

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ И КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА

© 2009 г. Г.Ю. Ризниченко, Н.Е. Беляева, И.Б. Коваленко, А.Б. Рубин

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

E-mail: riznich@biophys.msu.ru

Поступила в редакцию 20.08.08 г.

Представлен обзор результатов последних работ по кинетическому и прямому многочастичному компьютерному моделированию процессов в фотосинтетической мембране, выполненных на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ. Модели учитывают данные современных экспериментальных исследований о гетерогенной структуре и кинетических характеристиках системы. Обобщенная кинетическая модель описывает процессы в мультиферментных комплексах фотосистем I и II, цитохромном комплексе, сопряженные трансмембранные ионные потоки, генерацию электрического и электрохимического потенциала. Идентификация параметров моделей позволяет оценить константы скоростей реакций, недоступных экспериментальному измерению. Многочастичные модели дают наглядную картину взаимодействия компонентов электрон-транспортной цепи в люмене и строме тилакоида, в явном виде моделируют броуновскую диффузию и электростатические взаимодействия белковых переносчиков. Сочетание различных методов описания (дифференциальных уравнений, формализма броуновской динамики) позволяет моделировать в сложном 3D-интерьере растительной клетки процессы, совокупность которых обеспечивает высокую эффективность преобразования энергии при фотосинтезе.

**Ключевые слова:** фотосинтез, первичные процессы, моделирование.

Фотосинтетическая мембрана, в которой происходят электрон-транспортные процессы фотосинтеза и сопряженные с ними процессы запасания энергии в виде трансмембранныго потенциала и химических связей, является одной из наиболее изученных субклеточных систем (рис. 1). В последние годы получено большое количество данных о молекулярной структуре фотосинтетических реакционных центров, АТФ-синтазы и других молекулярных комплексов, принимающих участие в процессах трансформации энергии света при фотосинтезе, и о геометрии субклеточныхnanoструктур, обеспечивающих эффективное протекание этих процессов. Построение математических и компьютерных моделей дает возможность интегрировать знания об отдельных компонентах системы и эффективно использовать математическое моделирование для изучения механизмов регуляции фотосинтетических процессов.

Возможность прямых кинетических наблюдений за редокс-превращениями отдельных компонентов системы (методами спектрофото-

метрии, ЭПР и др.) в ответ на световое воздействие позволяет корректно ставить задачу идентификации параметров модели по данным кинетических экспериментов. В этом состоит основное преимущество моделей 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.

Выполненные в 80–90 годы работы по моделированию и идентификации параметров моделей процессов в изолированных комплексах фотосистем I и II (ФС I и ФС II), а также бактериальных фотосинтетических реакционных центрах позволили установить существенное отличие в регуляции скоростей реакций внутри комплексов и констант скоростей «входа» и «выхода» из комплекса [1–4]. Эксперименты на разных типах фотосинтетических реакционных центров показали, что эти оптимизированные в процессе эволюции системы сохраняют постоянство своей функциональной и структурной организации при разных способах выделения в широком диапазоне внешних воз-

Сокращения: ЭТЦ – электрон-транспортная цепь, Фл – флуоресценция, Хл – хлорофилл.

действий. Экранированные от внешних влияний белковым и липидным окружением, они сохраняют свои функциональные и кинетические характеристики, в том числе способность к разделению зарядов и стабилизации разделенных зарядов и к фотоконформационным переходам. Поглощение кванта света приводит к перераспределению заряда в первичной фотоактивной паре и сопровождается конформационными переходами белковых компонентов комплекса фотопротоцентра, препятствующими обратному переносу электрона и потере энергии в процессе флуоресценции. Внутри комплексов константы скоростей зависят от условий освещения. В частности, при увеличении интенсивности освещения выше оптимального уровня активизируются диссипативные безызлучательные процессы, оценка доли которых в распределении фотоиндуцированных энергетических потоков представляет одну из задач математического моделирования.

Другой тип регуляции проявляется на тех участках фотосинтетической электрон-транспортной цепи, где в переносе электрона принимают участие подвижные переносчики. Это взаимодействие комплекса ФС II с цитохромным комплексом на уровне пластохинона, цитохромного комплекса с комплексом ФС I на уровне пластоцианина, на уровне ферредоксина на стромальной стороне ФС I. В нативной тилакоидной мембране кинетические параметры взаимодействия комплексов с подвижными переносчиками определяются числом актов этих взаимодействий, т.е. как временем диффузии подвижного переносчика к соответствующему комплексу, так и вероятностью посадки подвижного переносчика на соответствующий сайт на донорной или акцепторной стороне комплекса. Эффективность взаимодействия в большой мере определяется электростатическими взаимодействиями локальных зарядов атомных групп на поверхности донора и акцептора. Здесь важную роль играют параметры диффузии подвижного переносчика в соответствующем компартменте (пластохинона – внутри мембранны, пластоцианина – в люмене, ферредоксина – в стромальном пространстве), а также геометрия реакционного объема. Диапазон изменения констант скорости 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 мембранны и характера диф-

фузии переносчиков, являются объектом регуляции со стороны целой клетки. Моделирование различных процессов в единой системе первичных процессов фотосинтеза требует разных математических и компьютерных подходов.

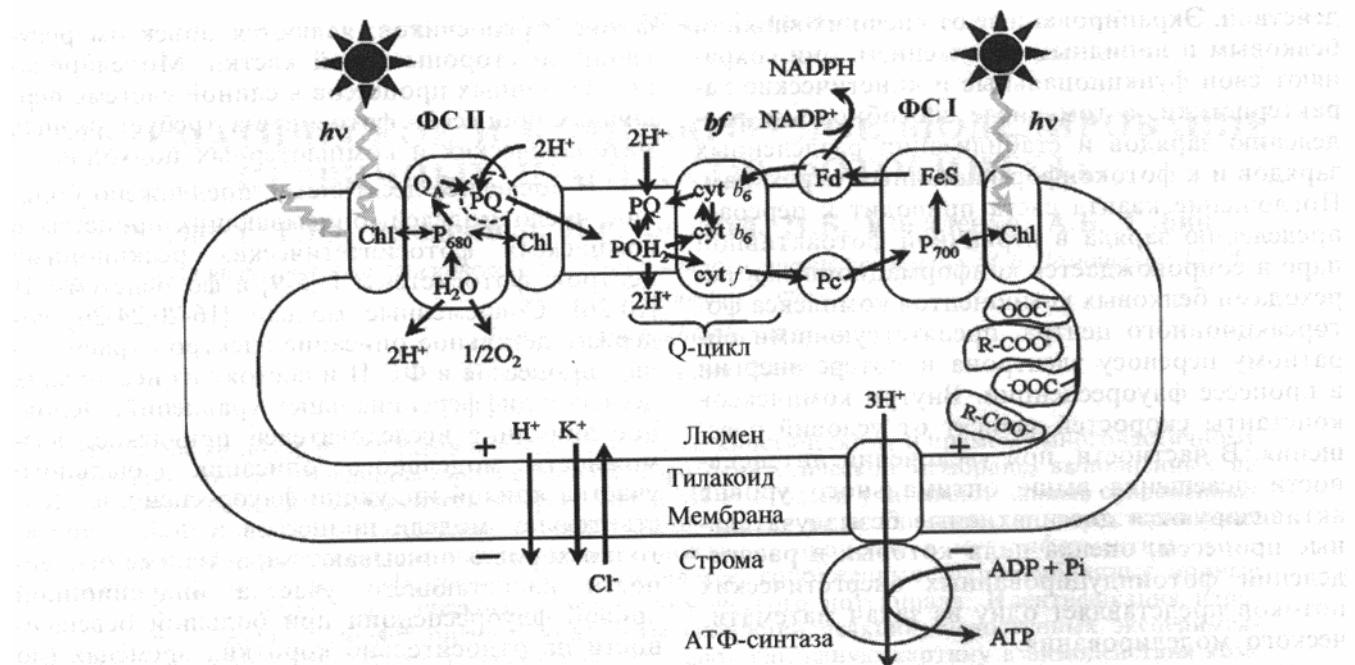
В последнее десятилетие предложено большое число моделей, описывающих процессы в комплексах фотосинтетических реакционных центров: фотосистемы I [5-9] и фотосистемы II [10-26]. Современные модели [16-20,24-26] содержат детальное описание электрон-транспортных процессов в ФС II и состоят из нескольких десятков дифференциальных уравнений. Основное внимание исследователей привлекает возможность модельного описания начального участка кривой индукции флуоресценции. Действительно, модели процессов в ФС II достаточно хорошо описывают характерные особенности нарастающего участка индукционной кривой флуоресценции при большой освещенности на относительно коротких временах (до 1 с).

Однако для изучения регуляции первичных процессов фотосинтеза со стороны метаболических систем растительной клетки необходимы модели, которые учитывают всю совокупность процессов, происходящих в тилакоидной мембране. Наряду с событиями, происходящими в комплексах фотопротоцентра, большую роль здесь играют процессы, определяемые структурой и общей функциональной организацией тилакоидной мембранны.

В последние годы на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ разрабатываются модели совокупности процессов, происходящих в тилакоидной мембране: обобщенная кинетическая модель фотосинтетической мембранны [2,3,27,28] и комплекс прямых (многочастичных) компьютерных моделей, описывающих процессы взаимодействия ансамблей молекул и молекулярных комплексов – компонентов фотосинтетической цепи, позволяющих визуализировать процессы в фотосинтетической мембране [4,29-32]. В настоящей статье мы рассмотрим основные результаты и проблемы, сопряженные с данными исследованиями.

## КИНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССОВ В ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЕ

Процессы в фотосинтетической мембране, описываемые в модели, изображены на рис. 1. Модели электронного транспорта в изолированных комплексах фотосинтетической цепи подробно проанализированы нами в серии работ: ФС II – в работах [11,14,26,33], ФС I – в [6-9], цитохромного комплекса – [34]. В обоб-



**Рис. 1.** Общая схема процессов, рассматриваемых в комплексной модели первичных процессов фотосинтеза. ФС I, ФС II – фотосистемы I и II,  $b_f$  – цитохромный  $b_6f$ -комплекс, Chl – хлорофилл антенны,  $P_{680}$  и  $P_{700}$  – пигменты реакционных центров фотосистем II и I.  $Q_A$  – первичный хинонний акцептор электронов ФС II,  $b_1$  и  $b_h$  – низко- и высокопотенциальный гемы цитохрома  $b$ ,  $\text{FeS}_R$  – железосерный центр Риске,  $f$  – цитохром  $f$ ,  $\text{FeS}_I$  – акцепторный комплекс ФС I, PQ – пластохинон;  $\text{PQH}_2$  – пластохинонол; Fd – ферредоксин, Рс – пластоцианин. R-COO<sup>-</sup> – буферные группы. Знаки «+» и «-» показывают, что в результате светоиндуцированных процессов люмен тилакоида заряжается положительно, а строма хлоропласта – отрицательно. Жирные стрелки обозначают потоки квантов падающего света и флуоресценции. Тонкими стрелками показан перенос электронов от акцепторов к кислороду, и потоки ионов  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  после включения освещения.

