

Биологические системы с переносом заряда

УДК 577.355.3

Математическая модель электронного и протонного транспорта в фотосинтетических системах оксигенного типа

А. В. Вершубский, В. И. Приклонский, А. Н. Тихонов

АЛЕКСЕЙ ВАЛЕНТИНОВИЧ ВЕРШУБСКИЙ — кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник кафедры физики колебаний Физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: биофизика фотосинтеза, биоэнергетика. E-mail kafedra@ru.ru

ВЛАДИМИР ИВАНОВИЧ ПРИКЛОНСКИЙ — кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, доцент кафедры математики Физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: математическое моделирование, математическая биология. E-mail priklongsky@physics.msu.ru

АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ ТИХОНОВ — доктор физико-математических наук, профессор, главный научный сотрудник кафедры биофизики Физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: биофизика фотосинтеза, биоэнергетика. E-mail an_tikhonov@mail.ru

119992 Москва, Ленинские горы, МГУ им. М.В. Ломоносова, Физический факультет, тел. (495)939-29-73.

Введение

Ключевым процессом биоэнергетики является синтез аденозинтрифосфата (АТФ, АТР) из аденозиндифосфата (АДФ, АДР) и ортофосфата (P_i). Этот процесс осуществляется за счет энергии внешних источников. У фототрофных организмов — это энергия солнечного света, усваиваемая высшими растениями, цианобактериями и фотосинтезирующими бактериями [1]. Фотосинтезирующие организмы оксигенного типа (растения и цианобактерии) имеют две фотосистемы — фотосистему 1 (ФС 1) и фотосистему 2 (ФС 2), которые используют энергию поглощенных квантов света для переноса двух электронов от молекулы воды (донор электронов в ФС 2) на НАДФ⁺ (конечный акцептор электронов в ФС 1). Образующиеся в ходе световых стадий фотосинтеза НАДФН и АТФ используются для синтеза углеводов в темновых стадиях (цикл Кальвина).

Структурно-функциональная организация фотосинтетического аппарата

Структурная и функциональная организации фотосинтетического аппарата растений, водорослей и фотосинтезирующих бактерий хорошо изучены (см. ссылки в [1–5]). Процессы фотосинтеза у высших растений протекают в хлоропластах — энергопреобразующих органеллах растительной клетки. Под оболочкой хлоропласта находятся мембраны ламелл, которые образуют замкнутые мембранные везикулы — тилакоиды. В мембранах тилакоидов содержатся электрон-транспортные комплексы и АТФ-синтазные комплексы фотосинтетического аппарата [1–10]. Переносчики электронов объединены в полиферментные комплексы — ФС 1, ФС 2, пластохинон-пластоцианин-

оксиредуктаза (*b/f*-комплекс) и ферредоксин-НАДФ-редуктаза. Свет, поглощаемый пигмент-белковыми комплексами, мигрирует к фотореакционным центрам ФС 1 и ФС 2, на которых происходит разделение зарядов. Обе фотосистемы (ФС 2 и ФС 1) связаны друг с другом цепью электронных переносчиков, благодаря чему осуществляется перенос электронов от молекулы воды, разлагаемой в ФС 2, к НАДФ⁺ — конечному акцептору электронов в ФС 1. Реакции электронного транспорта сопряжены с трансмембранным переносом протонов, в результате которых происходит снижение рН внутритилакоидного пространства и повышение рН стромы (внутреннее пространство хлоропласта между оболочкой и тилакоидами). Трансмембранная разность электрохимических потенциалов ионов водорода, создаваемая на тилакоидной мембране, является источником энергии для работы АТФ-синтазы, катализирующей синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата.

В нормальных физиологических условиях в строме обычно формируются грани — стопки уплощенных, тесно прижатых друг к другу тилакоидов, имеющих форму дисков. Продолжением гран являются выступающие из них и удаленные друг от друга межгранные тилакоиды. Характерной особенностью тилакоидных мембран является их сильно выраженная латеральная гетерогенность, обусловленная неравномерным распределением белковых комплексов: комплексы ФС 1 в основном сосредоточены в мембранах межгранных тилакоидов, а комплексы ФС 2 — в тилакоидах гран [11, 12]. Во взаимодействии пространственно удаленных белковых комплексов ФС 1 и ФС 2 важную роль играют диффузионно-контролируемые процессы, протекающие с участием мобильных электронных переносчиков (пластохинон, пластоцианин, ферредоксин).

