

**ПЕРВИЧНЫЕ ФОТОХИМИЧЕСКИЕ И ФОТОФИЗИЧЕСКИЕ
ПРОЦЕССЫ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ *)***Е. Рабинович***1. ЭКСИТОНЫ И ИХ МИГРАЦИЯ**

В фотохимических реакциях в газах мы различаем первичный фотохимический процесс и вторичные реакции, которые сами по себе не требуют света. Например, при образовании HCl из $Cl_2 + H_2$ первичный фотохимический процесс — это диссоциация Cl_2 на два атома Cl, а вторичными являются реакции $Cl + H_2 \rightarrow HCl + H$ и $H + Cl_2 \rightarrow HCl + Cl$.

При фотохимических реакциях в конденсированных молекулярных системах (мы оставляем в стороне, как крайний случай, ионные и металлические кристаллические решетки) между поглощением света молекулой и первичной фотохимической реакцией могут иметь место добавочные стадии — «фотофизические» процессы переноса энергии или заряда и (при повторных переносах) миграция энергии или заряда. Предельным является тот случай, когда вся система действует в возбужденном состоянии как единая гигантская молекула. В этом случае либо возбужденный электрон, либо дырка, оставленная им в электронном облаке поглощающей молекулы, либо оба вместе не локализованы, а принадлежат системе в целом. В менее выраженном случае возбужденный электрон или дырка в каждый данный момент связаны с определенной молекулой, причем эта связь существует в течение времени, продолжительного по сравнению с периодом внутримолекулярных колебаний; однако в течение периода электронного возбуждения электрон или дырка (или и то, и другое) могут быть переданы соседней молекуле. При соответствующих условиях этот перенос может повториться много раз, прежде чем будет растрачена энергия электронного возбуждения. Таким образом, электрон или дырка, или то и другое, в конце периода возбуждения могут оказаться в месте, значительно удаленном (в молекулярном масштабе) от места первоначального возникновения возбуждения. Если электрон и дырка перемещаются по отдельности (или если перемещается только один из них), то конечным эффектом будет разделение зарядов, которое можно рассматривать как внутреннее окисление—восстановление. Если они перемещаются вместе, то конечным результатом будет миграция энергии возбуждения без разделения зарядов.

Пару электрон—дырка часто называют *экситоном*¹. Если возбужденный электрон и дырка объединены в одной молекуле, то обычно

*) Eugene Rabinowitch, Primary Photochemical and Photophysical Processes in Photosynthesis, Disc. Farad. Soc., № 27, 161 (1959). Перевод Ю. А. Владимирова и Ф. Ф. Литвина.

в физике твердого тела применяют термин (возможно, ненужный) «внутри-молекулярный экситон». В этом случае перенос экситона в соседнее положение в «решетке», образованной конденсированной средой, может быть достигнут двумя различными путями: либо путем одновременного переноса двух электронов в противоположных направлениях (рис. 1, б), либо путем возвращения электрона в молекуле «донора» в первой клетке в его нормальное состояние, сопровождающегося одновременным возбуждением электрона в молекуле «рецептора» во второй клетке (рис. 1, а).

Действительно, как механизм (а), так и механизм (б) приводят к переносу либо «соединенных», либо «разделенных» пар электрон—дырка («внутри-молекулярный» либо «межмолекулярный» экситон). Относительная вероятность этих механизмов различна. Механизм (б) наиболее существует

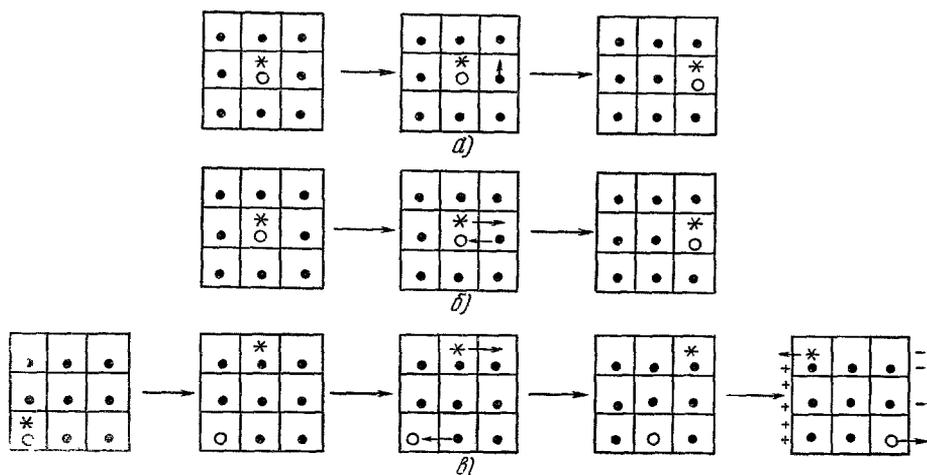


Рис. 1. Перенос внутримолекулярных и межмолекулярных экситонов.

○ — дырка, ● — электрон, * — возбужденный электрон а) Перенос внутримолекулярного экситона — механизм Ферстера — Хеллера — Маркуса, б) перенос внутримолекулярного экситона — механизм Ванниера, в) превращение внутримолекулярного экситона в межмолекулярный, его перенос и диссоциация

в первом случае, и его значение уменьшается по мере увеличения расстояния между дыркой и электроном (рис. 1, в). Энергия связи экситона может быть так мала, что он может легко распасться либо под воздействием теплового движения, либо под влиянием внешнего растяжения электрическим полем. В обоих случаях эта система будет действовать как «фотопроводник». Если акцепторы или доноры электрона присутствуют в системе в качестве примесей или адсорбированы на поверхности этой системы, то их сродство к электрону или дырке может привести к захвату электрона, дырки или обоих вместе.

К изучению механизма фотобиологических процессов, таких, как фотосинтез в растительных клетках, обычно подходили, опираясь на опыт, накопленный при изучении фотохимических реакций в газах или разбавленных растворах. Однако в последнее время было обращено внимание на то, что концентрация молекул пигмента в фотосинтетических органеллах растений (или зрительных органеллах животных) настолько велика, что становится правомочным рассматривать фотосинтез (или зрение) с точки зрения явлений, происходящих в твердом теле. Для того чтобы обсудить этот подход, мы должны прежде всего подытожить современные знания о действительной структуре фотосинтетического аппарата.