щенной модели [2-4,27,28] наряду с процессами электронного транспорта описываются: трансмембранные потоки ионов, процесс выделения кислорода, генерация электрического и электрохимического трансмембранного потенциала, активность АТФ-синтазы, роль буферных групп в стромальном и люминальном пространстве.

## ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНА В МУЛЬТИФЕРМЕНТНЫХ КОМПЛЕКСАХ

Основополагающими элементами фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) являются встроенные в мембрану пигмент-белковые комплексы фотосистем I и II, обеспечивающие использование энергии поглощенных квантов света для разделения зарядов, а также цитохромный комплекс, регулирующий сопряжение фотосинтетического электронного транспорта с трансмембранным переносом протонов (генерацией электрохимического потенциала), в дальнейшем используемых АТФ-синтазой для синтеза АТФ (см. рис. 1).

Перенос электрона внутри комплексов осуществляется по фиксированной «электронной

тропе», при этом комплекс функционирует как единое целое. Каталитический цикл для каждого из комплексов может быть представлен как набор возможных состояний комплекса, число которых зависит от количества входящих в структуру комплекса переносчиков электронов и от числа возможных состояний этих переносчиков (окисленное, нейтральное, восстановленное, возбужденное, протонированное и др.). В наших моделях перенос электронов внутри комплекса описывается системами обыкновенных дифференциальных уравнений, переменными которых выступают вероятности этих состояний, а параметрами – константы скоростей переходов между состояниями.

Впервые вопрос об описании переноса электрона в комплексах был поставлен в работах [35,36] и детально разработан в книге [37]. В серии работ кафедры биофизики Биологического факультета МГУ этот подход использовали для описания процессов в изолированных комплексах ФС I, ФС II, бактериальных реакционных центров [1,5-8,38-40].

## Пусть мультиферментный комплекс

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

включает  $n$  переносчиков электрона, каждый из которых может находиться в конечном числе состояний. Схема переходов между состояниями представляет собой граф, в узлах которого находятся возможные состояния комплекса, а ребра (со стрелками) представляют собой переходы между состояниями. Примеры таких графов для переходов между состояниями комплексов, входящих в состав ЭТЦ, изображены на рис. 2-5.

Переходы между состояниями могут быть описаны с помощью обыкновенных дифференциальных уравнений для вероятностей состояний:

$$\frac{dp_i}{dt} = \sum_{j=1}^l (p k_{ji} - p k_{ij}). \quad (2)$$

Здесь  $p_i$  – вероятность нахождения комплекса в  $i$ -м состоянии;  $k_{ij}$  – константы скоростей перехода комплекса из  $i$ -го в  $j$ -е состояние. Под знаком суммы стоит разность между вероятностями перехода в  $i$ -е состояние из других состояний (положительный член) и вероятностью перехода из  $i$ -го состояния в другие состояния (отрицательный член). Начальные значения задаются в виде:  $p_i(0) = b$ ,  $i = 1, \dots, l$ , или в векторной форме:

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

Вероятность найти переносчик под номером  $q$  в определенном состоянии  $G$  может быть представлена в виде:

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

Здесь суммирование осуществляется по всем состояниям  $S_q$ , в которых  $q$ -й компонент представлен состоянием  $G$ .

Вероятности переходов  $k_{ij}$  между состояниями не являются постоянными величинами, но зависят от состояния комплекса в целом (например, они могут быть различны для комплексов в различных конформационных состояниях, для комплексов, локализованных в гранальной или стромальной части тилакоида и проч.), а также могут зависеть от других переменных и параметров системы (температуры, трансмембранных электрического потенциала, внешнего электрического поля и т.д.). В наших кинетических моделях особое внимание уделяется зависимостям констант скоростей перехода

между состояниями от фотоиндуцированного электрического потенциала.

## КОМПЛЕКС ФОТОСИСТЕМЫ II

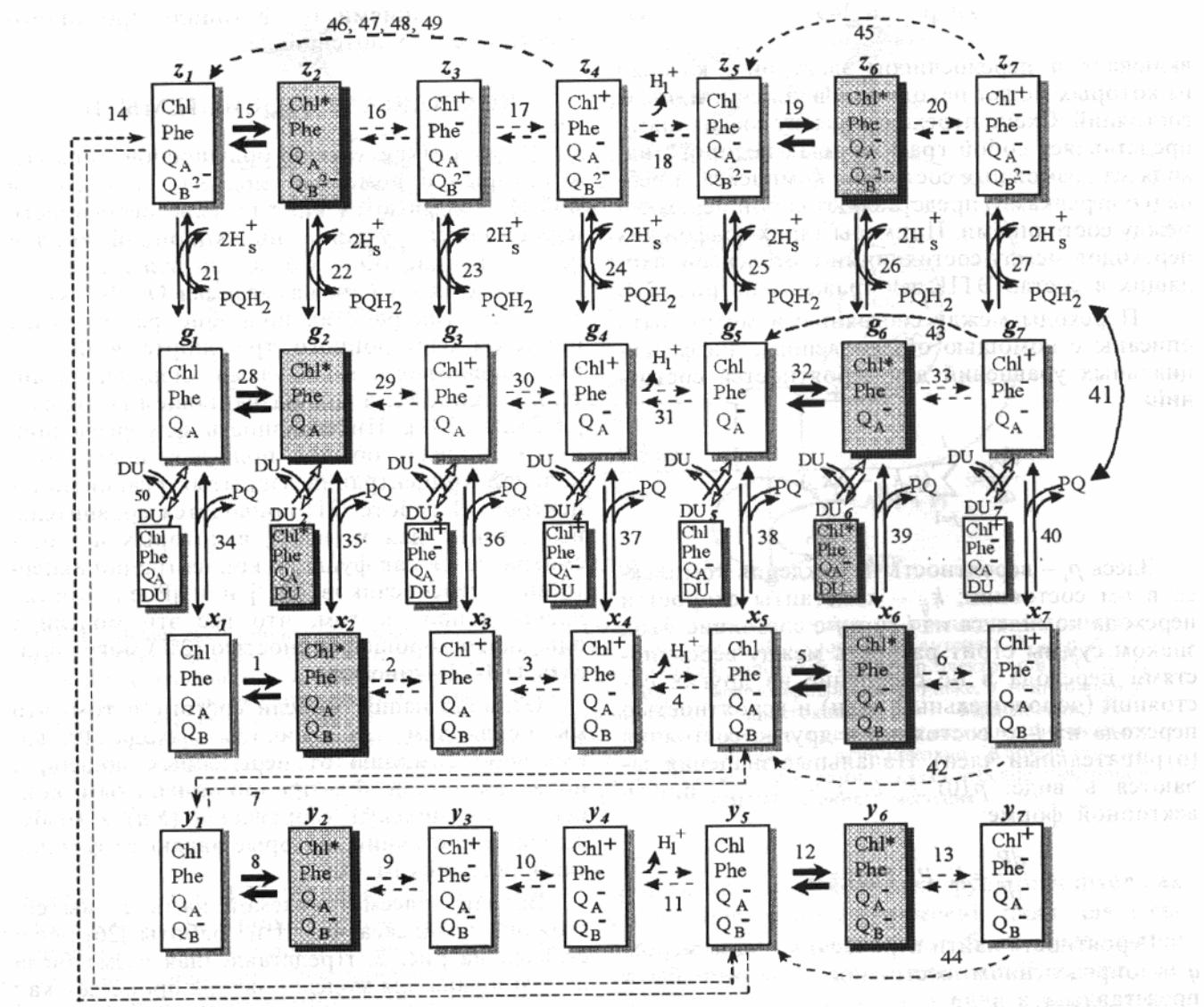
В литературе имеется большое число работ, в которых с помощью моделей процессов в ФС II описываются кинетические особенности нарастающего участка индукционной кривой флуоресценции (Фл) в ответ на включение постоянного света (так называемая О-Д-И-Р-кинетика). В этих работах подробно рассмотрены процессы электронного транспорта в ФС II, взаимодействие с молекулами хлорофилла антенны, процессы в водоразлагающем комплексе [16-21, 24, 25, 41]. Интенсивность флуоресценции в этих моделях обычно полагают пропорциональной концентрации закрытых реакционных центров. В работе [21] приводятся сравнительные данные для моделей, в которых Фл рассматривается как функция концентраций акцепторных переносчиков  $[Q_A^-]$  или  $[Phe^-]$ . Обсуждается вопрос о том, что все эти модели с одинаково хорошей точностью (2%) могут описать О-Д-И-Р-кинетику.

Отличие нашей модели состоит в том, что мы не вводим для величины выхода Фл какую-либо функцию от переменных модели, а полагаем выход Фл пропорциональным концентрации молекул хлорофилла (Хл) в возбужденном состоянии, которые являются физическим источником Фл.

Вариант рассматриваемой нами схемы состояний комплекса ФС II из работы [26] представлен на рис. 2. Представленная схема была использована для моделирования процессов как в нативных хлоропластах, так и в присутствии ингибитора диурона (ряд малых прямоугольников). Для детального рассмотрения отдельных экспериментальных ситуаций схема может быть модифицирована.

Каждое состояние ФС II на схеме включает четыре компонента: хлорофилл Р680, феофитин Phe, одноэлектронный переносчик хинонной природы  $Q_A$  и сайт связывания вторичного акцептора хиона  $Q_B$ .

