

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 577. 34

**ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНАЯ ФЕМТОСЕКУНДНАЯ КОНВЕРСИЯ
ЭНЕРГИИ В ХЛОРОСОМАХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ЗЕЛЕННЫХ
БАКТЕРИЙ *CHLOROFLEXUS AURANTIACUS***

**Андрей Георгиевич Яковлев, Александра Семеновна Таисова,
Зоя Григорьевна Фетисова**

НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский
государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Андрей Георгиевич Яковлев,
yakov@belozersky.msu.ru

Аннотация. В зеленых бактериях *Chloroflexus aurantiacus* процесс фотосинтеза начинается с поглощения света уникальными светособирающими комплексами – хлоросомами, которые состоят из $\sim 10^4$ молекул бактериохлорофилла (БХл) *c*, объединенных в сложные пространственные структуры. При поглощении синего света (~ 460 нм) полосой В хлоросом происходит сверхбыстрая конверсия энергии, в результате чего возбуждается красная полоса Q_y (~ 740 нм). Этот процесс исследован нами с помощью разностной (свет – темнота) спектроскопии поглощения с высоким временным разрешением (20 фс). Найдено, что характерное время конверсии составляет 35 фс. Показано, что конверсия энергии предшествует более медленным процессам экситонной релаксации в полосе Q_y (100–300 фс) и переносу энергии из хлоросомы в базовую пластинку и далее в реакционный центр (десятки пс). Обсуждаются физико-химические основы внутримолекулярной конверсии энергии в хлоросомах и значимость этого процесса для фотосинтеза.

Ключевые слова: фотосинтез, хлоросома, бактериохлорофилл, конверсия энергии, фемтосекундная спектроскопия

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2025-66-2-163-173

Список сокращений: БХл – бактериохлорофилл; ΔA – разность поглощения (свет – темнота); $\lambda_{\text{возб.}}$ – длина волны возбуждения; $\lambda_{\text{зонд.}}$ – длина волны зондирования.

Финансирование. Работа выполнена за счет бюджетных средств по теме «Фотобиофизика преобразования солнечной энергии в живых системах» (№ АААА-А17-117120540070-0).

Для цитирования: Яковлев А.Г., Таисова А.С., Фетисова З.Г. Внутримолекулярная фемтосекундная конверсия энергии в хлоросомах фотосинтезирующих зеленых бактерий *Chloroflexus aurantiacus* // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2025. Т. 66. № 2. С. 163–173.

ORIGINAL ARTICLE

INTRAMOLECULAR FEMTOSECOND CONVERSION OF ENERGY
IN THE CHLOROSOMES OF PHOTOSYNTHETIC GREEN BACTERIA
CHLOROFLEXUS AURANTIACUS

Andrei G. Yakovlev, Alexandra S. Taisova, Zoya G. Fetisova

Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Andrei G. Yakovlev, yakov@belozersky.msu.ru

Abstract. In the green bacteria *Chloroflexus aurantiacus*, the process of photosynthesis begins with the absorption of light by unique light-harvesting complexes, chlorosomes, which consist of $\sim 10^4$ bacteriochlorophyll (BChl) *c* molecules combined into complex spatial structures. Upon absorption of blue light (~ 460 nm) by the B band of chlorosomes, ultrafast energy conversion occurs, resulting in the excitation of the red Q_y band (~ 740 nm). We studied this process using difference (light-dark) absorption spectroscopy with a high time resolution (20 fs). We have found that the characteristic conversion time is 35 fs. We have shown that energy conversion precedes slower processes of exciton relaxation in the Q_y band (100–300 fs) and energy transfer from the chlorosome to the baseplate and further to the reaction center (tens of ps). The physicochemical foundations of intramolecular energy conversion in chlorosomes and the significance of this process for photosynthesis are discussed.

Keywords: photosynthesis, chlorosome, bacteriochlorophyll, energy conversion, femtosecond spectroscopy

Financial support. The work was carried out at the expense of the budgetary funds on the topic “Photobiophysics of solar energy conversion in living systems” (No. AAAA-A17-117120540070-0).

For citation: Yakovlev A.G., Taisova A.S., Fetisova Z.G. Intramolecular femtosecond conversion of energy in the chlorosomes of photosynthetic green bacteria *Chloroflexus aurantiacus* // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2025. T. 66. № 2. S. 163–173.

Фотосинтез в растениях, водорослях и бактериях – основа жизни на нашей планете. С его помощью образуются кислород и химические соединения, которые затем используются в качестве источника энергии в различных пищевых цепочках. В подавляющем большинстве фотосинтезирующих организмов процесс фотосинтеза начинается с поглощения света специальными пигментами – молекулами хлорофилла и бактериохлорофилла. Энергия возбужденных состояний этих молекул передается в реакционные центры, где происходит разделение зарядов. Энергия этих разделенных зарядов используется далее для синтеза устойчивых высокомолекулярных соединений. Изучение физико-химических механизмов природного фотосинтеза имеет как чисто фундаментальный аспект, так и четкое прикладное значение при разработке новых высокоэффективных преобразователей солнечной энергии.

Зеленые бактерии *Chloroflexus aurantiacus* являются характерным примером простейших фотосинтезирующих организмов. Эти бактерии обитают в водной среде в условиях недостатка солнечного света. Для эффективного улавливания слабых световых потоков в клетках этих бактерий имеются уникальные структуры – хлоросомы, каждая из которых содержит $\sim 10^4$ молекул бактериохлорофилла (БХл) *c* в качестве основного пигмента (рис. 1). В зеленых бактериях других видов в качестве основного пигмента могут присутствовать молекулы БХл *d* и БХл *e*. Хлоросомы имеют форму эллипсоидов с характерными размерами в несколько десятков нанометров и прикрепляются к внутренней стороне клеточной мембраны с помощью базовой пластинки. Основу структуры всех молекул БХл и Хл составляет плоское тетрапиррольное кольцо, в центре которого находится атом магния, лигандирующий 4 атома азота (рис. 1). Много-

