объекта.

4. Реализовать полученную систему на языке пакета прикладных программ DBsolve. Руководство по работе с пакетом DBsolve прилагается к описанию задачи. При компиляции полученной схемы реакций используйте инструкции п. 1, 2, 3. Приложения 1. Из табл. 1.1 примените параметры модели [6] «медленных» процессов ФС II, обозначаемой далее «Renger-Schulze 1985».

Таблица 1.1

Параметры моделей процессов ФС II «Двухэлектронные ворота»

Initial values			
Renger-Schulze 1985		Baake-Schloder 1992	
y1	1		1
y2	0		0
y3; y4; y5; y6	0		0
y7	9		9
y8	1		1
k1	10; //v1	kL	40
k2	1000; //v2	k2	3500
k3	100; //v3	k3	175
k4	10; //v4	//k4	100
k5	1000; //v5	k5	1750
k6	100; //v6	k6	175
k7	10; //v7	//k7	100
k8	100; //v8	k8	100
k9	100; //v9	k9	100
k10	100; //v10	k10	100
k11	100; //v11	k11	100
k12	1; //v12	k12	1
<?NE?Kinetic parameters		Aa	0.8
<?NB?><?Pools initial?>		Bb	0.01
Pool[1]	1.0e+01; //y7	Pool[1]	10; //y7
Pool[2]	1.0e+00; //y6	Pool[2]	1; //y6
FLY=	y2+y4+y6	(1-aa*(y1+y3+y5))/(1-aa-bb+aa*bb*(y1+y3+y5))	

# Содержание

Введение .....	3
Раздел 1. Теоретическая биофизика .....	5
1. Математическое моделирование фотосинтетических процессов в фотосистеме II высших растений <i>Н. Е. Беляева, Г. Ю. Ризниченко</i> .....	7
Приложение 1 .....	30
2. Анализ метаболических путей клетки для оптимизации выхода целевого продукта и роста биомассы <i>Т. Ю. Плюснина</i> .....	32
3. Методы главных и независимых компонент в анализе динамических изображений <i>А. Р. Браже</i> .....	49
4. Современные методы моделирования белок-белковых взаимодействий <i>А. М. Абатурова, А. Н. Дьяконова, И. Б. Коваленко, Г. Ю. Ризниченко, Д. М. Устинин, С. С. Хрущев</i> .....	64
5. Моделирование упругих свойств углеродных нанотрубок методами молекулярной механики <i>Д. В. Зленко, П. А. Мамонов, А. М. Нестеренко, П. М. Красильников</i> .....	100
6. Моделирование адсорбции катионов на фосфолипидных мембранах из анионных липидов <i>Д. В. Зленко, П. А. Мамонов, А. М. Нестеренко, П. М. Красильников</i> .....	122
Приложение 2 .....	148
Раздел 2. Молекулярная биофизика .....	179
7. Пикосекундная лазерная флуориметрия биологических и модельных объектов <i>Б. Н. Корватовский</i> .....	181
8. Определение эффективности FRET, $R_0$ и $k_T$ от квантовых точек к биологическим акцепторам <i>Е. Г. Максимов</i> .....	202
9. Изучение с нанометровым разрешением морфологии поверхности полиплексов с помощью АСМ <i>Ю. В. Храмов</i> .....	216

10. Исследование свойств гемопорфириносодержащих белков в клетках и органоидах методами спектроскопии КР и ГКР <i>Н. А. Браже</i> .....	233
<b>Раздел 3. Биофизика клетки и мембран</b> .....	<b>265</b>
11. Сравнение параметров клеток эритроцитов методом лазерной интерференционной микроскопии <i>А. И. Юсипович</i> .....	267
12. Полярографический метод определения скорости выделения кислорода в фотосистеме II <i>Л. Н. Давлетшина</i> .....	283
13. Роль ионов каталитического центра кислород-выделяющего комплекса в функционировании фотосистемы II <i>Е. Р. Ловягина, Б. К. Сёмин</i> .....	300
14. Ионные токи возбудимых мембран в клетках харовых водорослей <i>А. А. Булычев, А. А. Черкашин</i> .....	318
15. Изучение изменений микровязкости липидных мембран с использованием метода ЭПР и спиновых зондов <i>О. Г. Лунева, Е. Ю. Паршина, К. Н. Тимофеев</i> .....	335
16. Основы культивирования клеток млекопитающих <i>А. А. Розенкранц</i> .....	346
17. Микрофлуориметрическое определение pH в одиночных клетках животных <i>В. Б. Туровецкий</i> .....	361
18. Взаимодействие фотосенсибилизаторов с клетками бактерий и их фотобактерицидная активность <i>М. Г. Страховская, Н. С. Беленикина</i> .....	377
19. Измерение ионных токов в хлоропластах методом пэтч-кламп <i>А. А. Булычев, А. А. Черкашин</i> .....	393
<b>Раздел 4. Биофизика фотобиологических процессов</b> .....	<b>405</b>
20. Влияние УФВ-излучения на Cu-содержащие антиоксидантные ферменты плазмы крови <i>in vitro</i> <i>А. А. Байжуманов, А. Г. Платонов</i> .....	407

<b>21. Влияние ПД на фотосинтетическую активность хлоропластов и рН в клетках <i>Chara</i></b> <i>Н. А. Крупенина, А. А. Булычев</i> .....	<b>423</b>
<b>22. Фотоиндуцированные сигналы <math>P_{700}</math> и их связь с переносом электронов и <math>\Delta\mu_{H^+}</math> в листьях гороха</b> <i>А. А. Булычев</i> .....	<b>436</b>
<b>Раздел 5. Экологическая биофизика</b> .....	<b>447</b>
<b>23. Определение спектральными методами состояния фотосинтетического аппарата микроводорослей при изменении внешней среды</b> <i>С. И. Погосян, И. В. Конюхов, Е. Н. Воронова</i> .....	<b>449</b>
<b>24. Изучение механизмов фотопродукции водорода зелеными микроводорослями флуоресцентным методом <i>in situ</i></b> <i>Т. К. Антал, Г. П. Кукарских, Т. Е. Кренделева</i> .....	<b>467</b>
<b>25. Изучение токсичности тяжелых металлов по флуоресценции микроводорослей</b> <i>Д. Н. Маторин, Д. А. Тодоренко</i> .....	<b>482</b>