Мы предполагаем, что энергия возбуждения, представляющая собой энергию кванта света, первоначально поглощенного одной из молекул хлорофилла антенны, быстро (пикосекунды) распределяется по всему пулу молекул Хл ФС II, включая молекулу Р<sub>680</sub> фотосинтетического реакционного центра. Обозначение Chl относится ко всему комплексу этих молекул. Компонент Chl может находиться в нейтральном (Chl), возбужденном (Chl<sup>+</sup>) и окисленном (Chl<sup>+</sup>) состояниях. Каждый из одноэлектронных акцеп-



**Рис. 2.** Схема каталитического цикла фотосистемы II. Каждый прямоугольник представляет собой одно из кинетических состояний ФС II, определяемое редокс-состоянием входящих в него переносчиков электрона. Затененными показаны состояния, способные к испусканию квантов флуоресценции. Chl – весь хлорофилл ФС II, включая пигменты антенн и пигмент реакционного центра P680; Phe – первичный акцептор электронов феофитин;  $Q_A$  и  $Q_B$  – первичный и вторичный хинонныи акцепторы. PQ – пластохинон;  $PQH_2$  – пластохинол;  $H_L^+$  – протоны, выделяемые в люмене,  $H_S^+$  – 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. Числы рядом со стрелками соответствуют номерам реакций, буквы над прямоугольниками ( $x_i$ ,  $y_i$ ,  $z_i$ ,  $g_i$ ,  $du_i$ ,  $i = 1, \dots, 7$ ) – обозначениям переменных модели. Ряд с переменными  $du_i$  (малые прямоугольники) обозначает состояния с  $Q_B^-$ -сайтом, занятым ингибитором. Молекула ингибитора ( $DU$ ) занимает пустой  $Q_B^-$ -сайт с образованием состояний  $du_i$ , не способных к переносу электрона с первичного на вторичный хинон. Пунктирными дугами показаны процессы безызлучательной рекомбинации  $Phe^-$  с  $P680^+$  – реакции 42–45,  $Q_A^-$  с  $P680^+$  – 46–49.

торов может находиться в нейтральном (Phe,  $Q_A^-$ ) и восстановленном ( $Phe^-$ ,  $Q_A^-$ ) состоянии.

Сайт связывания PQ может быть пустым (второй ряд схемы рис. 2), содержать PQ в нейтральном ( $Q_B$ ) состоянии (четвертый ряд схемы), а также нести один ( $Q_B^-$ ) или два ( $Q_B^{2-}$ ) электрона (соответственно пятый и первый ряды

схемы рис. 2). Таким образом, состояния, соответствующие отдельным рядам:  $x_i$ ,  $y_i$ ,  $z_i$ ,  $g_i$  ( $i = 1, 2, \dots, 7$ ) отличаются состоянием PQ в сайте связывания. Подробное описание переходов между состояниями схемы ФС II дано в работах [14, 26].

Формирование возбужденного состояния Хл в модели определяется «световыми» константами  $k_L = k_i$ ,  $i = 1, 5, 8, 12, 15, 19, 28, 32$ , пропорциональными интенсивности действующего света. Фл в модели задается константой  $k_F = k_{-i}$ . Выход Фл в модели рассчитывается как произведение отношения  $k_F / k_L$  на сумму флуоресцирующих состояний:

$$F = \frac{k_F}{k_L} (x_2 + y_2 + z_2 + g_2 + x_6 + y_6 + z_6 + g_6). \quad (5)$$

На рис. 2 представлен дополнительный ряд малых прямоугольников, которые представляют собой состояния ФС II, в которых Q<sub>B</sub>-сайт занят молекулами диурона (переменные DU<sub>i</sub>), в таком состоянии блокируется перенос электрона на мобильные молекулы PQ и дальнейший электронный транспорт на цитохромный комплекс и ФС I.

Модель ФС II использовали в качестве блока обобщенной модели процессов в тилакоидной мембране [27,28], а также в качестве самостоятельной модели для описания формирования быстрой фазы индукции Фл после включения освещения (на временах до 1 с при высокой интенсивности освещения) [14,33,42].

Модель изолированной ФС II оказалась также эффективной для экспериментальных ситуаций, когда сопряжение ФС II с дальнейшей ЭТЦ заблокировано (присутствие диурона) или пренебрежимо мало, а влиянием изменений величины электрохимического потенциала можно пренебречь. Так, в работах [33,43] осуществлено фитирование данных по измерению сигнала флуоресценции, возбуждаемой насыщающим импульсом длительностью 10 нс в диапазоне времени от 100 нс до 10 с на препаратах термофильного штамма одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella pyrenoidosa* Chick (эксперименты выполнены в лаборатории проф. Г. Ренгера, Берлин). Сравнительный анализ модели с экспериментальными данными позволил оценить константы скоростей реакций, некоторые из которых невозможно определить экспериментально, и установить соотношение энергетических потоков в ФС II при данном типе воздействий. Показана необходимость учета процессов безызлучательной диссипации энергии, которые особенно существенны при больших интенсивностях светового воздействия. Подробное изложение модели и результатов представлено в работах [33,43].

## ЦИТОХРОМНЫЙ *b/f*-КОМПЛЕКС

Цитохромный комплекс является одним из главных компонентов фотосинтетической цепи, он осуществляет связь между ФС II и ФС I и является общим «контрольно-пропускным пунктом» как для линейного потока электрона от водоразлагающего комплекса на терминальные акцепторы (NADH), так и для циклического потока вокруг ФС I [44]. Важной его функцией является сопряжение электронных потоков с генерацией трансмембранных электрохимического потенциала путем регуляции переноса протонов молекулами хинонного пула. Схема разработанной нами в [34] субмодели цитохромного комплекса представлена на рис. 3.

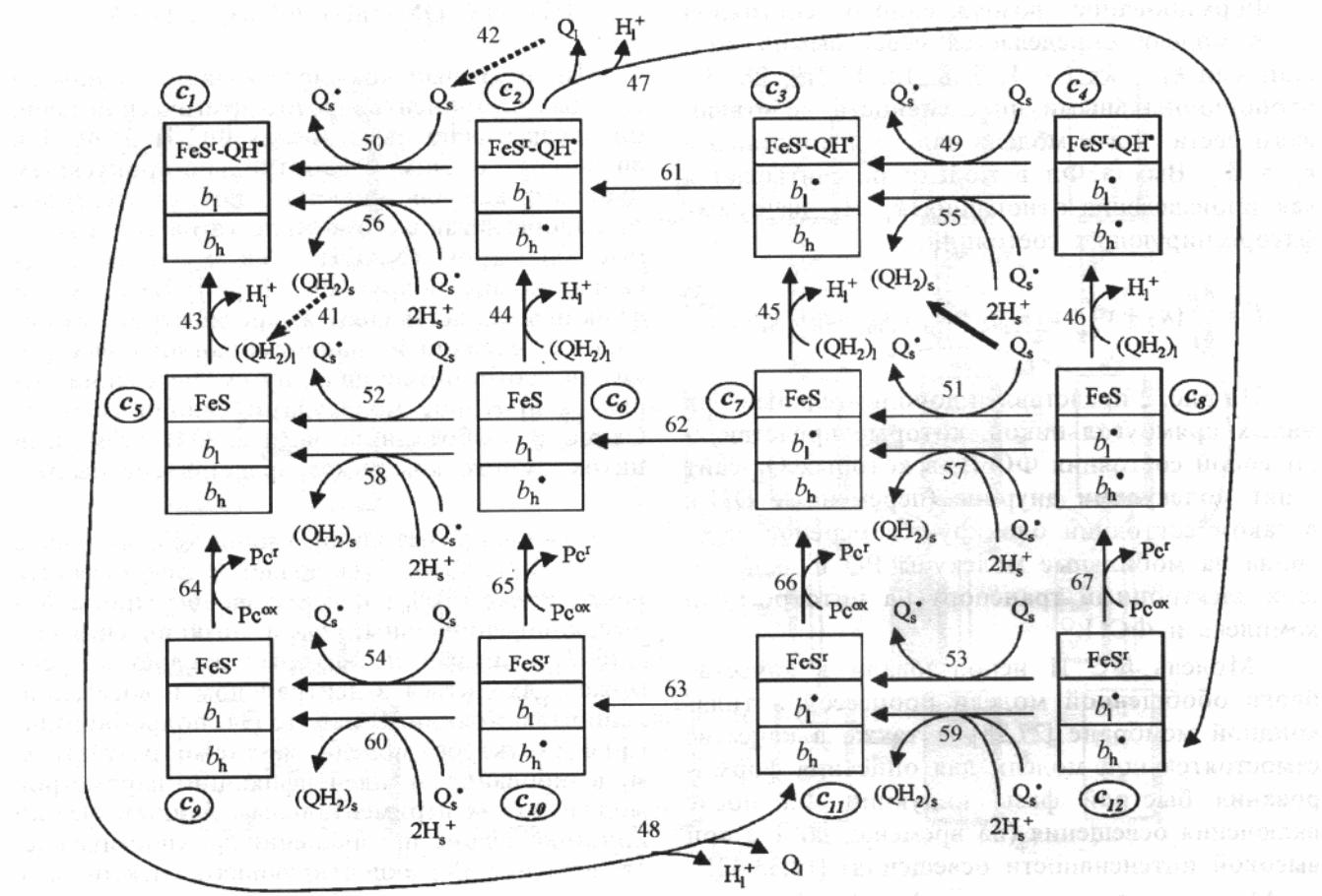
Каждое из состояний, изображенных в виде прямоугольников, включает железосерный центр Риске ( $FeS_R$ ) и два гема цитохрома *b* – высокопотенциальный  $b_H$  и низкопотенциальный  $b_L$ , каждый из которых в свою очередь может находиться в нейтральном и восстановленном состоянии. В работе [34] подробно описаны структура модели, а также результаты моделирования и идентификации параметров модели по экспериментальным данным [45] по кинетике редокс-превращений  $b_H$ , кинетике восстановления Рс, акцептирующего электроны с цитохромного комплекса и по связанным с работой комплекса изменениям pH.

## РОЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОГО ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Процессы переноса электронов и ионов через мембрану приводят к созданию трансмембранных электрических потенциалов, который в свою очередь оказывает влияние на электронные потоки [46]. Многочисленные эксперименты с воздействием внешнего поля подтверждают, что скорость переноса электрона в пределах мультиферментного комплекса зависит от потенциала на тилакоидной мембране [47,48].