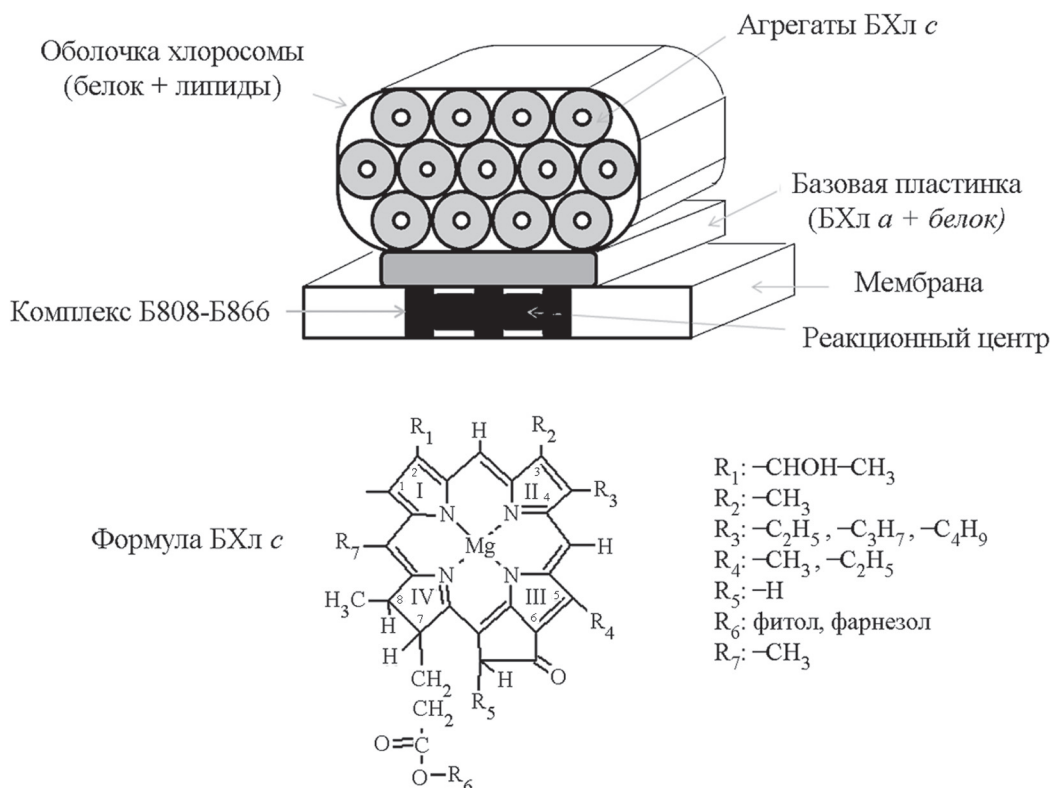


Рис. 1. Упрощенная структурная схема хлоросомы зеленых бактерий *Chloroflexus aurantiacus* (вверху) и химическая формула бактериохлорофилла *c* – основного пигмента этой хлоросомы (внизу)

численные данные микроскопии, спектроскопии и теоретического моделирования показали, что хлоросомы имеют сложную пространственную структуру [1]. Находясь на близком расстоянии друг от друга (3–4 Å между атомами магния) в хлоросоме, соседние молекулы БХл образуют дополнительные координационные связи [2]. Например, такая связь образуется между кетогруппой цикlopentanового кольца одной молекулы и центральным атомом магния соседней молекулы. Кроме того, соседние молекулы БХл могут взаимодействовать за счет объемных сил Ван дер Ваальса. В результате самоагрегации БХл в хлоросомах могут образовываться различные структуры в виде трубок, изогнутых плоскостей, трехмерных спиралей, полуцилиндров, а также различные переходные комбинации этих структур [3–8]. Подчеркнем, что самоагрегация БХл является отличительной особенностью хлоросом и служит веским основанием рассматривать эти природные структуры в качестве прообраза при создании похожих искусственных устройств. Отметим, что хлоросома и базовая пластинка практически неотделимы друг от друга, несмотря на значительные

различия в их пространственной организации [1], поэтому в экспериментах образцы хлоросом почти всегда содержат обе эти структуры.

Основу всех возможных структур хлоросом составляют квазилинейные цепи молекул БХл разной длины, причем эти молекулы находятся в сильном экситонном взаимодействии с энергией в несколько сот см^{-1} [9]. Это обстоятельство обуславливает спектральные свойства хлоросом. Типичный спектр поглощения хлоросом содержит две широкие полосы [10]. Самая интенсивная полоса находится в красной области спектра (700–770 нм) и принадлежит переходу Q_y БХл. В синей области (400–500 нм) находится полоса В (другое название – полоса Core), которая представляет собой сложный конгломерат полос V_x и V_y . Согласно теоретическим расчетам [8, 9, 11, 12], каждая из полос образована большим числом экситонных переходов. Соседние по энергии переходы перекрываются, что приводит к гладкой форме полос. Отметим, что каждый экситонный переход имеет, в свою очередь, колебательную подструктуру, что еще более сглаживает контур полос В и Q_y . Наличие двух спектральных полос расширяет возмож-

ности зеленых бактерий улавливать солнечный свет. Как известно, показатель поглощения воды в красной области спектра больше такового для синей области более чем в 10 раз [13]. Это означает, что уже на глубине в несколько метров в спектре солнечного света преобладает синяя часть. Зеленые бактерии, обитающие на значительной глубине, используют в основном полосу В своих хлоросом для поглощения света. Зеленые бактерии, обитающие на мелководье, могут использовать для этого обе полосы.

Хорошо известно, что селективное световое возбуждение полосы В мономерных молекул Хл и БХл в растворе приводит к очень быстрой релаксации энергии, в результате чего возбуждаются полосы Q_x и Q_y с меньшей энергией [14–18]. Характерное время этой внутримолекулярной конверсии энергии находится в диапазоне 100–300 фс в зависимости от растворителя. Например, для Хл а константа времени релаксации $B \rightarrow Q_y$ составляет 136–270 фс, тогда как для релаксации $Q_x \rightarrow Q_y$ эта константа равна 90–236 фс. Теоретическое моделирование показало, что схема последовательной конверсии $B \rightarrow Q_x \rightarrow Q_y$ ближе к эксперименту, чем схема двух параллельных процессов $B \rightarrow Q_x$ и $B \rightarrow Q_y$. Отметим, что несмотря на значительную разницу в энергиях полос В, Q_x и Q_y , возможно их квантовое перемешивание, в результате которого происходит дополнительное взаимное изменение энергий, не связанное с релаксацией.