2. СТРУКТУРА ХЛОРОПЛАСТОВ

За исключением примитивных сине-зеленых водорослей (*Cyanophyceae*) и пурпурных и зеленых бактерий, все фотосинтезирующие растения имеют хлоропласты — клеточные органеллы, которые содержат зеленый пигмент — хлорофилл и различные другие «сопутствующие» пигменты (каротиноиды, фикобилины). В этих органеллах и происходит фотосинтез, и, очевидно, их внутренняя структура является важной для механизма этого процесса запасаения энергии.

Во всех хлоропластах имеются пластинки — плоские или тонкие вытянутые слои толщиной 100—200 Å. Такие слои найдены даже в клетках сине-зеленых водорослей, не содержащих хлоропластов. Они, по-видимому, существуют также в фотосинтезирующих бактериях. Эти пластинки расположены параллельно друг другу и образуют более или менее упорядоченную систему. Известны два основных типа хлоропластов. В одном пластинки наполняют более или менее равномерно все тело хлоропласта («пластинчатые» хлоропласты), в другом они образуют цилиндрические гранулы («гранулярные» хлоропласты). На рис. 2 и 3 изображены оба типа хлоропластов одного и того же растения — кукурузы. Гранулярные хлоропласты найдены в клетках мезофилла листьев; пластинчатые хлоропласты — в клетках сосудистых пучков. В общем можно сказать, что гранулярные хлоропласты обычно свойственны зрелым клеткам высших наземных растений, тогда как пластинчатые хлоропласты более характерны для более молодых клеток и водорослей.

Из рис. 2 видно, что в гранулярных хлоропластах пластинчатая структура также простирается через весь хлоропласт, включая межгранулярную «stromu». Гранулы представляют собой просто объемы, приблизительно цилиндрической формы, в которых пластинки более плотны и более многочисленны (вероятно, вследствие расщепления отдельной межгранулярной пластинки на две или большее число пластинок внутри гранулы).

Хлоропласты отличаются от протоплазмы более низким содержанием белков (около 60% вместо более 95%) и более высоким содержанием «липидов» (около 40%), т. е. соединений, растворимых в жире или спирту. Последние включают до 5% пигментов: хлорофилла и каротиноидов. Однако красные и синие «фикобилины» прикреплены к белкам и могут быть экстрагированы водой.

Высокая оптическая плотность гранулы и пластинки на электронных микрофотографиях препаратов, фиксированных осмиевой кислотой (см. рис. 2 и 3), является следствием высокой концентрации осадившейся окиси осмия — это в свою очередь, видимо, обусловлено присутствием липидов (хотя эти соотношения являются предметом некоторых

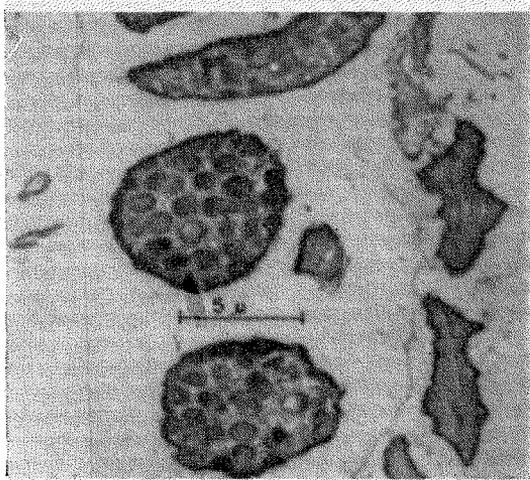


Рис. 2. Гранулярные хлоропласты клеток мезофилла и пластинчатые хлоропласты кукурузы (*Zea mays*) (по Ваттеру).

разногласий между специалистами по электронной микроскопии). Другими словами, плотные пластинки, по-видимому, содержат наиболее высокие концентрации липоидных веществ, в то время как слои стромы между пластинками богаче белками (если быть более осторожным, можно сказать,

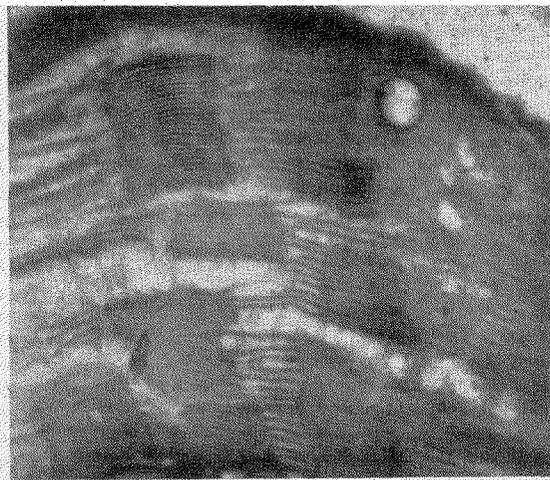


Рис. 3а. Межгранулярные пластинки кукурузы (*Zea mays*) (по Ваттеру).

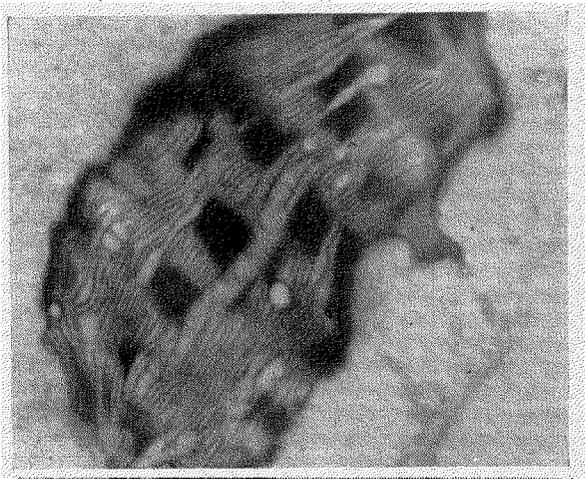


Рис. 3б. Межгранулярные пластинки и внутригранулярные «пачки» кукурузы (*Zea mays*) (по Ваттеру).