При описании перемещения электрона перпендикулярно фотосинтетической мембране необходимо учитывать зависимость скорости этого процесса от генерируемой разности электрических потенциалов ( $\Delta\Psi$ ). В наших моделях  $\Delta\Psi$  является динамической переменной, изменение которой определяется процессами изменения общего заряда на люминальной и стромальной сторонах мембраны [49]:

$$\frac{c_m}{F} \frac{d(\Delta\Psi)}{dt} = v(q_{lumen}) - v(q_{stroma}).$$



**Рис. 3.** Схема каталитического цикла цитохромного  $b_6 f$ -комплекса. Каждый прямоугольник представляет собой одно из возможных кинетических состояний  $b_6 f$ -комплекса, определяемое редокс-состоянием входящих в него переносчиков электрона. Блок цитохромного  $b_6 f$ -комплекса включает перенос электронов от  $\text{PQH}_2$ , восстановленного на стромальной стороне ФС II согласно схеме процессов, называемой Q-циклом. После восстановления в ФС II пластохинол  $\text{PQH}_2$  диффундирует в мембране (реакция 41). При окислении  $\text{PQH}_2$  в люменальном сайте  $b_6 f$ -комплекса один электрон поступает на железосерный центр Риске (высокопотенциальный путь), другой – на окисленный гем  $b_1$  (низкопотенциальный путь). Электрогенными полагали стадии: 1) выделение двух протонов в люмене (реакции 43–48), сопутствующее окислению  $\text{PQH}_2$  до  $\text{PQ}$ , 2) поглощение двух протонов ( $\text{H}_\text{s}^+$ ) из стромы (реакции 55–60) в стромальном сайте, 3) трансмембранный перенос электрона от гема  $b_1$  к окисленному высокопотенциальному гему  $b_\text{h}$  (реакции 61–63);  $c_i$ ,  $i = 1, 2, \dots, 12$  – обозначения переменных модели.  $\text{Pc}^\text{r}$  и  $\text{Pc}^\text{ox}$  – пластоцианин, восстановленный и окисленный соответственно.

Здесь  $c_m$  – емкость мембраны;  $F$  – константа Фарадея;  $v(q_{\text{lumen}})$ ,  $v(q_{\text{stroma}})$  – объемные плотности зарядов на люменальной и стромальной сторонах мембраны;  $q_{\text{lumen}}$ ,  $q_{\text{stroma}}$  – функции концентраций ионов  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  в соответствующих компартментах тилакоида, которые являются переменными модели.

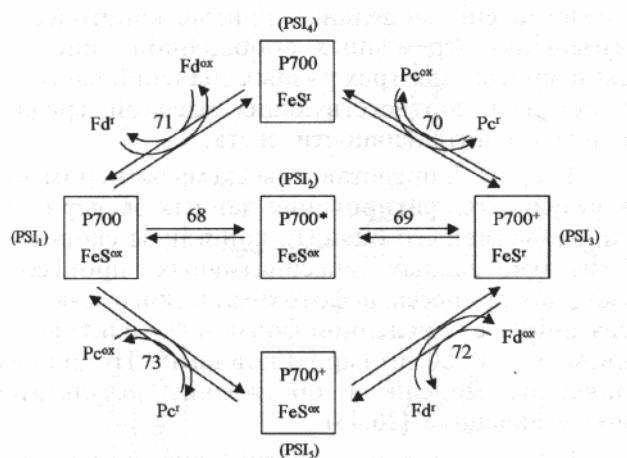
Для оценки электрогенности каждой отдельной стадии переноса заряда использовали следующее соотношение [50,51]:

$$k_j(\Delta\psi) = k_j^0 \exp(\delta\beta_j F \Delta\psi / 2RT), \quad (6)$$

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

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 мембранныго потенциала ( $\beta_j \Delta\psi$ ), которая влияет на константу скорости прямой реакции.

Зависимость констант скоростей реакций от электрического потенциала на мембране является важной особенностью моделей и дает дополнительные возможности для верификации моделей на основании данных экспериментов по регистрации электрического потенциала в условиях освещения [52].



**Рис. 4.** Упрощенная схема процессов переноса электрона в ФС I.  $P_{700}$  – хлорофилл реакционного центра.  $FeS^r$  и  $FeS^{ox}$ ,  $Fd^r$  и  $Fd^{ox}$ ,  $Pc^r$  и  $Pc^{ox}$  – акцепторный комплекс ФС I, ферредоксин и пластоцианин в восстановленном ( $r$ ) и окисленном ( $ox$ ) состояниях. Обозначения  $PSI_i$ ,  $i = 1, 2, \dots, 5$ , соответствуют переменным модели.

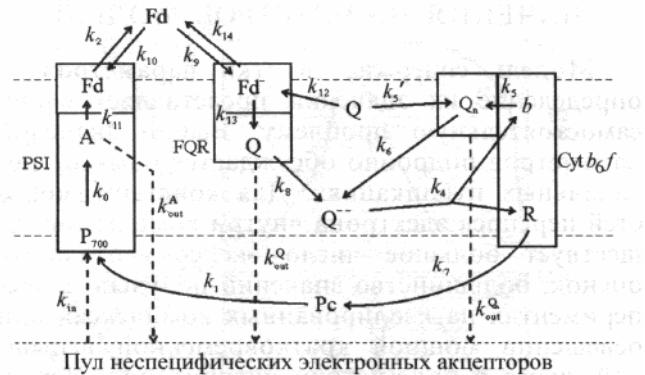
## КОМПЛЕКС ФОТОСИСТЕМЫ I

Степень детализации описания процессов в комплексе ФС I в разработанных нами моделях зависела от цели моделирования. При описании особенностей индукционных кривых флуоресценции [27] мы ограничились упрощенной версией процессов в ФС I, схема изображена на рис. 4.

При кинетическом моделировании двухфазной кинетики восстановления  $P_{700}$  в изолированных хлоропластах гороха в присутствии диурона, связанного с процессом ферредоксин-зависимого циклического электронного транспорта вокруг ФС I, для идентификации параметров по данным фотоиндуктированного сигнала ЭПР I была использована более детальная схема (рис. 5) [9]:

## ОПИСАНИЕ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА ПОДВИЖНЫМИ ПЕРЕНОСЧИКАМИ В КИНЕТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ

Между комплексами перенос электрона 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 ферредоксина, внутри бислойного липидного слоя мембранны – молекулы пластохинона в нейтральной и дважды протонированной форме (пластохинол).



**Рис. 5.** Схема кинетической модели циклического транспорта электронов вокруг PSI. Прямоугольниками обозначены комплексы PSI, FQR и цитохромный  $b_6/f$ -комплекс.  $P_{700}$  – пигмент реакционного центра PSI, А – обобщенный акцептор, R – центр Риске, b – высокопотенциальный цитохром  $b_6$ , Fd – ферредоксин, Pc – пластоцианин, Q – пластохинон,  $Q^-$  – пластохинол,  $Q_n$  – семихинон на n-сайте комплекса цитохромов (у внешней поверхности мембраны). Стрелками показаны пути электронного транспорта,  $k_{in}$ ,  $k_{out}$ ,  $k_1$ , ...,  $k_{14}$  – константы скоростей соответствующих реакций переноса электрона. Пунктирными линиями изображены границы тилакоидной мембрани и граница пула неспецифических акцепторов и доноров электронов.

В кинетических моделях взаимодействие подвижных переносчиков с комплексом описывали с помощью традиционного аппарата уравнений действующих масс.

Ниже мы рассмотрим подход прямого многочастичного компьютерного моделирования, позволяющий с помощью формализма броуновской динамики описывать движение индивидуальных подвижных переносчиков в различных компартментах тилакоида и их взаимодействие с белковыми комплексами.

## ПЕРЕНОС ИОНОВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ И БУФЕРНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ

Для описания процессов утечки протонов через мембрану, а также связанного с образованием электрохимического потенциала переноса ионов мы использовали формализм трехбарьерного переноса [53,54]. Этот же формализм использовали для описания работы АТФ-синтазы.

Для описания буферных свойств люмена и стромы тилакоида предположили наличие трех типов буферных групп ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ), р $K$  которых по отношению к протонам расположено в диапазоне от четырех до восьми. Константы ассоциации–диссоциации буферных групп были выбраны в соответствии с экспериментальными данными о буферной ёмкости тилакоида [55].

## ЗНАЧЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ МОДЕЛИ

Модель содержит десятки параметров, и определение их значений представляет собой самостоятельную проблему. Выбор значений параметров подробно обсуждается нами в оригинальных публикациях. Для констант скоростей переноса электрона внутри комплексов существует большое число экспериментальных оценок, большинство значений получено в экспериментах на изолированных комплексах при освещении мощной кратковременной вспышкой, часто в присутствии ингибиторов. Усредненные значения этих параметров мы брали в качестве исходных для наших моделей, их значения часто уточнялись в процессе фитирования по экспериментальным данным. Менее изучены процессы взаимодействия комплексов с подвижными переносчиками, оценки скоростей на этих участках носят противоречивый характер. Широкий диапазон представленных в литературе данных связан с вариабельностью геометрии люминального и стромального пространства, рН, ионной силы и других параметров для разных видов в разных условиях эксперимента. Некоторые из значений параметров такого типа мы усредняли по большому массиву экспериментальных данных, другие варьировали с целью наибольшего соответствия результатов моделирования экспериментальным данным. Таблицы значений соответствующих параметров представлены в работах [26-28,34]. Для оценки некоторых параметров модели необходима постановка специальных экспериментов. Например, для оценки констант скоростей диссипативных процессов в ФС II были использованы данные по регистрации выхода Фл после мощной кратковременной вспышки света [26].

## РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Модель процессов в тилакоидной мембране позволяет представить кинетику изменения переменных во времени при различных значениях параметров и начальных условий, соответствующих разным условиям эксперимента. При этом на модели можно получить кривые изменения во времени величин, как наблюдаемых в эксперименте (индукционная кривая флуоресценции, кинетика изменения электрического потенциала, кинетика окислительно-восстановительных превращений Р700), так и тех, прямое наблюдение которых невозможно экспериментально.

Ниже даны примеры рассчитанных на модели кинетических кривых для различных переменных кинетических моделей. На рис. 6

представлены модельные кривые кинетических изменений переменных обобщенной кинетической модели для трех разных значений световой константы, соответствующих высокой, средней и низкой интенсивности света.