В хлоросомах зеленых бактерий процесс конверсии $B \rightarrow Q_y$ происходит за время <100 фс с эффективностью, близкой к 100% [19–21]. Такие же данные имеются для олигомеров БХл, полученных искусственным путем [22]. Оказалось, что для более точного определения характерного времени конверсии $B \rightarrow Q_y$ необходимы световые импульсы длительностью <50 фс.

В настоящей работе мы исследовали процесс конверсии энергии $B \rightarrow Q_y$ в хлоросомах зеленой бактерии *S. aurantiacus* с помощью дифференциальной спектроскопии поглощения. Для селективного возбуждения полосы В использовали лазерные импульсы длительностью 20 фс. Анализ кинетики ΔA (свет минус темнота) показал, что константа времени конверсии энергии $B \rightarrow Q_y$ близка к 35 фс. Особенности кинетики ΔA полосы Q_y показали наличие мультиэкспоненциальной экситонной релаксации в этой полосе, происходящей в интервале времени 100–300 фс после возбуждения. Теоретическое моделирование показало, что последо-

вательная схема $B \rightarrow Q_y \rightarrow \text{БХл}$ а хорошо объясняет экспериментальные данные.

Экспериментальная часть

Приготовление образцов хлоросом. Культуры зеленой бактерии *S. aurantiacus* (штамм Ok-70-fl) выращивали в анаэробных условиях при 55 °С на стандартной среде [23] при постоянном перемешивании. Выделение хлоросом из клеток проводили, как описано ранее [24]. Свежие клетки осаждали из культуральной среды центрифугированием при 10 000 g, в течение 20 мин, двукратно промывали 10 mM Трис-НCl буфером (pH 8,0) и ресуспендировали 20 мл 50 mM Трис-НCl, содержащим 2 M тиоцианата натрия и 10 mM аскорбата натрия (ТТА-буфер). Клетки гомогенизировали, добавляли кристаллическую ДНКазу (Sigma, ФРГ) до концентрации 50 мкг/мл и 100 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ до 2 mM. Суспензию инкубировали 15 мин в темноте при 4 °С. Затем клетки разрушали, трехкратно пропуская через пресс Френча при 20 000 psi. После добавления этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА; pH 7,0) до конечной концентрации 2 mM, суспензию разрушенных клеток инкубировали 30 мин при слабом перемешивании в темноте при 4 °С. Неразрушенные клетки и большие клеточные обломки отделяли центрифугированием при 20 000 g в течение 25 мин. Полученный супернатант доводили до 24 мл ТТА-буфером и добавляли Triton-X100 до конечной концентрации 0,05% (m/v). Непрерывный градиент сахарозы (от 55 до 20% m/v) в ТТА-буфере готовили непосредственно в центрифужных стаканчиках. На каждый градиент сахарозы наносили по 4 мл супернатанта. После центрифугирования в течение 20 ч при 135 000 g (26 000 об/мин) при 4 °С фракцию хлоросом отбирали в области 28–30% градиента сахарозы.

Анализ спектров поглощения полученных фракций проводили на спектрофотометре Hitachi-557 (Hitachi, Япония). Отбор хлоросомных фракций осуществляли по наличию поглощения в области 750 нм (поглощение Бхл с хлоросом) и отсутствию поглощения в области 800–900 нм (область поглощения светособирающей антенны мембраны). Для дальнейшей очистки полученные хлоросомные фракции объединяли и наносили на непрерывный градиент сахарозы (от 45 до 15% m/v) в ТТА-буфере по 1,5 мл. Фракции хлоросом отбирали после центрифугирования в течение 20 ч при 135 000 g (26 000 об/мин) при 4 °С.

Спектроскопия. Стационарный спектр поглощения хлоросом измеряли с помощью спектрофотометра Hitachi-557 (Hitachi, Япония). Фемтосекундные дифференциальные (свет – темнота) кинетики поглощения (ΔA) измеряли с помощью лазерного спектрометра. Для получения фемтосекундных световых импульсов использовали твердотельный титан-сапфировый лазер, работающий в режиме синхронизации мод (Spectra Physics, США). Лазерные импульсы длительностью 20 фс усиливали с помощью многопроходного титан-сапфирового усилителя до энергии 0,3 мДж («Авеста», Россия). Усиленные импульсы фокусировали в тонкую струю этиленгликоля для получения фемтосекундного континуума с гладким спектром, который охватывал весь видимый диапазон длин волн. Для выделения спектральных диапазонов возбуждения и зондирования применяли интерференционные фильтры. Для возбуждения образцов использовали основную часть энергии континуума, а для зондирования – его малую часть. Зондирующий свет регистрировали с помощью многоканального анализатора оптических спектров (Oriel, Франция). При необходимости возбуждающий и зондирующий свет дополнительно ослабляли нейтральными светофильтрами. Возбуждение образцов проводили на длине волны 462 нм, а зондирование – на длинах волн 462, 745 и 805 нм. Интенсивность возбуждения соответствовала линейному режиму измерений и не превышала $\sim 10^{12}$ фотонов/см² за один импульс. Угол между плоскостями поляризаций лучей возбуждения и зондирования составлял 54,7 град. (магический угол), что позволяло проводить измерения, не зависящие от поляризации света. Коэффициент поглощения образцов хлоросом составлял 0,5 на длине волны 740 нм в кювете толщиной 1 мм. Интервал времени между импульсами возбуждения и зондирования варьировали с помощью оптической линии задержки с шагом 10 фс. Для уменьшения уровня шумов проводили усреднение нескольких тысяч измерений при каждом значении задержки. Погрешность измерения кинетик ΔA составляла 0,4%. Рабочая частота спектрометра была 40 Гц. Измерения кинетик проводили при комнатной температуре. Величины ΔA определяли как разность значений поглощения образца при наличии и отсутствии возбуждения:

$$\Delta A_\lambda = \log(I_0/I_1)_\lambda - \log(I_0/I_2)_\lambda, \quad (1)$$

где I_0 – энергия зондирующего света на входе в образец, I_1 и I_2 – энергия прошедшего через

образец зондирующего света при наличии и отсутствии возбуждения, соответственно. Аппроксимацию экспериментальных кинетик ΔA проводили суммой экспоненциальных функций с учетом функции возбуждения J :

$$\Delta A(t) = J \times (B_0 + \sum (B_i \exp(-t/\tau_i))), \quad (2)$$

где символ $\times$ означает свертку, B_0 – амплитуда постоянной компоненты, B_i – амплитуда компоненты с характерным временем τ_i . Наличие компоненты B_0 обусловлено медленными процессами с характерным временем, существенно превышающим временное окно измерений. В качестве функции возбуждения J использовали кросс-корреляционную функцию импульсов возбуждения и зондирования, которую измеряли с помощью коррелятора на основе дигидрофосфата калия [25].