Одной из наиболее актуальных задач биохимии и биофизики фотосинтеза остается выяснение механизмов регуляции фотосинтетических процессов, благодаря которым обеспечивается максимальная эффективность работы фотосинтетического аппарата [6–8]. Математическое моделирование давно применяется для изучения процессов электронного и протонного транспорта в хлоропластах [9,10,13–23]. Однако количественное описание биоэнергетических процессов в хлоропластах осложняется их пространственной неоднородностью.

В настоящей работе обобщены результаты наших исследований [14–19], посвященных математическому моделированию электронного и протонного транспорта в хлоропластах высших растений с учетом латеральной гетерогенности их ламеллярной системы.

Описание модели для изучения электронного и протонного транспорта по фотосинтетической цепи

Геометрические характеристики тилакоидной системы хлоропластов

На рис. 1 схематически показано пространственное строение хлоропласта, представленного как совокупность тилакоидов гран и межгранных тилакоидов. Стопки коаксиально расположенных уплощенных тилакоидов радиусом a соответствуют гранам. Межгранные тилакоиды моделируются более широкими цилиндрами радиусом b , которые выступают за пределы гранальных тилакоидов в область стромы. Внешний цилиндр (радиус b) включает в себя тилакоид грани (цилиндр радиусом a), который непрерывно переходит в межгранный тилакоид.

Процессы электронного транспорта

Нами рассмотрены процессы линейного (нециклического) транспорта электронов от молекулы воды к внешнему акцептору А, происходящие с участием ФС 1 и ФС 2 ($H_2O \rightarrow \text{ФС 2} \rightarrow \text{ФС 1} \rightarrow A$). Мы полагаем, что терминальный акцептор А содержится в избытке, что характерно для изолированных хлоропла-

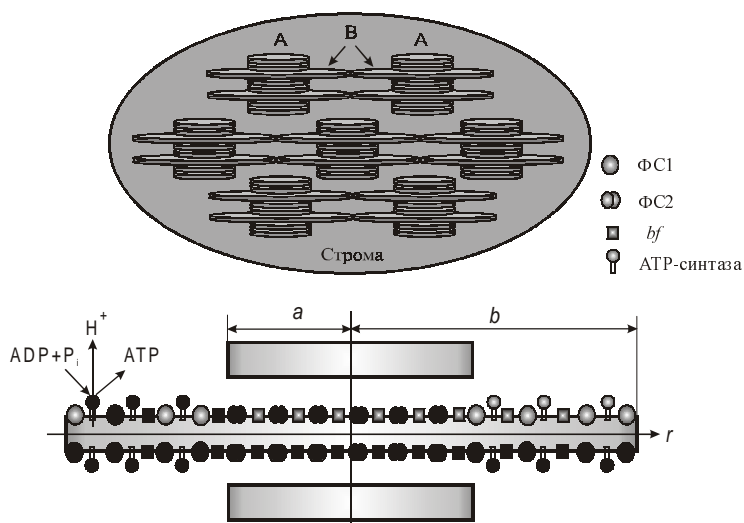


Рис. 1. Модель строения хлоропласта (верхняя схема) и расположение электрон-транспортных и АТФ-синтазных комплексов в тилакоидной мембране (нижняя схема)

А — тилакоиды гран; В — межгранные тилакоиды.

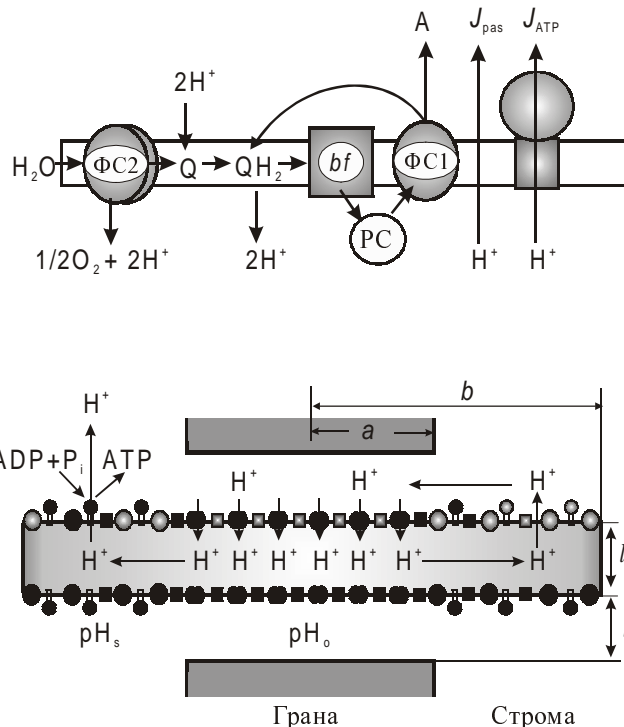


Рис. 2. Цепь электронного транспорта (верхняя схема) и пути переноса протонов (нижняя схема), рассматриваемые в модели
PC — пластоцианин