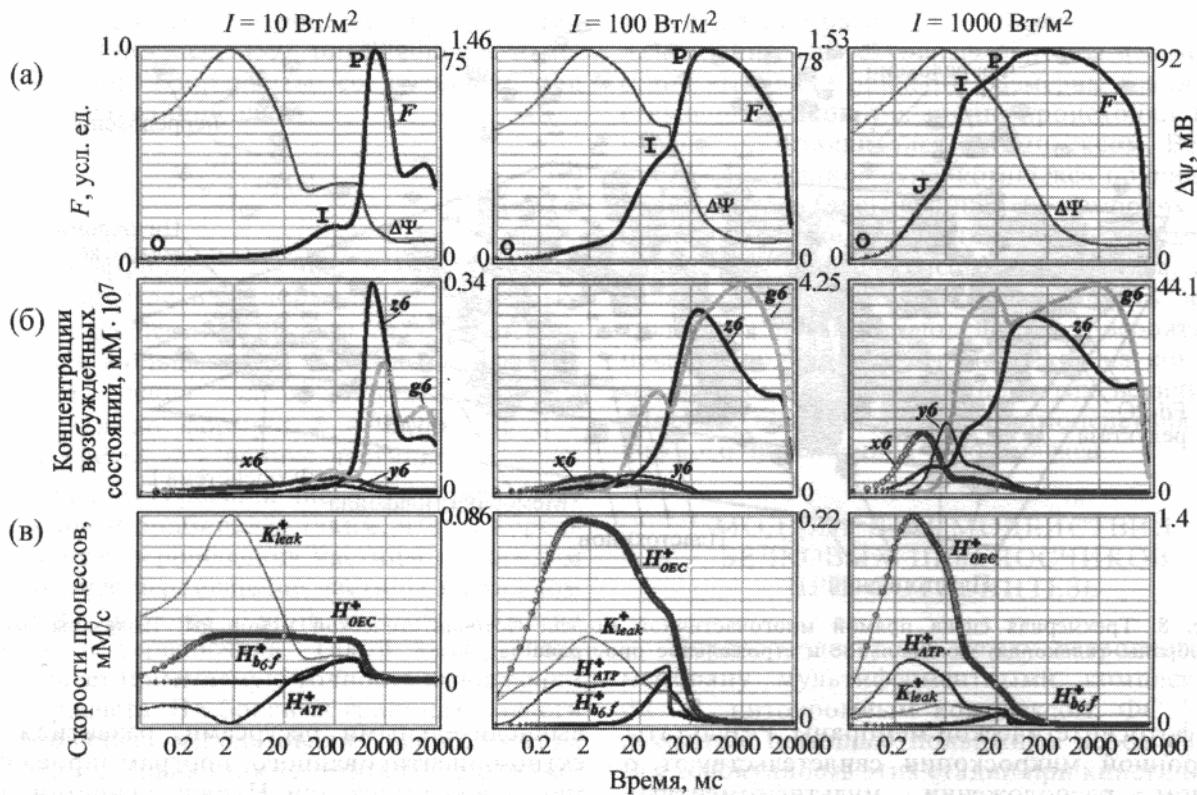
На рис. 7. представлена схема эксперимента и результаты фитирования данных эксперимента, позволившего оценить константы скоростей безызлучательных диссипативных процессов, включая процессы нефотохимического тушения, связанные с окисленной формой фотоактивного пигмента Р680 и каротиноидами. Подробное описание модели и обсуждение результатов представлено в [26,43].

Таким образом, кинетические модели позволяют проверить адекватность представлений о механизмах функционирования отдельных участков фотосинтетической цепи, оценить вклад различных процессов в формирование кинетических индукционных кривых и соотношение электронных потоков на отдельных стадиях электронного транспорта. Идентификация параметров модели по совокупности экспериментальных данных дает возможность оценки значений кинетических параметров, методов прямого экспериментального наблюдения которых в настоящее время не существует.

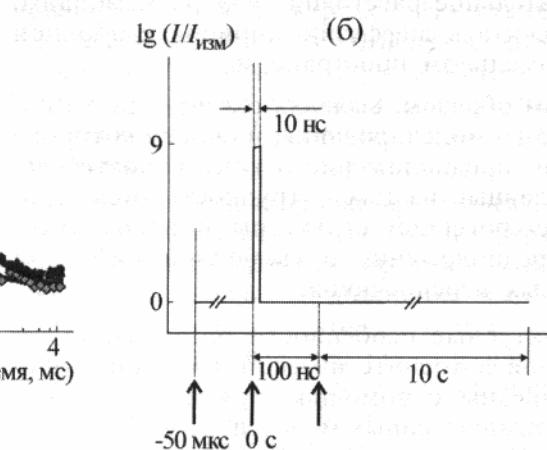
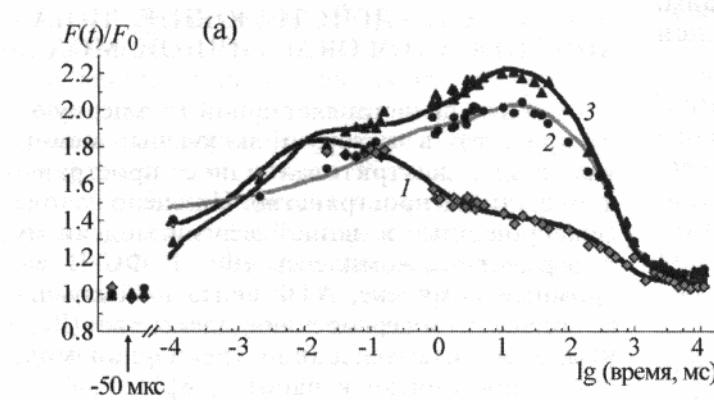
## ОГРАНИЧЕНИЯ КИНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ

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 I и II и цитохромного комплекса распределены в мембране равномерно, взаимодействие комплексов с подвижными переносчиками описывается с помощью уравнений действующих масс. С помощью математического аппарата кинетических моделей удается достаточно детально описывать процессы, происходящие в комплексах фотосинтетических реакционных центров, но они мало пригодны для выяснения роли пространственной организации фотосинтетической мембранны в регуляции фотосинтетических процессов. Особенности геометрии системы и свойства среды (люмена и стромы), в которой перемещаются подвижные переносчики, могут быть учтены в кинетических моделях только косвенно в виде эффективных значений параметров – констант скоростей реакций.

В последние годы было выполнено большое число работ по изучению гетерогенной струк-



**Рис. 6.** Индукционные кривые, рассчитанные с помощью модели первичных процессов фотосинтеза для трех разных интенсивностей освещения объекта: 1000, 100 и 10 (1%)  $\text{Bt/m}^2$ . Рисунки, расположенные в одном столбце, соответствуют одному уровню освещенности. Результаты показаны на логарифмической шкале времени; (а) – относительный выход флуоресценции ( $F$ , усл.ед.) и значение трансмембранных электрического потенциала ( $\Delta\Psi$ , мВ); (б) – концентрации различных возбужденных состояний ФС II,  $\text{мM} \cdot 10^7$ ; (в) – скорости процессов, генерирующих и потребляющих электрический заряд в люмене тилакоида,  $\text{мM/c}$ :  $H^+_{bf}$  – поток протонов в люмен при окислении пластохинола на люменальной стороне  $bf$ -комплекса;  $H^+_{ATP}$  – скорость потребления протонов люмена в АТФ-синтазной реакции;  $K^+_{leak}$  – скорость утечки ионов  $K^+$  из люмена тилакоида.



**Рис. 7.** Экспериментальные данные (точки) и модельные кривые (сплошные линии), полученные для начальных условий, моделирующих воздействие наносекундного импульса высокой интенсивности (световая константа  $k_L = 6 \cdot 10^8 \text{ c}^{-1}$ ), включенного после измерительного света ( $k_L = 0,6 \text{ c}^{-1}$ ). Расчет проведен для условий слабого измерительного света ( $k_L = 0,6 \text{ c}^{-1}$ ) и параметров модели, описывающих нативный образец (ромбы, кривая 1) и образец в среде с ингибиторами: диуроном (кружки, кривая 2) и *o*-фенантролином (треугольники, кривая 3) (а). Схема эксперимента. На горизонтальной оси показано, в какие моменты времени изменяли режим светового воздействия, 0 – время включения мощной вспышки света. По вертикальной оси – логарифм соотношения интенсивностей света, задаваемых при моделировании воздействия импульса и измерительного света (б).

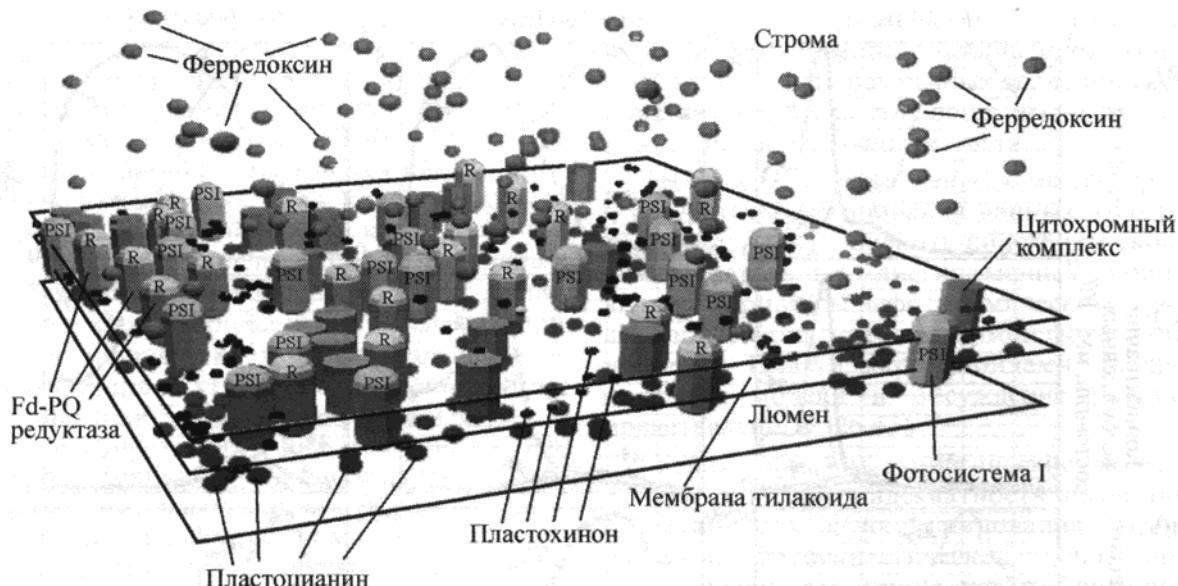


Рис. 8. Трехмерная сцена прямой многочастичной модели фотосинтетической мембранны. Показаны часть мембранны тилакоида, люменальное и стромальное пространства.