Результаты и их обсуждение

Стационарный спектр поглощения хлоросом *C. aurantiacus* состоит из двух интенсивных полос (рис. 2). Красная полоса Q_y БХл *c* имеет максимум при ~ 740 нм, а широкая синяя полоса В БХл *c* (полоса Core) находится в области 400–500 нм, имеет максимум при ~ 460 нм и два плеча при ~ 420 и ~ 500 нм. Каждая из этих двух полос состоит из большого числа экситонных переходов, образующих сплошной спектр в результате их сильного перекрытия. Отметим, что полоса В содержит переходы V_x и V_y [17, 26]. Кроме того, в области 380–540 нм имеется вклад поглощения молекул каротиноидов, находящихся в небольшом количестве в хлоросомах и выполняющих важную функцию фотозащиты [21]. Этот вклад максимален в области 500 нм. Очень слабая полоса при ~ 800 нм является полосой Q_y БХл *a* базовой пластинки, с помощью которой хлоросома крепится к мембране. Длина волны импульсов возбуждения хлоросом (462 нм) была близка к максимуму поглощения полосы В БХл *c*, а длины волн зондирующих импульсов (462, 745 и 805 нм) были близки к максимумам поглощения полос БХл *c* (В и Q_y) и БХл *a* (Q_y). Отметим, что полосы Q_x БХл *c* и Q_x БХл *a* настолько слабы, что практически неразличимы в спектре хлоросом.

Фемтосекундные кинетики ΔA , измеренные на длинах волн 462, 745 и 805 нм при возбуждении на длине волны 462 нм, показаны на рис. 3. Импульсное возбуждение хлоросом приводит к выцветанию основного состояния S_0 БХл *c* (схема уровней энергии показана на врезке рис. 2), что соответствует отрицательному знаку ΔA .

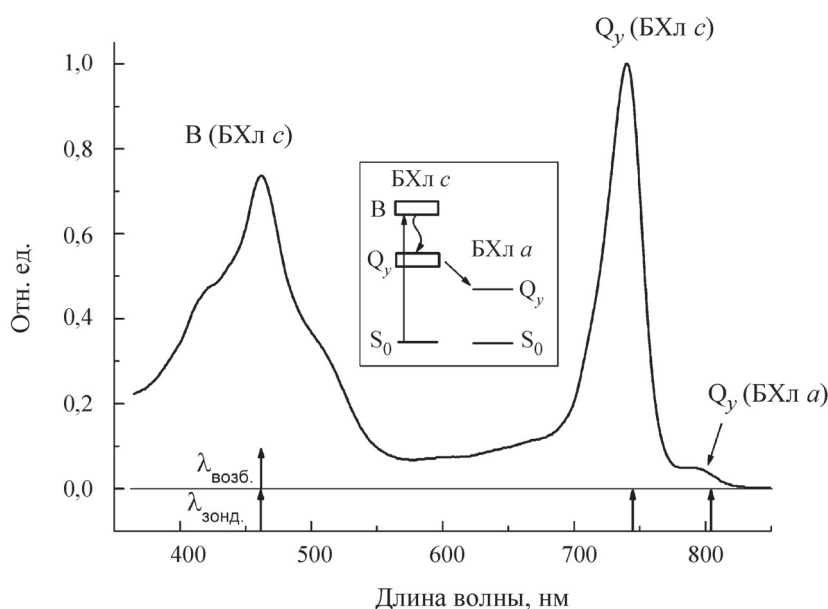


Рис. 2. Спектр поглощения хлоросом зеленых бактерий *Chloroflexus aurantiacus*. Вертикальными стрелками показаны длины волн возбуждения и зондирования при измерении кинетик ΔA (см. рис. 3). На врезке – схема уровней энергии бактериохлорофиллов *c* и *a*, составляющих пигментную основу хлоросомы и базовой пластинки соответственно. Вертикальной стрелкой показано возбуждение полосы В БХЛ *c*. Волнистой стрелкой показана конверсия энергии $V \rightarrow Q_y$ в БХЛ *c*, наклонной стрелкой показан перенос энергии БХЛ *c* $\rightarrow$ БХЛ *a*. Медленная релаксация $Q_y \rightarrow S_0$ в БХЛ *c* и БХЛ *a* не рассматривается

Поскольку основное состояние S_0 является общим для переходов $S_0 \rightarrow V$ и $S_0 \rightarrow Q_y$ в БХЛ *c*, его выцветание регистрируется на обеих длинах волн 462 и 745 нм. Это выцветание практически повторяет временной ход возбуждения, т.е. имеет длительность ~ 20 фс. Кроме того, зондирование возбужденных хлоросом на длинах волн 462 и 745 нм приводит к вынужденному излучению $V \rightarrow S_0$ и $Q_y \rightarrow S_0$ в БХЛ *c* соответственно, что также соответствует отрицательному знаку ΔA . Поскольку зондирующий свет намного слабее возбуждающего света, это вынужденное излучение практически не влияет на заселенность состояний V и Q_y . Строго говоря, возбужденные состояния БХЛ *c* имеют собственное поглощение, что дает небольшой положительный вклад в спектр $\Delta A(\lambda)$, который наиболее заметен в области 720 нм [27]. Однако в других спектральных областях этим вкладом можно пренебречь.