что липоиды в липопротеидах пластинки содержат больше активных групп, чем липопротеиды в строме между пластинками). Данные абсорбционной и флуоресцентной микроскопии подтверждают, что в гранулярных хлоропластах пигменты, в частности хлорофилл, локализованы в грануле.

Ходж указывает (см. рис. 4, а), что межгранулярные пластинки также являются носителями пигмента, т. е. что гранулы имеют темно-зеленый цвет, а стромы более светло-зеленая, но не бесцветная. Однако кажется более правдоподобным, что, когда пластинки организуются в гранулы,

пигменты концентрируются в них более или менее полностью, как это показано на рис. 4, б. Было высказано предположение, что хлорофилл, молекула которого состоит из плоской окрашенной конъюгированной кольцевой системы (хлорин) и длинного бесцветного, почти насыщенного хвоста (фитол), должен обладать тенденцией к образованию монослоев на поверхности раздела между гидрофильными белковыми и гидрофобными липоидными слоями. Предварительная оценка^{2,3} показала, что общая величина поверхности пластинок типичного хлоропласта приблизительно соответствует той площади, которую занял бы хлорофилл, содержащийся в хлоропласте, будучи равномерно распределенным в мономолекулярном слое.

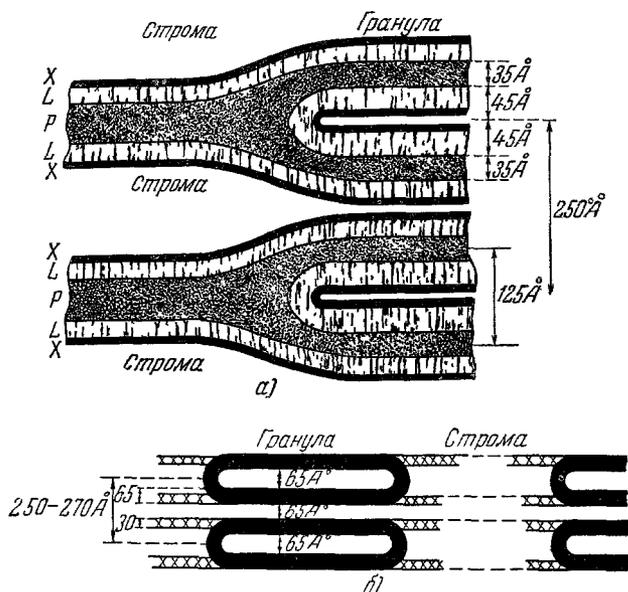


Рис. 4. а) Два объяснения гранулярной структуры хлоропластов. X — хлорофилл, L — липоиды, P — белок, A — гранулярные хлоропласты (по Ходжу и др. J. Biochem. Cytol. 1, 605 (1955)). б) Гранулярные хлоропласты по Стейнмену и Сьестранду, Expt. Cell. Res. 8, 15 (1958). Липопротеид; липопротеид, несущий хлорофилл

При этом на молекулу приходится по 100—200 Å, что примерно равно площади, занимаемой плоской хромофорной «головой» молекулы хлорофилла.

Томас и сотрудники⁴ провели некоторые более точные сравнения количества хлорофилла, присутствующего в хлоропластах различных видов, с площадью поверхности их пластинок (при этом учитывались только пластинки, расположенные в гранулах). Результаты были такие: *Spinacia cleracea* (3,2 ммк² на молекулу), *Hibiscus rosa sinensis* (3,6 ммк²), *Aspidistra elatior* (0,9 ммк²), *Tulipa spec.* (1,8 ммк²), *Elodea densa* (2,5 ммк²), *Mougeotia sp.* (не содержащие гранул, 3,8 ммк²), *Spiragya sp.* (не содержащая гранул, 2,5 ммк²), *Synechococcus cedrorum* (клетки не содержат хлоропластов, 0,8 ммк²), *Nitzschia dissipata* (не содержащая гранул, 2,5 ммк²). В то же самое время количество хлорофилла, приходящееся на один хлоропласт, изменяется в широких пределах от $7 \cdot 10^{14}$ до $3,4 \cdot 10^{-9}$ г.

Искусственные монослои хлорофилла^{5,6} существуют в двух формах: кристаллической и аморфной. В случае первой формы на одну молекулу приходится площадь порядка 0,75 ммк² (это указывает на то, что слой

может быть скорее бимолекулярным, чем мономолекулярным), и красный максимум поглощения сдвинут в монослое к 735 $m\mu$, тогда как в растворе он расположен у 660 $m\mu$ (рис. 5). В случае аморфной формы площадь,

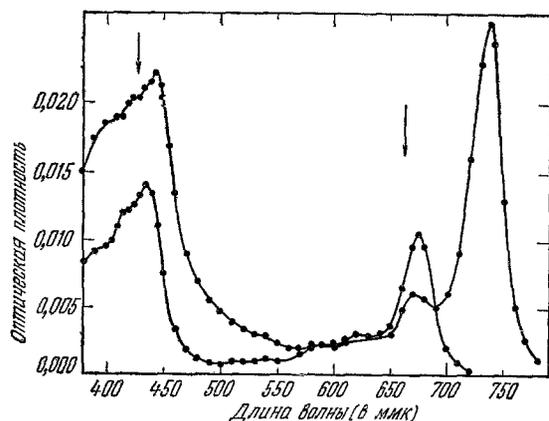


Рис. 5. Спектры поглощения монослоев хлорофилла: коллоидного (нижняя кривая) и кристаллического, по-видимому, бимолекулярного слоя (нижняя кривая)

Стрелками показано положение максимумов в растворе (по Якобсу и др.)

которая требуется, чтобы молекула лежала плоско на поверхности, составляет 2,4 $m\mu^2$.