туры фотосинтетической мембранны. Результаты электронной микроскопии свидетельствуют о плотном расположении мультиферментных комплексов в мембране, что делает невозможной свободную диффузию PQ во внутримембранном пространстве. Данные [45,56,57] показывают, что фотосинтетические реакционные центры в тилакоидной мемbrane расположены настолько близко друг к другу, что в люменальном пространстве необходимо рассматривать ограничения движения молекул Рс 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 мембранны могут быть описаны с помощью прямых многочастичных компьютерных моделей, разработанных в последние пять лет на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ совместно с кафедрой компьютерной физики Физического факультета МГУ [4,9,29-32]. Возможность построения таких моделей процессов в субклеточных наноструктурах появилась в последнее время в связи с бурным развитием информационных технологий, многократно возросшими

вычислительными ресурсами, развитием объективно-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, а также дает возможность наблюдать за поведением индивидуальных компонентов и получать статистические сведения о системе.

### СЦЕНА И «ДЕЙСТВУЮЩИЕ ЛИЦА» ПРЯМОЙ МНОГОЧАСТИЧНОЙ МОДЕЛИ

Модель представляет собой трехмерную сцену (рис. 8), в которую включены: мембрана тилакоида, внутритилакоидное пространство, люменальное пространство. На сцене находятся фиксированные в данной версии модели мультиферментные комплексы (ФС I, ФС II, цитохромный комплекс, АТФ-сингтазный комплекс) и подвижные переносчики электрона (Рс, Fd, PQ). Алгоритм генерации трехмерной модельной сцены описан в работе [58].

Для моделирования движения Рс, Fd, PQ в пространствах соответствующих компартментов использовали математический аппарат описания броуновского движения с учетом 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 [59], описывающее изменение каждой координаты со временем под действием случайной силы:

$$\xi \frac{dx}{dt} = f(t). \quad (7)$$

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  $\xi = 6\eta a$ , где  $\eta$  – вязкость среды,  $a$  – радиус частицы.

Уравнение (7) решали численно, причем шаг по времени  $dt$  подбирался 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 периодические граничные условия, также учитывали 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 задавали с помощью определенных правил. На использованном нами уровне детализации это выглядит следующим образом (рис. 8). Внутренняя часть тилакоида ограничена мембранный. 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  $FC$  I,  $FC$  II, цитохромные комплексы. Концентрации и размеры комплексов выбирали в соответствии с литературными данными [56,57,60].

Механизм передачи электрона следующий: если частица подвижного переносчика в результате хаотического броуновского движения приближается 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 образования суперкомплекса подвижного переносчика и встроенного в мембрану комплекса в случае их сближения на расстояние, равное или меньшее расстояния докинга, 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.

### МОДЕЛИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВЫХ ПЕРЕНОСЧИКОВ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

Перенос электрона между встроенными в мембрану мультиферментными комплексами:  $FC$  II, цитохромным комплексом,  $FC$  I происходит с помощью подвижных переносчиков. Вся совокупность этих стадий при кинетическом моделировании описывается одной бимолекулярной реакцией. Между тем процесс включает три последовательные стадии: 1) броуновскую диффузию подвижного переносчика в пространстве соответствующего компартмента; 2) сближение подвижного переносчика с мультиферментным комплексом за счет электростатических сил притяжения между молекулами, взаимную ориентацию молекул в пространстве и образование суперкомплекса, в котором возможна передача электрона. Эта стадия получила название докинга; 3) перенос электрона с одной молекулы на другую в суперкомплексе (туннелирование). Расположение суперкомплекса цитохромный  $bf$ -комплекс –  $Pc$  в мембране тилакоида показано на рис. 9.

Процесс «заякоривания» молекулы подвижного переносчика на мультиферментном комплексе определяется не только вероятностью столкновения с донорной частью комплекса, но и тем, насколько близко окажутся при этом активные центры, т.е. необходимо рассматривать, какие части реагирующих макромолекул сближаются. При этом большую роль играют электростатические взаимодействия локальных зарядов взаимодействующих молекул.

Для моделирования образования комплекса двух белков, предсказания структуры и оценки константы скорости образования комплекса используется метод броуновской динамики [61-67]. При таком подходе индивидуальные белки рас-

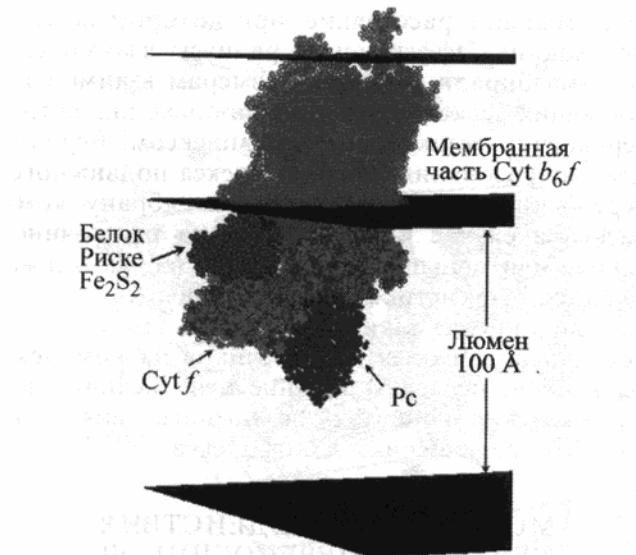


Рис. 9. Расположение суперкомплекса Ps и встроенного в мембрану Cyt bf-комплекса в люмене тилакоида. Рисунок получен совмещением PDB структур 2PCF и 1Q90.

сматриваются как твердые тела, их геометрическая форма моделируется с атомным разрешением, детально учитываются электростатические взаимодействия. Однако такой подход не дает возможности рассмотрения ансамблей молекул, взаимодействующих в интерьере фотосинтетической мембранны. Для изучения роли формы белков, геометрии реакционных объемов и электростатических взаимодействий в процессах электронного транспорта мы использовали сочетание подходов броуновской динамики и прямого многочастичного моделирования [29-32, 68, 69].

Для моделирования взаимодействия белков в интерьере фотосинтетической мембранны необходимо предварительно построить модель взаимодействия этих белков в растворе для того, чтобы убедиться в адекватности модели и на основании экспериментальных данных о кинетике процесса оценить параметры многочастичной модели – вероятности и радиуса их взаимодействия. Такие модели были построены нами для взаимодействия элемента цитохромного комплекса – цитохрома *f* с подвижным переносчиком Ps, который переносит электрон с цитохромного комплекса на ФС I [29, 32], также для взаимодействия ФС I с подвижными стромальными белками – акцепторами электрона – ферредоксином Fd [68], и флаводоксином FlD [69]. Взаимодействующие молекулы рассматривали как броуновские частицы, совершающие поступательное и вращательное движение в вязкой среде, возникающее из-за

столкновений с молекулами среды, и электростатической силы взаимодействия между молекулами, которая включалась в рассмотрение после того, как молекулы сближались на расстояние, меньшее 35 Å (расстояние электростатического взаимодействия). При больших расстояниях электростатические силы очень слабы из-за экранирования поля молекулами воды.

Для описания движения молекул использовали уравнения Ланжевена [59], описывающие изменение каждой координаты под действием случайной и электростатической сил.

Уравнение для поступательного движения имеет вид:

$$\xi_t^x \frac{dx}{dt} = f_x(t) + F_x, \langle f_x(t) \rangle = 0, \langle f_x(t)^2 \rangle = \frac{2kT\xi_t^x}{\Delta t}. \quad (8)$$

Здесь  $x$  – координата, вдоль которой рассматривается движение;  $\xi_t^x$  – коэффициент вязкого трения вдоль этой координаты;  $f_x(t)$  и  $F_x$  – проекции случайной и электростатической сил на ось  $x$  соответственно;  $k$  – постоянная Больцмана;  $T$  – температура;  $F_x = -q \frac{d\phi}{dx}$ ,  $q$  – заряд,  $\phi$  – потенциал.

Уравнение для вращательного движения имеет вид:

$$\xi_r^x \frac{d\phi}{dt} = m_x(t) + M_x, \langle m_x(t) \rangle = 0, \langle m_x(t)^2 \rangle = \frac{2kT\xi_r^x}{\Delta t}. \quad (9)$$

Здесь  $\phi$  – угол поворота вокруг оси, относительно которой рассматривается движение;  $\xi_r^x$  – коэффициент вязкого трения для вращательного движения вокруг оси  $x$ ;  $m_x(t)$  и  $M_x$  – моменты случайной и электростатической сил относительно оси  $x$  соответственно.

Для упрощения расчетов коэффициентов вязкого трения молекулы белков представляли как эллипсоиды вращения. Трехмерную модель молекулы строили по данным PDB, оси и размеры эллипсоида подбирали таким образом, чтобы момент инерции исходной молекулы и соответствующего эллипсоида совпадали при условии однородной плотности эллипсоида. Принципы расчета движения молекул подробно описаны в работах [31, 70].

При расчете столкновений белков использовали описание формы белков с помощью набора сфер. Радиусы и координаты сфер подбирали таким образом, чтобы при минимальном количестве сфер отклонение формы тела,

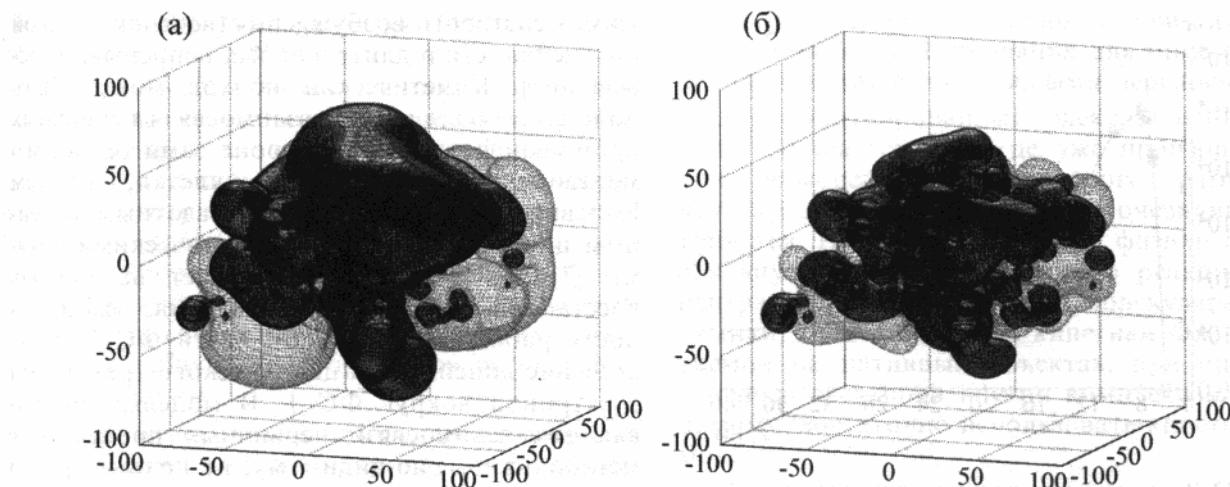


Рис. 10. Эквипотенциальные поверхности  $-6.5$  мВ (серый цвет) и  $6.5$  мВ (черный цвет) для ФС I. Сверху находится акцепторная сторона ФС I, снизу донорная; (а) – ионная сила раствора  $0$  мМ; (б) – ионная сила раствора  $80$  мМ.