Остановимся подробнее на кинетике ΔA , измеренной при 462 нм, т.е. на длине волны возбуждения (рис. 3, *a*). Начальный спад этой кинетики имеет длительность порядка длительности импульсов возбуждения и целиком обусловлен выцветанием основного состояния S_0 БХЛ *c* и вынужденным излучением $V \rightarrow S_0$. Сразу после окончания воз-

буждения начинается быстрый рост величины ΔA . Этот рост целиком обусловлен уменьшением заселенности возбужденного состояния V , поскольку восстановление заселенности основного состояния S_0 БХЛ *c* хлоросом за счет спонтанных переходов происходит намного медленнее [28]. Разложение кинетики ΔA , измеренной при 462 нм, на экспоненциальные компоненты с учетом функции возбуждения в соответствии с формулой (2) показало, что компонента роста величины ΔA с константой времени 35 фс дает наибольший относительный вклад $55 \pm 5\%$ в эту кинетику. Кроме того, обнаружена вторая, более медленная компонента роста ΔA с характерным временем 80 фс и вкладом $20 \pm 5\%$. Остальные 25% приходятся на условно постоянную компоненту с характерным временем, которое намного больше временного диапазона измерений кинетики ΔA в нашей работе. Эта компонента отражает выцветание поглощения каротиноидов (в основном, β - и γ -каротин), которое происходит в диапазоне 380–540 нм при возбуждении на длине волны 462 нм. В хлоросомах *C. aurantiacus* полоса поглощения каротиноидов сильно перекрывается с полосой В БХЛ *c*, а ее относительный вклад составляет 10–20% [21]. Хорошо известно, что световое возбуждение каротиноидов приводит

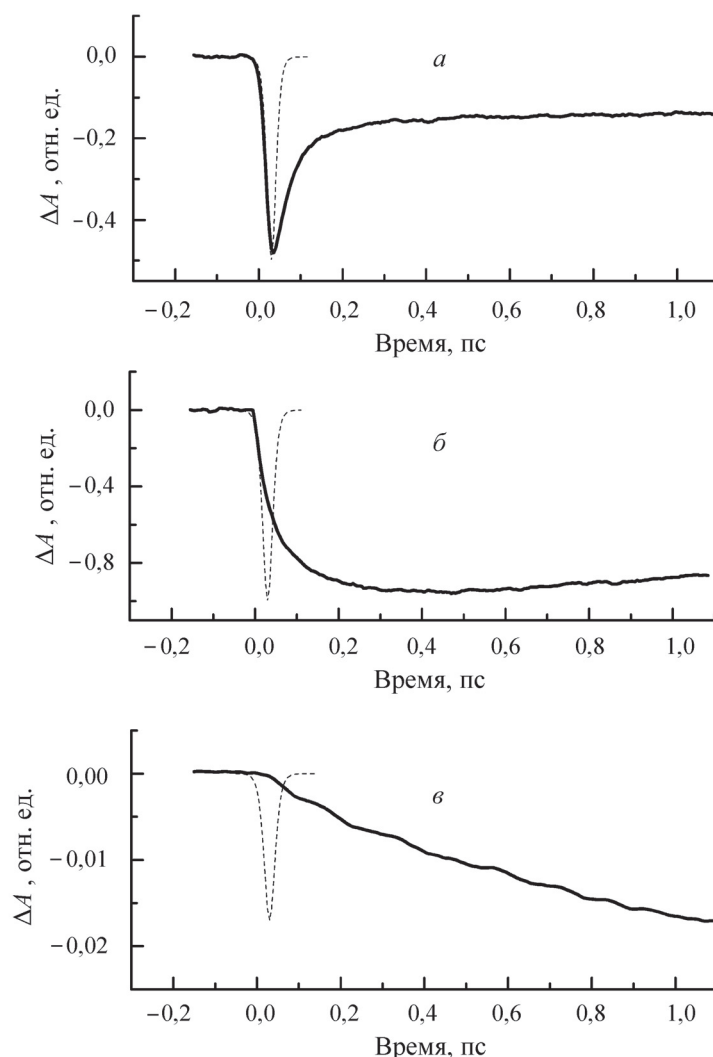


Рис. 3. Фемтосекундные кинетики ΔA (свет – темнота), измеренные в хлоросомах зеленых бактерий *Chloroflexus aurantiacus* при возбуждении на длине волны 462 нм и зондировании на длинах волн, нм: а – 462, б – 745, в – 805. Пунктиром показаны аппаратные функции кросс-корреляции импульсов возбуждения и зондирования

к заселению состояния S_2 , которое очень быстро релаксирует в состояние S_1 . В свою очередь, релаксация S_1 в основное состояние S_0 происходит значительно медленнее в пикосекундном диапазоне, в течение 1 пс после возбуждения исходная заселенность S_0 каротиноидов уменьшается, что приводит к примерно постоянной отрицательной компоненте ΔA на рис. 3, а.

Перейдем к кинетике ΔA , измеренной при 745 нм, т.е. в центре полосы Q_y БХЛ с (рис. 3, б). Эта кинетика демонстрирует замедленный спад величины ΔA , который плавно переходит в еще более медленный рост спустя ~400 фс после окончания импульса возбуждения. Разложение этой кинетики на экспоненциальные составляющие показало наличие следующих пяти компонент (в

скобках указаны их относительные вклады): 30 фс (спад $50 \pm 5\%$), 130 фс (спад $23 \pm 3\%$), 270 фс (спад $27 \pm 3\%$), 1,4 пс (рост $45 \pm 5\%$), 13 пс (рост $55 \pm 5\%$). Самая быстрая компонента спада ΔA (30 фс) почти совпадает по длительности с основной компонентой роста в кинетике ΔA , измеренной при 462 нм, т.е. является ее зеркальным отражением. Обе эти компоненты относятся к одному и тому же процессу конверсии энергии возбуждения $B \rightarrow Q_y$ в агрегатах БХЛ с. Этот процесс приводит к уменьшению вынужденного излучения из состояния В и одновременному увеличению этого излучения из состояния Q_y в БХЛ с, что и регистрируется в кинетиках ΔA . Более медленные компоненты спада ΔA (130 и 270 фс) отражают процессы экситонной релаксации в полосе Q_y БХЛ с [29]. Известно, что

в хлоросомах *C. aurantiacus* экситонный переход с минимальной энергией в полосе Q_y БХЛ *c* имеет длину волны ~ 752 нм [30]. С другой стороны, при комнатной температуре наибольший вклад в поглощение и вынужденное излучение имеет переход с длиной волны ~ 742 нм [12]. При возбуждении экситонных переходов с большей энергией (длина волны меньше 752 нм) происходит электронная релаксация, в результате которой часть энергии возбуждения передается окружению, а оставшаяся часть распределяется среди переходов с более низкой энергией в соответствии с формулой Больцмана. В экситонной релаксации принимает участие большое число экситонных переходов с разной энергией, что и приводит к наличию нескольких компонент спада в кинетике ΔA . Компоненты роста ΔA (1,4 и 13 пс) отвечают переносу энергии Q_y БХЛ *c* $\rightarrow$ Q_y БХЛ *a* [10, 11]. В этом переносе участвуют агрегаты БХЛ *c* с разной пространственной структурой, находящиеся на разном расстоянии от молекул БХЛ *a* базовой пластинки, что может приводить к двум и более компонентам в соответствующих кинетиках.