Электронные микрофотографии гранулярных хлоропластов указывают на присутствие в них плоских «камер», заключенных между парами пластинок (см. рис. 4, а, б). Опыты с набуханием вещества гранул подтверждают эту картину (рис. 6). Представляется заманчивым приписать этим камерам важную функцию в процессах фотосинтеза. Например, можно предположить, что один из продуктов первичной фотохимической окислительно-восстановительной реакции (скажем, промежуточный продукт восстановления) задерживается в камере, тогда как другой (предшественник кислорода) остается вне камеры. Однако нужно помнить, что пластинчатые хлоропласты, не содержащие гранул и, следовательно, не имеющие подобных «камер», полностью способны к фотосинтезу. Некоторые данные свидетельствуют о том, что такие непрерывные пластинки имеют тенденцию к образованию двойных слоев. Строение промежуточного пространства между пластинками может быть в этом случае различным по разные стороны от пластинки, и в пластинчатой системе в целом может осуществляться упомянутый выше механизм разделения. При этом промежуточ-

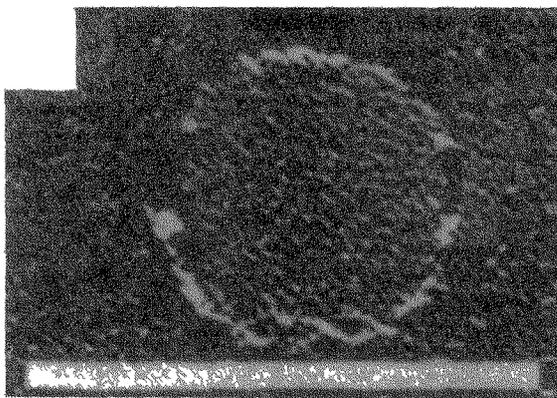


Рис. 6 Макромолекулы во внутригранулярной пластинке (по Штейнману).

необходимая на одну молекулу, приблизительно равна 1,06 $m\mu^2$, а красный максимум поглощения расположен около 678 $m\mu$. Это указывает на то, что хлорофилл в живых клетках (где максимум его поглощения лежит около 675—680 $m\mu$) не образует кристаллических монослоев (или трехмерных кристаллов с максимумом поглощения 740 $m\mu$). Можно думать, что он находится там в форме аморфных монослоев.

В обоих типах искусственных монослоев кольцевые системы хлорофилла должны быть упакованы наклонно, так как действительная площадь кольцевой системы, ко-

ные пространства связывают, чередуясь, одни первичные продукты окисления, а другие — первичные продукты восстановления в фотокаталитическом процессе. На значение пластинчатой структуры хлоропластов для обеспечения разделения промежуточных продуктов окисления и восстановления при фотосинтезе было впервые указано Калвином и сотрудниками⁷ в связи с рассмотрением миграции электрона в подобных структурах; этим они уподобляли хлоропласт «солнечной батарее» Белла. Плотное расположение молекул пигмента в пластинках хлоропласта делает и в самом деле заманчивыми спекуляции относительно возможной миграции энергии и заряда в этих структурах, однако специфическая схема, приводимая Калвином и сотрудниками, не кажется наиболее вероятной в свете того, что мы знаем о действительной структуре, и того, что мы можем предполагать относительно значения переноса энергии при фотосинтезе (см. п. 4).

Подтверждение того, что хлорофилл располагается тонкими, вероятно, мономолекулярными слоями, было получено Геджером⁸ при изучении дихроизма и двойного лучепреломления в некоторых больших хлоропластах.

В этих хлоропластах наблюдался сравнительно слабый дихроизм наряду с удивительно сильным селективным двойным лучепреломлением. При интерпретации этих результатов следует принять во внимание безусловно существующую пластинчатую структуру («структурный дихроизм» и «структурное двойное лучепреломление») и, возможно, существующую параллельную ориентацию молекул, поглощающих свет («внутренний дихроизм» и «внутреннее двойное лучепреломление»).

Геджер на основании различных наблюдений, включая эффект плазмоллиза и прижизненного окрашивания родамином В, пришел к выводу, что наиболее вероятная интерпретация всех результатов может быть основана на предположении о присутствии в хлоропластах очень тонких плотных слоев пигмента (0,2—0,6 мкм толщиной), показатель преломления которых намного выше показателя преломления белковых и липоидных слоев. В этих, очевидно, мономолекулярных хромофорных слоях оси молекул хлорофилла ориентированы, по-видимому, лишь в очень малой степени, что и обуславливает сравнительно слабый дихроизм.

Геджер предположил, что несовершенная ориентация молекулярных осей может быть обусловлена тем, что монослои покрывают не плоскую, а «зернистую» поверхность, образованную сферическими макромолекулами липопротеинов, видимых на электронных микрофотографиях пластинок с большим увеличением (рис. 6). (Это, конечно, не единственная возможная форма беспорядка в мономолекулярных слоях!) Макромолекулы имеют диаметр 7—10 мкм. Сфера такого диаметра имеет поверхность 150—300 мкм², достаточную для того, чтобы на ней расположились 150—300 молекул хлорофилла, если бы она могла быть покрыта со всех сторон, что затруднительно, коль скоро молекула является частью пластинки.

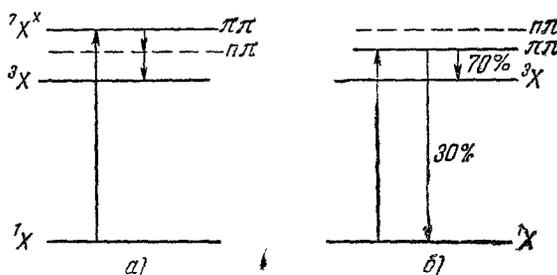


Рис. 7. Термы флуоресцирующего и нефлуоресцирующего хлорофилла в растворе.

а) Нефлуоресцирующее состояние, $n-\pi$ -уровень ниже уровня $\pi\pi$, б) флуоресцирующее состояние, $n-\pi$ -уровень выше $\pi\pi$ -уровня. В случае (а) практически все возбужденные молекулы хлорофилла λ^x переходят на триплетный уровень через $n-\pi$ -уровень. В случае (б) около 30% (для хлорофилла-а) испускается в виде флуоресценции, остальное переходит преимущественно в триплетное состояние.