представленного сферами, от поверхности белка было не более  $2$  Å (в других сериях численных экспериментов – не более  $1$  Å).

При приближении к другим белкам и комплексам белок ориентируется в электрическом поле, создаваемом этими белками. Как подтвердили результаты вычислительных экспериментов, процесс электростатической ориентации значительно увеличивает наблюдаемую кинетическую константу скорости реакции по сравнению с тем, как если бы белки соударялись случайными местами своих поверхностей.

В соответствии с данными о локальных зарядах белков, представленными в PDB, были построены эквипотенциальные поверхности взаимодействующих белков. Для того, чтобы рассчитать силу и момент силы, действующие на белок в электростатическом поле других белков, суммировали рассчитанные по уравнениям (8) – (9) силу и момент, действующие на каждый из зарядов данной молекулы.

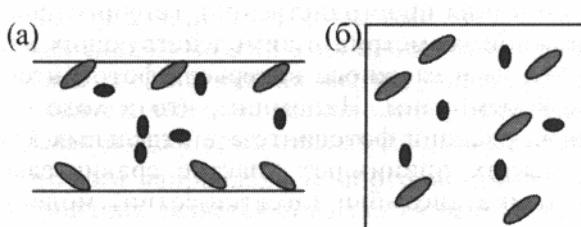


Рис. 11. Два варианта модельной сцены: (а) – молекулы Cyt f закреплены на мембранах люмена (плотность распределения соответствует экспериментальным данным); (б) – молекулы свободно диффундируют в кубическом реакционном пространстве, объем которого равен объему люмена в случае (а).

Эквипотенциальные поверхности для ФС I, рассчитанные в [69], представлены на рис. 10.

Для оценки параметров прямых многочастичных моделей результаты моделирования сравнивали с экспериментальными данными для мутантных белков, отличающихся локальными электрическими зарядами и, как следствие, формой эквипотенциальных поверхностей. На моделях получены соответствующие экспериментальным зависимостям констант скоростей взаимодействия Ps и Cyt f [32, 70], а также комплекса ФС I с акцепторными компонентами Fd [68] и Fld [69] от ионной силы для различных мутантов.

Показано, что при определенных значениях параметров модель может описывать наблюдаемую в эксперименте нелинейную зависимость константы связывания белков от ионной силы. Таким образом, для формирования такого вида зависимости достаточно учета только электростатических взаимодействий. На моделях в растворе были изучены также зависимости величины константы скорости реакции от геометрических размеров реакционного объема. Результаты исследования показали, что изменение геометрических размеров может приводить к существенным изменениям величины наблюдаемой константы скорости реакции и, таким образом, служить одним из эффективных механизмов регуляции фотосинтетических процессов со стороны растительной клетки (как это имеет место, например, при осмотическом стрессе).

Полученные в модели взаимодействия белков в растворе значения параметров многочас-

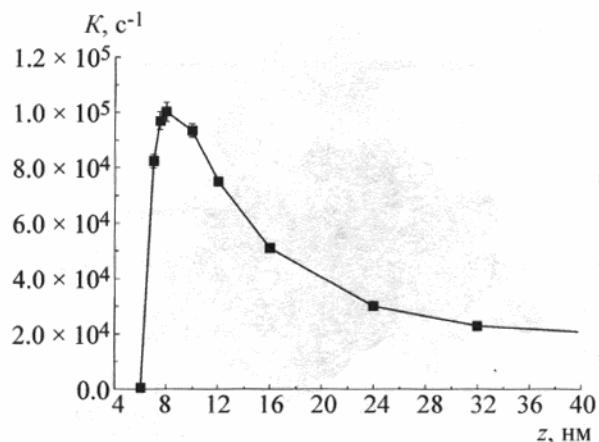


Рис. 12. Зависимость скорости реакции образования комплекса Рс-Суt f, отнесенной к концентрации Суt f, в люмене тилакоида, от расстояния  $z$  между мембранами при неизменном количестве молекул.

тичной модели были использованы для имитации процессов взаимодействия Рс и цитохрома  $f$  – выступающей в люминальное пространство части цитохромного комплекса – в люмене тилакоида [31]. На модели изучена зависимость скорости реакции от расстояния между мембранными тилакоидами (ширины люминального пространства).

Показано (рис. 12), что максимальная скорость реакции имеет место при расстоянии, равном 8 нм (что соответствует экспериментальным оценкам для нормального фотосинтеза). При увеличении расстояния скорость снижается из-за уменьшения концентрации реагирующих молекул Рс. При уменьшении расстояния скорость также снижается, так как диффузия молекул Рс в люминальном пространстве становится затрудненной, а при малой ширине люминального пространства – вообще невозможной. Этот результат соответствует наблюдаемому в эксперименте ингибированию реакции при гиперосмотическом стрессе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ. ПЕРСПЕКТИВЫ

Система процессов в фотосинтетической мемbrane представляет собой первичную энергетическую «фабрику», обеспечивающую мир живой природы энергией, и является уникальным объектом для исследования процессов в живых системах на уровне субклеточных nanoструктуру. Кинетические модели систем дифференциальных уравнений оказались весьма полезными при моделировании процессов фотосинтетического электронного транспорта для описания особенностей кинетических индукционных кривых флуоресценции при разных ре-

жимах светового возбуждения (вспышки разной интенсивности и длительности, непрерывное освещение). Кинетический подход может быть полезен и при изучении взаимосвязи первичных процессов фотосинтеза с процессами темнового метаболизма растительной клетки, циклом Кальвина фиксации углерода, азотным и серным циклами, другими метаболическими путями [71-73]. Их состояние влияет на степень восстановленности хинонного пульпа, эффективность работы акцепторной части ФС I, соотношение линейного и циклического транспорта электронов вокруг ФС I. В моделях, учитывающих взаимосвязь первичных процессов с метаболизмом, по-видимому, не целесообразно использовать детальные субмодели мультиферментных комплексов, можно использовать редуцированные блоки моделей с условием того, что они сохраняют основные кинетические характеристики полных версий. Такие модели могут быть использованы для анализа не только нарастающего участка индукционной кривой Фл, но и формы индукционной кривой на более длительных временах. Важно отметить, что различные типы стрессов (ингибиторы, голодание и т.д.) вызывают существенное изменение формы индукционной кривой Фл на временах больших, чем 1-2 с после включения света. Эти изменения часто связаны с эффектами кислородного стресса, нарушениями систем синтеза белков и другими процессами, детали которых в настоящее время не выяснены. Но эти процессы необходимо включать в модели, хотя бы в виде параметров, если мы хотим использовать модели для количественного анализа в биотехнологическом и экологическом мониторинге.

Кинетический подход доказал свою эффективность в решении задач об оценке значений констант скоростей реакций и соотношения энергетических потоков на отдельных участках цепи электронного транспорта. Однако системы дифференциальных уравнений мало пригодны для описания пространственной гетерогенности и сложной геометрии взаимодействующих макромолекул и сложного интерьера фотосинтетической мембраны. Напомним, что в ходе первичных реакций фотосинтеза в отдельных компартиментах принимают участие сравнительно небольшие ансамбли (десятка-сотни) молекул, и применение кинетического подхода, основанного на представлениях статической физики, здесь не вполне правомерно.

Для моделирования взаимодействия ансамблей макромолекул сложной формы в гетерогенном интерьере мы развиваем подход «прямого» многочастичного моделирования, в ко-

тором процессы моделируются «прямо так, как мы их представляем».

Моделируемые молекулы перемещаются в соответствии с законами броуновской динамики, ориентируются друг относительно друга в электростатическом поле и образуют комплексы на трехмерной компьютерной сцене, сконструированной в соответствии с нашими знаниями о пространственной организации фотосинтетической мембранны. Адекватность модели проверяется соответствием кинетических характеристик наблюдаемых процессов экспериментальным данным.

Преимуществом прямого моделирования является возможность «прямого» учета формы и размеров молекул и элементов реакционного объема. Изменяя в модели форму и геометрические характеристики реакционного объема, число и расположение взаимодействующих молекул и другие характеристики, мы можем исследовать их влияние на скорость изучаемой реакции. Используя данные PDB, мы можем «прямо» вычислить распределение электрического потенциала вокруг каждой из взаимодействующих молекул и оценить роль электростатических взаимодействий в процессе докинга и формировании суперкомплекса, что является необходимым условием окислительно-восстановительной реакции. Такую оценку можно сделать и на кинетической модели, но только вводя некоторые дополнительные «эффективные» параметры, значение которых потом трудно однозначно интерпретировать на языке физических представлений. Прямое многочастичное моделирование позволяет понять, каким образом физические механизмы молекулярных взаимодействий (диффузия, электростатика и проч.) определяют общую динамику процессов в клетке.

В настоящее время с помощью многочастичных моделей мы моделируем процессы взаимодействия ФС I в мемbrane с донорным компонентом Рс в люмене и акцепторным компонентом ( $F_d$  или  $F_{ld}$ ) в строме. Изучение в рамках единой модели этих процессов позволит пролить свет на механизмы регуляции работы фотосинтетического реакционного центра со стороны его донорно-акцепторного окружения.

Другим направлением многочастичного моделирования является попытка включить в многочастичную модель процессы образования трансмембранных градиентов протонов. Мы также работаем над построением модели, в которой объединены подходы кинетического моделирования (описание процессов переноса электрона внутри фотосинтетических мультиферментных комплексов с помощью уравнений

для вероятностей состояний) и прямого многочастичного моделирования для описания переноса электрона подвижными переносчиками.

Фотоиндексированный электронный транспорт начинается там, где уже произошел докинг, в моделировании которого прямые модели продемонстрировали свои очевидные достоинства. И если для описания физики процессов внутри фотосинтетического реакционного центра необходимы подходы молекулярной динамики, то для описания кинетики ФЛ, наблюдавшейся на нативных объектах, при описании переноса электрона внутри комплексов, по-видимому, достаточно использовать кинетические модели.