Кинетика ΔA , измеренная на длине волны 805 нм, отражает динамику состояния Q_y БХЛ *a* базовой пластинки (рис. 3, *в*). Эта кинетика имеет две медленные компоненты спада величины ΔA с характерными константами времени 2 пс ($40 \pm 5\%$) и 16 пс ($60 \pm 5\%$). Этот спад обусловлен ростом заселенности состояния Q_y БХЛ *a* и увеличением вынужденного излучения из этого состояния. Более быстрые фемтосекундные компоненты отсутствуют. Указанные компоненты можно считать зеркальным отражением динамики ΔA при 745 нм, поскольку они имеют противоположный знак и близки по времени. Таким образом, кинетика ΔA при 805 нм показывает процесс возбуждения основного пигмента базовой пластинки в результате переноса энергии Q_y БХЛ *c* $\rightarrow$ Q_y БХЛ *a*.

В итоге можно представить упрощенный сценарий первичной трансформации энергии в хлоросомах *C. aurantiacus* в виде последовательной схемы:



Первая стадия обозначает внутримолекулярную конверсию энергии в агрегатах БХЛ *c*, которая имеет основную константу времени 35 фс. Вторая стадия – пространственный перенос энергии от БХЛ *c* к БХЛ *a* с характерным временем 13–16 пс. Наличие минорных компонент в кинетиках обеих стадий можно кратко объяснить следующим образом. Прежде всего, эти компоненты могут иметь отношение к аналогичным процессам конверсии

и переноса энергии в минорных фракциях хлоросом с качественно иной пространственной организацией агрегатов БХЛ *c*. С другой стороны, компонента с константой 80 фс в кинетике полосы В БХЛ *c* может отражать перенос энергии от возбужденного состояния S_2 каротиноидов к БХЛ *c* [31]. Отсутствие зеркальной компоненты с константой 80 фс в кинетике ΔA полосы Q_y БХЛ *c* может указывать на то, что в этом случае в получении энергии участвуют экситонные переходы полосы Q_y БХЛ *c*, которые поглощают и излучают в диапазоне меньших длин волн. На участие большого числа экситонных переходов в процессах конверсии и переноса энергии указывают компоненты с константами 130 и 270 фс в кинетике ΔA при 745 нм. Минорные компоненты с константами 1,4–2 пс в кинетиках ΔA при 745 и 805 нм можно объяснить миграцией экситонов внутри хлоросом с различной структурой агрегированных пигментов [32].

Для упрощенного теоретического моделирования последовательной схемы



мы использовали следующую систему кинетических уравнений:

$$\begin{aligned} dn_1/dt &= J(t) - k_1 n_1, \\ dn_2/dt &= k_1 n_1 - k_2 n_2, \\ dn_3/dt &= k_2 n_2. \end{aligned} \quad (3)$$

Здесь n_1 , n_2 и n_3 – заселенности возбужденных состояний В БХЛ *c*, Q_y БХЛ *c* и Q_y БХЛ *a* соответственно; $k_1 = 1/(30 \text{ фс})$; $k_2 = 1/(13 \text{ пс})$; функция возбуждения $J(t) \sim \text{sech}^2(1,76t/(20 \text{ фс}))$ [25]. В качестве скоростей k_1 и k_2 взяты величины, обратные основным константам времени кинетик ΔA . Результат моделирования представлен на рис. 4. Рост заселенности состояния В БХЛ *c*, обусловленный световым возбуждением, сменяется быстрым спадом в результате конверсии В БХЛ *c* $\rightarrow$ Q_y БХЛ *c*. Эта конверсия, в свою очередь, приводит к быстрому росту заселенности Q_y БХЛ *c*. Более медленный (пикосекундный) процесс переноса энергии возбуждения Q_y БХЛ *c* $\rightarrow$ Q_y БХЛ *a* приводит к постепенному уменьшению заселенности Q_y БХЛ *c* и одновременному увеличению заселенности Q_y БХЛ *a*. Вследствие значительной разницы между величинами k_1 и k_2 две стадии последовательной схемы В БХЛ *c* $\rightarrow$ Q_y БХЛ *c* $\rightarrow$ Q_y БХЛ *a* хорошо разделены во времени.

Перейдем к обсуждению физических основ внутримолекулярной конверсии энергии. В настоящее время теория этого процесса применительно к хлоросомам не завершена. Основная сложность

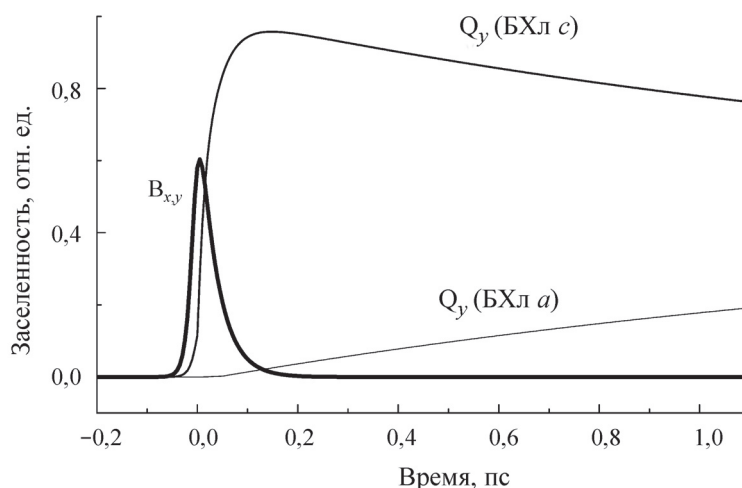


Рис. 4. Теоретические кинетики заселенностей состояний В, Q_y БХл с и Q_y БХл а, рассчитанные для последовательной схемы $V \rightarrow Q_y \text{ БХл с} \rightarrow Q_y \text{ БХл а}$ при импульсном возбуждении В