3. СОСТОЯНИЕ ХЛОРОФИЛЛА В ХЛОРОПЛАСТАХ

Многие данные указывают на то, что молекула хлорофилла в хлоропластах находится в двух (если не больше) различных формах. Дюйзенс¹⁰ заметил, что ширина полосы поглощения хлорофилла *in vivo* сама по себе указывает на наложение двух полос. Красновский с сотрудниками¹¹ и Смит и Коски¹², наблюдая сдвиг в положении максимума поглощения хлорофилла в процессе зеленения этиолированных листьев и параллельные изменения в фотохимической устойчивости пигмента, пришли к выводу, что хлорофилл первоначально возникает в одной форме (хл. 684), затем превращается в другую (хл. 673) и, возможно, в третью форму (хл. 677). Было предположено, что одна из форм, существующих в зеленой клетке, мономерная, а другая «агрегированная». Кажущиеся противоречивыми измерения времени жизни флуоресценции *in vivo*, осуществленные Броди¹³, и измерения квантового выхода флуоресценции хлорофилла *in vivo*, проведенные Латимером¹⁴, могут быть согласованы при предположении, что только около $\frac{1}{4}$ всего хлорофилла (в хлорелле) находится во флуоресцирующем состоянии (с квантовым выходом флуоресценции около 10%), в то время как $\frac{3}{4}$ не обладает флуоресценцией (что дает о б щ и й выход флуоресценции около 3%). Другие наблюдения (см. ¹⁵) делают правдоподобным, что одна нефлуоресцирующая форма хлорофилла *in vivo* (которая, однако, может присутствовать лишь в относительно малых количествах, поскольку главный максимум поглощения расположен около 678 мμ) имеет полосу поглощения около 705 мμ и соответствующую полосу флуоресценции около 720 мμ; последняя появляется, однако, только при низкой температуре (в жидком воздухе).

Следует отметить, что «мономерные» и «полимерные», «флуоресцирующие» и «нефлуоресцирующие» формы хлорофилла *in vivo*, вероятно, соответствуют различным состояниям одинаковых молекул хлорофилла в монослое, причем эти состояния различаются по плотности монослоя и виду молекул, с которыми связаны молекулы хлорофилла. Франк¹⁶, исходя из кинетики фотосинтеза, пришел к заключению, что два типа хлорофилла *in vivo* характеризуются соответственно своим контактом либо с водой, либо с совершенно неполярными «липоидными» молекулами. Молекулы хлорофилла в контакте с водой флуоресцируют; в этой гидратной части монослоя не могут появляться свободные электроны. Часть монослоя, прикрытая липоидами, не обладает флуоресценцией и не может обеспечить существование свободных электронов (что продемонстрировано в опытах Арнольда¹⁷, проведенных на сухих пленках хлорофилла, хотя не известно, имеют ли они отношение к условиям в живых хлоропластах).

Согласно анализу уровней возбуждения хлорофилла, проведенному Платтом¹⁸, порядок двух типов возбужденных состояний ππ и ππ может быть обратным для двух форм. Так что нефлуоресцирующее π—π-состояние является более низким состоянием в форме, «связанной с липоидами», и более высоким в гидратированной (или аминированной) форме (это и обуславливает их различие во флуоресценции).

Франк предполагает, что при первичном фотохимическом процессе фотосинтеза необходимо объединение двух возбужденных молекул, одна из которых должна быть в π—π-возбужденном состоянии, тогда как другая может находиться в π—π-состоянии. Поэтому первичный процесс может происходить только в молекулах хлорофилла, окруженных водой. Однако молекулы, покрытые липоидами, могут внести один квант в первичный двухквантовый процесс посредством миграции энергии.

4. ПЕРЕНОС ЭНЕРГИИ И ЗАРЯДА В ХЛОРОПЛАСТАХ

Проблема переноса энергии возникла при изучении фотосинтеза в 1936 г., когда Гаффрон и Воль¹⁹ впервые попытались объяснить результаты фундаментальных опытов Эмерсона и Арнольда по фотосинтезу при прерывистом освещении, предположив, что около 2000 молекул хлорофилла действуют как «фотосинтетическая единица» — своего рода бассейн, в котором скапливается энергия и который объединен с отдельным «восстановительным центром», где происходит первичный фотохимический процесс. Существование такой связи приводит к тому, что максимальное количество кислорода, которое может образоваться при каждой вспышке света, соответствует одной молекуле O_2 на 2000 молекул хлорофилла (это было основным результатом опытов Эмерсона и Арнольда). Число 2000 должно быть однако уменьшено (вероятно, в восемь раз), так как высвобождение одной молекулы кислорода требует не одного, а нескольких (вероятно, восьми) идентичных элементарных фотохимических актов. Таким образом, наиболее вероятное число молекул хлорофилла в фотосинтетической единице составляет $2000 : 8 = 250$. Это уже лежит в таких пределах, что становится мыслимой идентификация фотосинтетической единицы с ранее упомянутыми макромолекулами — носителями пигмента.

Такая (гипотетическая) картина белковых макромолекул, каждая из которых несет около 250 молекул хлорофилла, поразительно сходна с (полученной из опыта) картиной молекул фикобилинов, экстрагированных водой из красных водорослей. Последние представляют собой белковые макромолекулы с молекулярным весом около 280 000, которые несут по 50—100 хромофоров²⁰.

Различие между фикобилинами и хлорофилловыми комплексами *in vivo*, возможно, состоит главным образом в дополнительной связи хлорофилла с липоидами (вероятно, благодаря сродству гидрофобного фитольного «хвоста» к липоидам). Можно думать, что именно эта связь препятствует экстрагированию хлорофиллов водой в форме стехиометрических комплексов (а не в форме произвольно измельченных фрагментов, содержащих как белковый, так и липоидный компоненты). Когда Гаффрон и Воль ввели понятие фотосинтетической единицы, они указали, что объединение 2000 (или, как мы сказали бы теперь, 250) молекул хлорофилла, поглощающих свет, и одного реакционного центра, по-видимому, может происходить двумя различными способами. С одной стороны, можно рассматривать этот процесс как миграцию «химических посыльных» (богатых энергией частиц, образованных фотохимически у каждой активированной светом молекулы хлорофилла) к реакционному центру. С другой стороны, его можно представить как миграцию энергии путем последовательных резонансных переносов. Именно эта картина миграции энергии очаровала исследователей, работающих в области фотосинтеза в течение последних двадцати лет, хотя до сих пор не получено определенного ответа на вопрос о ее применимости в данном случае.