стов класса Б в присутствии экзогенного акцептора электронов. Кроме этого, рассматривается также циклический транспорт электронов, включающий перенос электронов вокруг ФС 1 ($\text{ФС 1} \rightarrow A \rightarrow bf \rightarrow \text{ФС 1}$). Циклический поток электронов, который не сопровождается восстановлением НАДФ⁺, вносит вклад в генерацию трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\mu_{H^+}$), обеспечивая тем самым синтез дополнительного количества молекул АТФ. Считается, что благодаря определенному сочетанию нециклического и циклического потоков электронов достигается оптимальное стехиометрическое соотношение АТФ : НАДФН = 3 : 2, необходимое для эффективного функционирования цикла Кальвина [24–27]. Все рассматриваемые нами процессы электронного транспорта схематически показаны на рис. 2 (верхняя схема).

Белковые комплексы ФС 1 и ФС 2, как известно [28–30], неравномерно распределены относительно тилакоидов гран и межгранных тилакоидов. Схема распределения ФС 1 и ФС 2 между тилакоидами гран (область А) и межгранными тилакоидами (область В) показана на рис. 1. Мы принимаем, что все комплексы ФС 2 расположены в гранальной области А. Комплексы ФС 1 расположены в мембранах межгранных тилакоидов, экспонированных в строму (область В). Цитохромные b/f -комплексы равномерно распределены между областями А и В. Макромолекулярные белковые комплексы ФС 1, ФС 2 и b/f считаются непод-

важными, их положение в тилакоидной мембране зафиксировано. Мобильные переносчики электрона — пластохинон и пластоцианин, связывающие ФС 2 с *b/f*-комплексами и *b/f*-комплексы с ФС 1, соответственно могут перемещаться в латеральном направлении. Молекулы пластохинона (Q) диффундируют в плоскости тилакоидной мембраны; молекулы пластоцианина (Pc) перемещаются в сравнительно узкой щели внутритилакоидного пространства (см. рис. 2, верхняя схема). Более подробное описание модели дано в работах [15—17].

Процессы протонного транспорта

Фотоиндуцированный транспорт электронов приводит к генерации трансмембранной разности рН. Это обусловлено тем, что процессы разложения воды в ФС 2 и окисления пластохинола (QH₂) *b/f*-комплексом сопровождаются выделением протонов внутри тилакоидов. В рамках нашей модели также рассматриваются процессы, приводящие к изменению активности ионов водорода в межтилакоидной щели (рис. 2, нижняя схема). Эти процессы включают в себя поглощение протонов из щели, сопряженное с восстановлением пластохинона на внешней (акцепторной) стороне ФС 2, и диффузию протонов из стромы в межтилакоидную щель. Наряду с транспортом протонов внутрь тилакоидов рассматриваются трансмембранные потоки протонов из тилакоидов наружу: поток протонов через АТФ-синтазу (поток $J_{\text{АТФ}}$), сопряженный с синтезом АТФ, и пассивная утечка протонов через тилакоидную мембрану (поток J_{pas}).

Для описания процессов протонного транспорта использовались переменные $H_i(\vec{r}, t) \equiv [H_i^+]$ и $H_o(\vec{r}, t) \equiv [H_o^+]$, соответствующие локальным концентрациям ионов водорода внутри тилакоида и в межтилакоидном пространстве гран. Величина рН в сравнительно узких щелях между тилакоидами гран (рН_o) может существенно повышаться вследствие потребления протонов на акцепторной стороне ФС 2; величина рН во внутритилакоидном объеме (рН_i) может понижаться вследствие разложения воды и окисления пластохинола *b/f*-комплексом.

В рассматриваемой системе ионы водорода могут диффундировать в водной фазе внутритилакоидного объема и в узкой щели межтилакоидного пространства грани. В модели учитывалось взаимодействие ионов водорода с протон-акцепторными группами (М), фиксированными на внутренней и внешней поверхностях тилакоидной мембраны ($H^+ + M^- \rightleftharpoons MH$).