В целом, использование методов кинетического и прямого многочастичного моделирования и их сочетания в исследовании процессов фотосинтеза представляется нам перспективным как для фундаментального изучения механизмов процессов в живой клетке, так и для практических целей диагностики состояния растительной клетки в биотехнологическом и экологическом мониторинге.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Г. Ю. Ризниченко, Успехи науки и техники, Сер. Биофизика 31 (Изд. ВИНИТИ, 1991).
- G. Y. Riznichenko, G. V. Lebedeva, O.V. Demin, et al., J. Biol. Phys. 25, 177 (1999).
- Г. Ю. Ризниченко, Г. В. Лебедева, О. В. Демин и др., Биофизика 45, 452 (2000).
- Г. Ю. Ризниченко и А. Б. Рубин, в кн.: Проблемы регуляции в биологических системах /Под ред. А. Б. Рубина (Изд. ИКИ-РХД, 2007), сс. 165-194.
- Т. Н. Воробьева, Г. Ю. Ризниченко, К. В. Шайтан и др., Studia biophysica 100, 65 (1984).
- Г. Ю. Ризниченко, Т. Н. Воробьева, Е. Н. Храброва и др., Биофизика 31 (1), 793 (1986).
- Е. Н. Храброва, Т. Н. Воробьева, Г. Ю. Ризниченко и др., Биофизика 34 (3), 429 (1989).
- G. Y. Riznichenko, T. N. Vorobjeva, and E. N. Chrabrova, Photosynthetica 24 (3), 37 (1990).
- И. Б. Коваленко, Д. М. Устинин, Н. Е. Грачев и др., Биофизика 48 (4), 656 (2003).
- G. Renger and A. Shulze, Photochem. Photobiol. 9, 79 (1985).
- Н. Г. Бухов, Х. Г. Дамиров, Е. Г. Джигладзе и др., Биол. науки 4, 28 (1986).
- E. Baake and J. P. Schloder, Bull Math Biol 54, 999 (1992).
- J. Lavergne and H-W. Trissl, Biophys. J. 68, 2474 (1995).
- Г. В. Лебедева, Н. Е. Беляева, Г. Ю. Ризниченко и др., Физ. химия, 74, 1897 (2000).
- V. P. Shinkarev, Photochem. Photobiol. 67, 683 (1998).

16. A. D. Stirbet and R. J. Strasser, *Archs des Sci.* **48**, 41 (1995).
17. A. D. Stirbet and R. J. Strasser, *Math. Comp. Simulations* **42**, 245 (1996).
18. A. D. Stirbet, Govindjee, B. J. Strasser and R. J. Strasser, *J. Theor. Biol.* **193**, 131 (1998).
19. R. J. Strasser and A. D. Stirbet, *Mathematics and Computers in Simulation* **48**, 3 (1998).
20. R. J. Strasser and A. D. Stirbet, *Mathematics and Computers in Simulation* **56**, 451 (2001).
21. R. J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, and A. Srivastava in *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis* /Ed. by G. Papageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht, 2004), Vol. 19, pp. 321—362.
22. H.-W. Trissl and J. Lavergne, *Austr. J. Plant Physiol.* **22**, 183 (1994).
23. H.-W. Trissl, Y. Gao and K. Wulf, *Biophys. J.* **64**, 974 (1993).
24. D. Lazar, *J. Theor. Biol.* **220**, 469 (2003).
25. X.-G. Zhu, Govindjee, N. R. Baker, et.al., *Planta* **223**, 114 (2005).
26. Н. Е. Беляева, В. З. Пащенко, Г. Ренгер и др., *Биофизика* **51** (6), 976 (2006).
27. Г. В. Лебедева, Н. Е. Беляева, О. В. Дёмин и др., *Биофизика* **47**, 1044 (2002).
28. Н. Е. Беляева, Дисс. канд. физ.-мат. наук (Биологический ф-т МГУ, М., 2004).
29. И. Б. Коваленко, А. М. Абатурова, П. А. Громов и др., *Математика. Компьютер. Образование* **12** (3), 955 (2005).
30. И. Б. Коваленко, А. М. Абатурова, Д. М. Устинин и др., *Биофизика* **52** (3), 402 (2007).
31. И. Б. Коваленко, А. М. Абатурова, П. А. Громов и др., *Биофизика* **53** (2), 261 (2008).
32. I. B. Kovalenko, A. M. Abaturova, P. A. Gromov et al., *Phys. Biol.* **3**, 121 (2006).
33. Н. Е. Беляева, В. З. Пащенко, Г. Ренгер и др., *Математика. Компьютер. Образование* **13**, 333 (2006).
34. М. Д. Камали, Г. В. Лебедева, О. В. Дёмин и др., *Биофизика* **49** (6), 1061 (2004).
35. S. Malkin, *Biochim. Biophys. Acta* **234**, 425 (1971).
36. Е. М. Сорокин, *Физиол. растений* **20**, 733 (1973).
37. А. Б. Рубин и В. П. Шинкарев, *Транспорт электронов в биологических системах* (Наука, М., 1984).
38. Г. Ш. Вашихадзе, Х. Г. Дамиров, И. Р. Васильев и др., *Биол. науки* **5**, 42 (1985).
39. Т. Н. Воробьева, Г. Ю. Ризниченко, А. Б. Рубин и др., *Молекуляр. биология* **20** (5), 1203 (1986).
40. С. К. Чаморовский, Е. Н. Храброва и Г. Ю. Ризниченко, *Биофизика* **35** (1), 16 (1990).
41. W. J. Vredenberg, *Biophys. J.* **79**, 26 (2000).
42. Н. Е. Беляева, Г. В. Лебедева, О. В. Дёмин и др., *Математика. Компьютер. Образование* **11**, 765 (2004).
43. Н. Е. Беляева, В. З. Пащенко, Г. Ренгер и др., *Математика. Компьютер. Образование* **13**, 333 (2006).
44. G. Hauska and M. Arnold, in *Probing Photosynthesis* /Ed. by M. Yunus, U. Pathre, and P. Mohanty (Taylor and Francis, London, 2000), pp. 109-126.
45. A. B. Hope, *Biochim. Biophys. Acta* **1456**, 5 (2000).
46. A.A. Bulychev and W. J. Vredenberg, *Bioelectrochemistry* **54**, 157 (2001).
47. H. Dau and K. Sauer, *Biochim. Biophys. Acta* **1102**, 91 (1992).
48. C. Zheng, M. E. Davis, and J. A. McCammon, *Chem. Phys. Lett.* **173**, 246 (1990).
49. K. Krab, H. S. Van Walraven, M. J. S. Schoolts, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **809**, 236 (1985).
50. I. A. Reynolds, E. A. Johnson, and Tanford, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 6869 (1985).
51. О. В. Демин, Х. В. Вестерхофф и Б. Н. Холоденко, *Биохимия* **63**, 755 (1998).
52. Н. Е. Беляева, Г. В. Лебедева и Г. Ю. Ризниченко, *Математика. Компьютер. Образование* **10**, 263 (2003).
53. D. G. Nicholls, *Eur. J. Biochem.* **50**, 305 (1974).
54. I. I. Potossin and G. Schonknecht, *J. Membr. Biol.* **152**, 223 (1996).
55. O. Van Kooten, J. F. H. Snel, and W. J. Vredenberg, *Photosynth. Res.* **9**, 211 (1986).
56. P. A. Albertsson, *Recent Res. Devel. Bioener.* **143** (2000).
57. P. A. Albertsson, *Trends in Plant Science* **6**, 349 (2001).
58. И. Б. Коваленко Д. М. Устинин М. В. Сердобольская и др., в сб. *Научные труды VIII Международной конференции «Нелинейный мир»*, (Астрахань, 2004), сс. 223-229.
59. А. Х. Воробьев, *Диффузионные задачи в химической кинетике* (Изд. МГУ, М., 2003).
60. R. Malkin and K. Niyogi, in: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* /Ed. by B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2000), pp. 413-429.
61. E. L. Gross, *Biophys.* **87**, 2043 (2004).
62. E. L. Gross and D. C. Pearson, *Biophys. J.* **85**, 2055 (2003).
63. E. L. Gross and I. Rosenberg, *Biophys. J.* **90**, 366 (2006).
64. E.J. Haddadian and E. L. Gross, *Biophys. J.* **88**, 2323 (2005).
65. E.J. Haddadian and E. L. Gross, *Biophys. J.* **91**, 2589 (2006).
66. D. C. Pearson and E. L. Gross, *Biophys. J.* **75**, 2698 (1998).
67. G. M. Ullmann, E-W Knapp and N. M. Kostic, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 42 (1997).
68. А. Н. Дьяконова, И. Б. Коваленко, А. М. Абатурова, и др., *Математика. Компьютер. Образование* **15** (3), 79 (2008).
69. А. М. Абатурова, И. Б. Коваленко, Г. Ю. Ризниченко и др., *Математика. Компьютер. Образование* **15** (3), 71 (2008).
70. И. Б. Коваленко, А. М. Абатурова, П. А. Громов и др., *Математика. Компьютер. Образование* **13** (3), 323 (2006).
71. В. А. Караваев и А. К. Кукушкин, *Биофизика* **38**, 958 (1993).
72. С. А. Кузнецова и А. К. Кукушкин, *Биофизика* **41** (6), 1247 (1996).
73. Т. Т. Нгуен, Т. А. Карелина и А. К. Кукушкин, *Биофизика* **52** (5), 861 (2007).

## **Mathematical and Computer Modeling of Primary Processes of Photosynthesis**

G.Yu. Riznichenko, N.E. Belyaeva, I.B. Kovalenko, and A.B. Rubin

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

The results of recent works on kinetic and direct multipartial computer modeling of processes in the photosynthetic membrane, performed at the chair of biophysics of the Biological faculty of the Moscow State University are reviewed. The models take the current experimental data on the heterogeneous structure and kinetic characteristics of the system into account. The generalized kinetic model describes the processes in multienzyme complexes of Photosystems 1 and 2 and the cytochrome complex, coupled transmembrane ionic currents, and the generation of electric and electrochemical potential. The identification of the parameters of the models allows one to estimate the rate constants for reactions that cannot be measured experimentally. The multicomponent models give a clear picture of the interaction of components of the electron transport chain in the lumen and the thylakoid stroma and simulate in an explicit form the Brown diffusion and electrostatic interactions of protein carriers. The combination of different methods of description (differential equations and formalism of Brown dynamics) allows one to model the processes in a complex three-dimensional interior of a vegetative cell that collectively provide a high efficiency of energy transformation in photosynthesis.

*Key words:* photosynthesis, primary processes, modeling