создания такой теории связана с отсутствием данных по координатам всех атомов, входящих в состав хлоросом. Эта информация может быть получена только с помощью рентгеноструктурного анализа кристаллов хлоросом, однако изготовить такие кристаллы пока не удается. Другая сложность связана с необходимостью учитывать экситонные эффекты в хлоросомах. Миграция экситонов между соседними агрегатами БХл происходит за время ~ 100 фс, сравнимое с характерным временем конверсии $V \rightarrow Q_y$ [32]. В этой связи приходится обратиться к теоретическому анализу конверсии энергии в изолированных молекулах, находящихся в инертной среде или вакууме. Классическая теория электронной релаксации в больших органических молекулах предсказывает примерно экспоненциальную зависимость скорости этого процесса K от разницы энергий двух состояний ΔE в случае слабой электронно-колебательной связи [33]:

$$K \approx \exp(-\gamma \Delta E / \hbar \omega),$$

где $\hbar \omega \approx 3000 \text{ см}^{-1}$ – энергия колебаний атомов водорода в фрагментах типа С–Н, О–Н и N–Н, $\gamma \approx 1$ – слабо зависящий от ΔE параметр. Для молекул БХл с разность энергий состояний В и Q_y $\Delta E \approx 7550 \text{ см}^{-1}$ [34], что приводит к относительно невысокой скорости K в расчетах. Для объяснения очень высоких значений скорости конверсии энергии был предложен механизм, основанный на коническом пересечении потенциальных поверхностей двух электронных

состояний [15, 16]. Согласно этому механизму, в переносе энергии с одной поверхности на другую участвуют уровни специальной колебательной моды с одинаковой энергией. В этом случае $\Delta E = 0$, а скорость K достигает максимального значения. В больших молекулах таких специальных мод может быть достаточно много, что еще больше ускоряет конверсию энергии. Отметим, что в любом случае при конверсии энергии $V \rightarrow Q_y$ в БХл с происходит значительный разогрев окружения за счет поглощения большой разницы энергий $\Delta E \approx 7550 \text{ см}^{-1}$. Расчеты молекулярной динамики изолированных молекул Хл а и Хл б в неадиабатическом приближении проливают свет на пространственную динамику возбужденных состояний В и Q_y [17]. В состоянии В возбуждение локализуется на центральном атоме Mg, окружающих его четырех атомах N и атомах С, находящихся с внешней стороны (от Mg) пиррольных колец (рис. 1). С другой стороны, в состоянии Q_y возбуждение локализуется в основном на внутренней стороне (ближе к Mg) пиррольных колец и атомах Н, соединяющих эти кольца. Таким образом, при конверсии $V \rightarrow Q_y$ электронное облако возбуждения уходит с атомов Mg и N и смещается по пиррольным кольцам ближе к центру молекулы Хл. Эти пространственные смещения электронного облака происходят на расстояниях порядка длины химических связей, т.е. около $1 \text{ \AA}$, что и объясняет их экстремально высокую скорость. Во всех этих смещениях активно участвуют атомы Н в фрагментах типа С–Н, О–Н и N–Н, что приводит к возбуждению колебаний с

характерной частотой $\sim 3000 \text{ см}^{-1}$ в соответствии с классической теорией конверсии энергии в макромолекулах [33].

Состояние Q_x может принимать участие в конверсии энергии по схеме



В спектрах поглощения молекул Хл и БХл большинства видов слабая полоса Q_x находится примерно при 620 нм [34]. В этой же области могут находиться колебательные переходы полосы Q_y , что сильно затрудняет исследование динамики полосы Q_x . Для молекул БХл *c* такие исследования, вероятно, не проводились, однако они проводились для молекул Хл *a*, которые очень близки по строению и составу к БХл *c*. Оказалось, что конверсия $B \rightarrow Q_x$ в случае Хл *a* происходит быстрее в 1,2–1,6 раза, чем конверсия $Q_x \rightarrow Q_y$ [15], несмотря на то, что разница энергий состояний B и Q_x заметно больше, чем аналогичная разница для состояний Q_x и Q_y . В этих работах прямые измерения скорости конверсии $B \rightarrow Q_x$ не проводились, а только вычислялись по схеме $B \rightarrow Q_x \rightarrow Q_y$ на основе измеренных скоростей $Q_x \rightarrow Q_y$ и $B \rightarrow Q_y$. Например, в Хл *a*, растворенном в этиловом эфире, характерное время конверсий $Q_x \rightarrow Q_y$ и $B \rightarrow Q_y$ составило 100 и 146 фс соответственно, что дает ~ 46 фс для искомой константы времени конверсии $B \rightarrow Q_x$. Найденную разницу в скорости конверсий можно объяснить разницей в матричных элементах перекрытия волновых функций состояний B , Q_x и Q_y [33]. Подчеркнем, что в хлоросомах *C. aurantiacus* получить прямое доказательство участия состояния Q_x в конверсии энергии пока не удастся в силу того, что очень слабая полоса Q_x практически неразличима в спектре хлоросом

даже при криогенной температуре. По аналогии с данными для молекул Хл *a* можно только предположить, что характерное время конверсии $B \rightarrow Q_x$ меньше в 1,2–1,6 раза, чем найденное нами время конверсии $B \rightarrow Q_y$, т.е. составляет величину 20–25 фс. Оба этих значения в несколько раз меньше таковых для изолированных молекул Хл *a*, что может быть связано с экситонными эффектами при агрегации БХл *c* в хлоросомах.

Отметим, что сверхбыстрые релаксационные процессы присущи многим органическим молекулам, близким по строению к молекулам Хл и БХл. Большой интерес вызывают различные металлопорфирины, играющие важную роль в качестве биологических реакционных центров [35, 36]. Например, в тетрафенилпорфирине внутренняя конверсия $B \rightarrow Q_y$ и следующая за ней $Q_y \rightarrow Q_x$ происходят за время < 100 фс, причем внутримолекулярная колебательная релаксация имеет характерное время всего 100–200 фс.