Проведенное Гедхером измерение поляризации флуоресценции в макромолекулах фикобилинов (которая оказалась очень низкой) свидетельствует о том, что энергия возбуждения высвечивается не той молекулой, которая ее поглотила, а другой, ориентация которой совершенно отлична от ориентации первой молекулы. Этот факт, а также результаты исследований миграции энергии возбуждения в растворах и кристаллах (так же, как и теоретические расчеты вероятности резонансного переноса энергии) делают правдоподобным представление о том, что энергия возбуждения свободно передвигается между 50—100 хромофорами, прикрепленными к макромолекулам белка — фикобилина. По аналогии можно было бы

ожидать такой же эффективный обмен энергией возбуждения также и между молекулами хлорофилла, прикрепленными к общей макромолекуле белка. Возможно, что область эффективной миграции энергии охватывает не одну, а несколько соседних макромолекул, чем и объясняется относительно большое число (по крайней мере 250) молекул в «кинетической» единице. Однако в этом случае следовало бы предположить, что число «реакционных центров» меньше числа макромолекул белка, тогда как более естественным кажется предположение о том, что белковая макромолекула (или некоторый участок на ней) сама по себе является энзиматическим «центром».

Подвижность энергии возбуждения в хлорофилл-белковых и «фикобилин-белковых» комплексах, возможно, является случайной и не имеет существенного значения. Однако, как упоминалось выше, она может также служить полезным приспособлением для эффективного использования кванта, поглощенного в одной из 250 молекул хлорофилла, для завязывания цепи энзиматических реакций. Растительная клетка не может обеспечить отдельную энзиматическую «конвейерную ленту» для каждой из молекул хлорофилла просто из-за недостатка места. Высокая концентрация хлорофилла в клетке (до 10^{-2} мол на литр) необходима для того, чтобы обеспечить эффективное поглощение света (никакой органический пигмент не мог бы сделать это намного лучше). Даже на прямом солнечном свету каждая молекула хлорофилла поглощает один квант примерно один раз каждые 0,1 сек. С другой стороны, известно, что ферменты перерабатывают субстраты за одну тысячную этого времени или даже быстрее. Таким образом, у клеток имеется и необходимость и возможность резкого сокращения числа независимых путей реакций от стадии поглощения света до ферментативной стадии фотосинтеза. Миграция энергии возбуждения в «фотосинтетической единице» представляет собой прекрасное решение этой проблемы.

Возникает вопрос, действительно ли необходим механизм «сокращения», если макромолекула, несущая 250 хромофоров хлорофилла, сама по себе является ферментом, участвующим в первичной фотохимической реакции. Этот вопрос представляет собой часть общей проблемы: почему молекулы ферментов так велики, хотя только относительно небольшая группа их непосредственно участвует в катализируемой реакции. Каким бы ни был ответ на этот вопрос, энергия возбуждения, вероятно, должна быть перенесена к определенному участку макромолекулы, чтобы она могла быть использована для катализа; механизм резонансной миграции, по-видимому, отвечает этому требованию.

Франком и Геллером²¹ был впервые поставлен вопрос, достаточно ли времени протекает между поглощением света в хлоропласте и диссипацией энергии (посредством флуоресценции или одного из процессов тушения), чтобы обеспечить возможность эффективного переноса энергии к месту реакции в единице, состоящей из 250 молекул. Если перенос происходит как «беспорядочное блуждание», то потребуются в среднем значительно больше 250 переносов, чтобы обеспечить «доставку» кванта к реакционному центру (с другой стороны, может быть, достаточно подвести квант в непосредственную близость к «стоку», а не к одной единственной молекуле, находящейся в прямом контакте с ним). Естественное время жизни хлорофилла в возбужденном состоянии (X^*) составляет 15 мксек (расчитано путем интегрирования полосы поглощения¹³). Если исходить из данных Латимера о квантовом выходе флуоресценции (3%), то действительное время жизни равно 0,5 мксек; если же основываться на данных Броди (10%), то оно равно 1,5 мксек. Если происходит, скажем, 1000 переносов энергии в течение этого периода, то

это означает, что энергия пребывает «в гостях» у каждой посещенной молекулы $\leq (0,5 \div 1,5)10^{-3}$ мксек. Ширина полосы поглощения хлорофилла *in vivo* указывает на ненарушенное взаимодействие с внутримолекулярными вибрациями, а это значит, что электронное возбуждение поглощающей молекулы должно продолжаться $\gg 10^{-4}$ мксек. Сравнение этих двух величин ($\leq (0,5 \div 1,5)10^{-3}$ мксек, имеющих в наличии, и $\gg 10^{-4}$ мксек, необходимых для каждого посещения) показывает, что времени почти как раз достаточно для постулированных 1000 посещений, причем излишка времени практически не остается. Этого, пожалуй, «маловато» для полной уверенности. Границы эффективной миграции могли бы быть значительно расширены, если допустить, что 1) выход флуоресценции ограничен не полной диссипацией кванта, а переходом в метастабильное состояние 3X (что вероятно) и 2) миграция энергии может продолжаться после такого перехода по «механизму Вайнера» ${}^1X_1 + {}^3X_2 \rightarrow {}^3X_1 + {}^1X_2$ (с сохранением суммарного спина, что несколько сомнительно). Резонансная передача энергии в триплетном состоянии была обнаружена Терениным и сотрудниками в замороженных растворах углеводов 22 . Однако она требует достаточной близости партнеров, обменивающихся энергией, которая необходима для неизменности их суммарного спина. Можно возразить, что наши знания относительно монослоев хлорофилла *in vivo* не оправдывают этого предположения. Вопрос явно нуждается в количественном теоретическом и экспериментальном изучении.