Выводы

С помощью дифференциальной спектроскопии сверхвысокого временного разрешения исследована конверсия энергии возбуждения $B \rightarrow Q_y$ в агрегатах БХл *c* хлоросом зеленых фотосинтезирующих бактерий *C. aurantiacus*. Определена основная константа времени этого процесса – 35 фс. Показано, что конверсия $B \rightarrow Q_y$ предшествует более медленным процессам экситонной релаксации и переносу энергии БХл *c* $\rightarrow$ БХл *a*. Выдвинуто предположение, что минорная компонента с константой 80 фс, обнаруженная в кинетике ΔA на длине волны 462 нм, может быть связана как с конверсией $B \rightarrow Q_y$ в агрегатах БХл *c*, так и с переносом энергии от каротиноидов к БХл *c*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Frigaard N.-U., Bryant D. Chlorosomes: antenna organelles in green photosynthetic bacteria // Complex Intracellular Structures in Prokaryotes. Microbiology Monographs / Ed. Shively J.M., Berlin, 2006. P. 79.
2. Krasnovsky A., Bystrova, M. // BioSystems 1980. Vol. 12. N. 3. P. 181.
3. Staehelin L., Golecki J., Fuller R., Drews G. // Arch. Microbiol. 1978. Vol. 119. N. 3. P. 269.
4. Psencik J., Ikonen T.P., Laurinmaki P., Merckel M.C., Butcher S.J., Serimaa R.E., Tuma R. // Biophys. J. 2004. Vol. 87. P. 1165.
5. Günther L., Jendry M., Bloemsma E., Tank M., Oostergetel G., Bryant D., Knoester J., Köhler J. // J. Phys. Chem. B. 2016. Vol. 120. N. 24. P. 5367.
6. Sawaya N., Huh J., Fujita T., Saikin S., Aspuru-Guzik A. // Nano Lett. 2015. Vol. 15. P. 1722.
7. Fujita T., Huh J., Saikin S., Brookes J., Aspuru-Guzik, A. // Photosynth. Res. 2014. Vol. 120. P. 273.
8. Яковлев А.Г., Таисова А.С., Фетисова З.Г. // Усп. совр. биол. 2020. Т. 140. С. 166.
9. Prokhorenko V.I., Steensgaard D.B., Holzwarth A.R. // Biophys. J. 2000. Vol. 79. P. 2105.
10. Yakovlev A., Taisova A., Fetisova Z. // FEBS Lett. 2002. Vol. 512. P. 129.
11. Fetisova Z., Freiberg A., Muring K., Novoderezhkin V., Taisova A., Timpmann K. // Biophys. J. 1996. Vol. 71. P. 995.
12. Muring K., Novoderezhkin V., Taisova A., Fetisova Z. // FEBS Lett. 1999. Vol. 456. P. 239.
13. Иванов А.П. Физические основы гидрооптики // Минск, 1975.
14. Shi Y., Liu J.Y., Han K.L. // Chem. Phys. Lett. 2005. Vol. 410. P. 260.

15. Dong L.Q., Niu K., Cong S.L. // Chem. Phys. Lett. 2006. Vol. 432. P. 286.
16. Dong L.Q., Niu K., Cong S.L. // Chem. Phys. Lett. 2007. Vol. 440. P. 150.
17. Bricker W.P., Shenai P.M., Ghosh A., Liu Z., Enriquez M.G.M., Lambrev P.H., Tan H.-S., Lo C.S., Tretiak S., Fernandez-Alberti S., Zhao Y. // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. Art. 13625.
18. Kosumi D., Maruta S., Fujii R., Kanemoto K., Sugisaki M., Hashimoto H. // Phys. Status Solidi C. 2011. Vol. 8. P. 92.
19. Pšenčík J., Ma Y.-Z., Arellano J.B., Garcia-Gil J., Holzwarth A.R., Gillbro T. // Photosynth. Res. 2002. Vol. 71. P. 5.
20. Pšenčík J., Ma Y.-Z., Arellano J.B., Hála J., Gillbro T. // Biophys. J. 2003. Vol. 84. P. 1161.
21. Melø T.B., Frigaard N.U., Matsuura K., Naqvi K.R. // Spectrochim. Acta A. 2000. Vol. 56. P. 2001.
22. Alster J., Polivka T., Arellano J.B., Chabera P., Vacha F., Pšenčík J. // Chem. Phys. 2010. Vol. 373. P. 90.
23. Pierson B., Castenholz R. // Arch. Microbiol. 1974. Vol. 100. P. 283.
24. Taisova A.S., Keppen O.I., Lukashev E.P., Arutyunyan A.M., Fetisova Z.G. // Photosynth. Res. 2002. Vol. 74. P. 73.
25. Ахманов С.А., Выслоух В.А., Чиркин А.С. Оптика фемтосекундных лазерных импульсов // М., 1988.
26. Shibata Y., Tateishi S., Nakabayashi S., Itoh S., Tamiaki H. // Biochemistry. 2010. Vol. 49. P. 7504.
27. Savikhin S., Zhu Y., Lin S., Blankenship R.E., Struve W.S. // J. Phys. Chem. 1994. Vol. 98. P. 10322.
28. Ostroumov E.E., Khan Y.R., Scholes G.D., Govindjee. Photophysics of photosynthetic pigment-protein complexes / Non-photochemical quenching and energy dissipation in plants, algae and cyanobacteria / Eds. B. Demmig-Adams, G. Garab, W. Adams III, Govindjee. Dordrecht: Springer. 2014. P. 97.
29. Яковлев А.Г., Таисова А.С., Фетисова З.Г. // Биохимия. 2023. Т. 88. № 5. С. 861.
30. Fetisova Z., Muring K. // FEBS Lett. 1992. Vol. 307. P. 371.
31. Polivka T., Sundström V. // Chem. Rev. 2004. Vol. 104. P. 2021.
32. Linnanto J.V., Korppi-Tommola J.E.I. // J. Phys. Chem. B. 2013. Vol. 117. P. 11144.
33. Englman R., Jortner J. // Molecular Physics 1970. Vol. 18. N. 2. P. 145.
34. Niedzwiedzki D.M., Blankenship R.E. // Photosynth. Res. 2010. Vol. 106. P. 227.
35. Baskin J.S., Yu H.Z., Zewail A.H. // J. Phys. Chem. A. 2002. Vol. 106. N. 42. P. 9837.
36. Abraham B., Nieto-Pescador J., Gundlach L. // J. Phys. Chem. Lett. 2016. Vol. 7. N. 16. P. 3151.

Информация об авторах

Андрей Георгиевич Яковлев – ст. науч. сотр. отдела фотобиофизики НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. физ.-матем. наук (yakov@belozersky.msu.ru);

Александра Семеновна Таисова – ст. науч. сотр. отдела фотосинтеза и флуоресцентных методов исследований НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. биол. наук (taisova@belozersky.msu.ru);

Зоя Григорьевна Фетисова – гл. специал. отдела фотобиофизики НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. физ.-матем. наук (zfetisova@belozersky.msu.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 04.09.2023;
одобрена после рецензирования 15.12.2023;
принята к публикации 25.03.2024.