Перенос энергии рассмотренного до сих пор типа соответствует рис. 1, а — это механизм миграции внутримолекулярного экситона без разделения зарядов — механизм Фёрстера—Хеллера—Маркуса. Механизм Ванниера (рис. 1, б) может вносить свой вклад в эту миграцию. Возникает вопрос, может ли происходить и происходит ли в действительности образование и перенос межмолекулярного экситона, включая разделение зарядов. Механизм этого типа был постулирован Арнольдом 17 для объяснения захвата электронов в ловушку в сухих пленках хлоропластов под действием света, а также Коммонером и др. 23 и Калвином и др. ${}^{7, 24}$ для объяснения появления неспаренных спинов при освещении препаратов хлоропластов (обнаруживаемого методом парамагнитного резонанса). Существует, однако, одна трудность, которая сама по себе мешает выдвинуть предположение о том, что поглощение света хлорофиллом в хлоропласте ведет к переносу электрона в «полосу проводимости» — другими словами, в такое состояние, в котором электрон отделен от дырки (вместе они образуют межмолекулярный экситон), и они так слабо связаны, что могут диссоциировать за счет теплового движения или при наложении слабого внешнего электрического поля. Эта трудность заключается в том, что полоса поглощения хлорофилла *in vivo* очень сходна с полосой поглощения *in vitro*. Последнее указывает на то, что возбуждение ведет к тому же самому по своей природе внутримолекулярному возбужденному состоянию, в котором электронное возбуждение сопряжено с внутримолекулярными колебаниями. Резонансный перенос энергии (одновременный перенос дырки и электрона) может происходить уже после акта поглощения в результате резонанса между возбужденными состояниями двух молекул хлорофилла. Подобный запоздалый перенос электрона без дырки, т. е. превращение внутримолекулярного экситона в межмолекулярный (рис. 1, в), может происходить, только если энергетический уровень последнего примерно равен (или ниже) энергетическому уровню первого, что представляется невероятным.

Поскольку квантовый выход наблюдаемого захвата электронов в ловушках и образования спинов свободных электронов оказался очень низким, можно думать, что эти процессы сопровождают акты поглощения,

происходящие лишь в исключительных случаях, которые осуществляются в молекулах хлорофилла, находящихся в непосредственной близости к примесям, могущим служить ловушками электронов. Более того, эффекты, наблюдаемые в сухих хлоропластах, вполне могут быть полностью или частично обусловлены агрегатами хлорофилла, образующимися вследствие высушивания. Броди наблюдал, что освещение кристаллических порошков хлорофилла ведет к обильному образованию свободных электронных спинов.

Франк предположил, что свободные электроны могут существовать в безводных, защищенных липоидами, частях слоев хлорофилла. Однако представления Франка о механизме фотосинтеза¹⁵ не требует наличия свободных электронов. Он просто допускает возможность их появления на основании результатов исследований Арнольда. Продолжая экспериментальное выяснение значения эффектов парамагнитного резонанса, фотопроводимости и длительного послесвечения, которое стимулируется нагреванием, для протекания основной цепи реакций при фотосинтезе, этот автор склонен рассматривать указанные явления как результат незначительных побочных процессов. Калвин и сотрудники^{7,24} придают большое значение данным о присутствии свободных электронов, так как они думают, что фотохимическое разделение зарядов и последующая миграция электрона по пластинке (и миграция дырки в противоположном направлении) могут привести к эффективному разделению первичных окисленных продуктов от первичных восстановленных продуктов при фотосинтезе (эти авторы неоднократно указывали, что это разделение является краеугольным камнем фотосинтеза). В фотохимических процессах *in vitro* промежуточные, богатые энергией, продукты часто могут возникать с хорошим квантовым выходом, но они обычно исчезают при рекомбинации еще до того, как могут быть «спасены», а энергия света успевает накопиться в виде химической энергии. Необходимо, однако, отдавать себе отчет в том, что в противоположность «солнечной батарее» активный пигментный слой в хлоропластах, по-видимому, имеет толщину одного молекулярного слоя. Чтобы отделить окисленный продукт от восстановленного, достаточно, чтобы они были образованы на двух сторонах этого мономолекулярного слоя. Например, мы можем представить себе, что возбужденная молекула хлорофилла отдает электрон или H-атом в водную фазу на одном ее конце и воспринимает его на другом. Таким путем два продукта могут быть отведены в пространство по разные стороны пластинки, и не возникает необходимости в какой-либо электронной проводимости, кроме той, которая обеспечивается ароматической структурой хлорина.

Другое дело миграция электрона и дырки в плоскости пластинки. Можно представить себе, что это передвижение помогает перенести указанные два продукта к местам двух различных ферментативных реакций в пластинке. При этом одно из них может обеспечить восстановление соответствующего промежуточного звена в окислительно-восстановительном процессе (например, такой, как $TPN-TPN H_2$), а другое обеспечивает образование свободного кислорода. Эту возможность, которая отличается от возможности, выдвинутой Калвином и соавторами, следует иметь в виду, однако она также становится маловероятной в свете упомянутых выше спектроскопических данных.

Таким образом, в качестве приемлемой рабочей гипотезы мы можем предположить, что миграция внутримолекулярного экситона является единственным существенным типом миграции энергии в хлоропласте и ее польза заключается в том, чтобы передавать энергию возбуждения в непосредственную близость к энзиматическому центру, расположенному

в каждой макромолекулярной «грануле» в хлоропластах (возможно, один центр приходится на несколько гранул).

Эта схема нуждается в дальнейшем, более детальном развитии путем уточнения локализации и функции двух (или нескольких) различных типов хлорофилла (так же, как и сопровождающих пигментов), особенно в свете данных Эмерсона, указывающих на различие в фотохимических функциях некоторых пигментов, включая хлорофиллы *a* и *b*.

В случае фикобилинов кажется вероятным, что эти пигменты располагаются на своих собственных гранулярных макромолекулах, которые включены в пластинки подобно компонентам «смешанного кристалла». В случае каротиноидов (за исключением фотосинтетически высокоэффективного фукоксантола бурых водорослей) представляется более вероятным, что эти пигменты распределены каким-то другим, в настоящее время не известным, способом. Если верна схема Платта, в которой каротиноиды рассматриваются как «трубопроводы электронов» между возбужденной молекулой хлорофилла и акцепторами или донорами электронов, то некоторые молекулы каротиноидов должны быть связаны с ферментативными «реакционными центрами». По существу их присутствие и будет определять тогда эти центры.

5. ФОТОХИМИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА

Существуют другие данные, полученные в результате химических исследований, которые требуют уточнения описанной выше «фотофизической» схемы. Это — результаты исследований Красновского и сотрудников²⁸, Рабиновича и Вейса²⁹ и Баннистера³⁰, касающиеся способности хлорофилла к обратимому химическому восстановлению и окислению. Они указывают, что хлорофилл сенсibilизирует фотосинтез, претерпевая одну или обе эти обратимые реакции. На основании изучения «реакции Красновского» — обратимого фотохимического восстановления хлорофилла аскорбиновой кислотой и сенсibilизированного хлорофиллом восстановления различных окислителей этим же восстановителем (Евстигнеев и Гаврилова³¹, Баннистер³⁰) — представляется, что *in vitro* хлорофилл вначале восстанавливается до нестабильного продукта, — по-видимому, свободного радикала, который может быстро восстановить такие относительно слабые окислители, как сафранин Т или рибофлавин. Если эти активные промежуточные продукты не подвергаются тотчас обратному окислению, то они превращаются (по-видимому, путем дисмутации) в более устойчивую, нерадикальную, полностью восстановленную форму, которая в случае хлорофилла *a* имеет розовую окраску («эозинофил»). Измерения «дифференциальных спектров» клеток хлореллы (разницы между спектрами поглощения в темноте и освещенных клеток)³² свидетельствуют о том (но пока еще не доказывают), что эта форма восстановленного хлорофилла может накапливаться в клетках (вплоть до 0,3% от общего содержания хлорофилла) при световом насыщении фотосинтеза. Поскольку 0,3% ~ 1/300, эти результаты указывают, далее, на то, что при фотосинтезе молекула хлорофилла, непосредственно связанная с «реакционными центрами» и поэтому служащая «стоком энергии», возможно, восстанавливается (вероятно, только до нестабильного радикала, пока не наступает световое насыщение, и до валентно-насыщенного эозинофила, когда лимитирующая ферментативная реакция не успевает идти в ногу с поглощением света и наступает световое насыщение).

Картина механизма фотофизических и первичных фотохимических стадий фотосинтеза, очевидно, носит в высшей степени умоглядный характер и легко может оказаться неверной в отдельных частях или в

целом. Однако кажется заманчивым попытаться нарисовать такую картину, исходя из многочисленных и часто не связанных друг с другом данных, накопленных в настоящее время в исследованиях, выполненных в нашей и других лабораториях.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. См., например, Halbleiterproblem, т. I, статью M. Volz; т. IV, статьи H. Haken и W. Schottky.
2. E. Rabinowitch, Ann. Rev. Plant Physiol. 3, 229 (1953).
3. O. Wolken, J. Gen. Physiol. 37, 111 (1954).
4. J. B. Thomas, K. Minnaert and P. F. Elberts, Act. Botan. Néerland. 5, 315 (1956).
5. E. A. Hanson, Rev. trav. botan. Néerland. 36, 183 (1939).
6. E. E. Jacobs, A. S. Holt, R. Kromhout and E. Rabinowitch, Arch. Biochem., Biophys. 72, 495 (1957).
7. O. F. Bradley and M. Calvin, Proc. Nat. Acad. Sci. 42, 710 (1956); G. Tollin, P. B. Sogo and M. Calvin, J de Chim. phys. 55, 919 (1958); M. Calvin, P. B. Sogo, G. Tollin, Kearns, дискуссия.
8. J. C. Goedheer, Thesis, University of Utrecht, 1957.
9. A. Frey-Wyssling and E. Steinmann, Vierteljahresschr. Naturforsch. Ges. Zürich 98, 20 (1953); E. Steinmann, Expt. Cell Res. 3, 367 (1952); Experientia VIII, 8, 300 (1952).
10. L. M. N. Duysens, частное сообщение.
11. А. А. Красновский и Г. П. Брин, ДАН СССР 62, 163 (1948); А. А. Красновский и Л. М. Кособуцкая, ДАН СССР 91, 343 (1953); А. А. Красновский, Л. М. Кособуцкая и К. К. Войновская, ДАН СССР 92, 1201 (1953).
12. I. H. C. Smith, D. W. Kurke, J. E. Loeffler, A. Benitez, I. Ahrke, A. T. Giese, в сб. Research in photosynthesis, Int. Publ., N. Y., 1957, стр. 464; K. Shibata, J. Biochem (Japan) 44, 147 (1957).
13. S. S. Brody and E. Rabinowitch, Science 125, 585 (1957).
14. P. Latimer, T. T. Bannister and E. Rabinowitch, Science 124, 585 (1956).
15. S. S. Brody, Science 128, 838 (1958).
16. J. Franck, в сб. Handbuch der Pflanzenphysiologie (в печати); J. E. Brugger and J. Franck, Arch. biochem. Biophys. 75, 465 (1958); J. Franck, Proc. Nat. Acad. Sci. 44, 941 (1958).
17. W. Arnold and H. K. Sherwood, Proc. Nat. Acad. Sci. 43, 105 (1957).
18. J. R. Platt, в сб. Radiation Biology, Т. III, McGraw-Hill, N. Y., 1956, стр. 71.
19. H. Gaffron and K. Wohl, Naturwiss. 24, 81 (1936).
20. S. S. Brody and M. Brody (не опубликован).
21. J. Franck and F. Teller, J. Chem. Phys. 6, 861 (1938).
22. А. Н. Теренин и В. Л. Ермолаев, ДАН СССР 85, 547 (1952); В. Л. Ермолаев, Изв. АН СССР, сер. физ., 20, 514 (1956); В. Л. Ермолаев и А. Н. Теренин, J. de chim. physique 55, 698 (1958).
23. B. Commoner, J. Townsend and G. E. Rake, Nature 174, 689 (1954); B. Commoner, J. J. Heise and R. E. Norberg, Proc. Nat. Acad. Sci. 42, 71 (1956); B. Commoner, J. J. Heise, B. B. Lippincott, R. E. Norberg, J. V. Passonneau and J. Townsend, Science 126, 57 (1957).
24. M. Calvin and P. B. Sogo, Science 125, 499 (1957).
25. S. S. Brody (не опубликовано).
26. R. Emerson, R. Chalmers and C. Cederstrand, Proc. Nat. Acad. Sci. 43, 133 (1956); R. Emerson and R. Chalmers, Phycological Bull. 11, 51 (1958).
27. J. R. Platt, Science 129, 372 (1958).