Как было отмечено ранее [14], в условиях быстрого протонного обмена (реакция $H^+ + M^- \rightleftharpoons MH$) стационарные значения всех переменных не должны зависеть от буферных свойств системы. Однако связывание мембранными буферными группами протонов, диффундирующих в объемной водной фазе, может влиять на кинетику рН-зависимых процессов [16]. Нетрудно показать (см., например, [18]), что скорость диффузии протонов вдоль поверхности мембраны, содержащей кислотные группы, может существенно замедляться по сравнению с диффузией протонов в объемной водной фазе за счет многократных процессов связывания протонов/диссоциация. В расчетах мы принимаем, что значение рН в строме (рН_s) остается постоянным, т.е. значение рН_s является параметром

модели. В случае хлоропластов класса Б условие $pH_s \approx \text{const}$ выполняется за счет большой буферной емкости внешней среды и самих хлоропластов [31,32].

Система дифференциальных уравнений, описывающая динамику окислительно-восстановительных превращений электронных переносчиков и процессы латерального переноса протонов в межтилакоидной щели и во внутритилакоидном пространстве, приведена в работах [15—17].

Трансмембранный перенос протонов

Поток протонов из тилакоидов наружу, обусловленный существованием трансмембранной разности рН, можно представить в виде двух потоков — активного, сопряженного с синтезом АТФ, и пассивного, не связанного с работой АТФ-синтазы. Эти потоки задаются двумя функциями — $J_{\text{АТФ}}$ и J_{pas} , которые описывают локальные потоки ионов водорода в момент времени *t* в областях, примыкающих к участку тилакоидной мембраны с координатой \vec{r} .

При выводе уравнений для пассивного потока протонов J_{pas} была использована модель, основанная на предположении об участии кислотных групп тилакоидной мембраны, играющих роль посредника в процессах трансмембранного переноса протонов. Согласно модели [14], протон, находящийся внутри тилакоида, сначала связывается с внутримембранной протон-акцепторной группой М ($H_{\text{in}}^+ + M \rightleftharpoons MH^+$), а затем диссоциирует в строму ($MH^+ \rightleftharpoons M + H_{\text{out}}^+$). Связывание ионов водорода, находящихся внутри тилакоида, с протон-акцепторной группой характеризуется эффективной константой скорости k_1' , а ионов водорода, находящихся во внешнем пространстве, — эффективной константой скорости k_2' . Обратные реакции — диссоциация протона, принадлежащего внутренней и внешней сторонам мембраны тилакоида, характеризуются эффективными константами скоростей k_{-1}' и k_{-2}' , соответственно. Константы скоростей прямых и обратных реакций связаны соотношениями $k_1'/k_{-1}' = K_{M1}$ и $k_2'/k_{-2}' = K_{M2}$, где K_{M1} и K_{M2} — эффективные константы протонного равновесия для буферной группы М и ионов водорода внутри и снаружи тилакоидов, соответственно. Естественно предположить, что для фиксированных в мембране протон-акцепторных групп, вовлеченных в пассивный перенос протонов через мембрану, должно быть справедливо равенство $K_{M1} = K_{M2} \equiv K_M$. Нетрудно показать (см. подробнее [17]), что функция J_{pas} , описывающая пассивный поток протонов в рамках модели, имеет следующий вид:

$$J_{\text{pas}}(\vec{r}, t) = \frac{k_2'[H_i(\vec{r}, t) - H_o(\vec{r}, t)]}{10^{-pK_M}(1 + k_2'/k_1') + [H_i(\vec{r}, t) + H_o(\vec{r}, t) \cdot k_2'/k_1']} \quad (1)$$

где переменные $H_i(\vec{r}, t)$ и $H_o(\vec{r}, t)$ — локальные концентрации ионов водорода внутри тилакоида и с внешней стороны тилакоидной мембраны. В сравнительно узкой щели между гранальными тилакоидами (область А), т.е. при $0 \leq r \leq a$, концентрация $H_o(\vec{r}, t)$ является переменной величиной. Для межгранных тилакоидов (область В), т.е. при $a \leq r \leq b$, мы принимаем, что $H_o(\vec{r}, t) = 10^{-pH_s} = \text{const}$.

Очевидно, что уравнение для потока протонов через АТФ-синтазу, $J_{\text{АТФ}}$, в общем случае должно отличаться от уравнения (1), поскольку поток протонов, сопряженный с синтезом АТФ, включает в себя дополнительные стадии, обусловленные конструктивными особенностями АТФ-синтазного комплекса. Предложены различные модели работы АТФ-синтазы с учетом ее структурных и механохимических свойств [33–39]. Так, в работах [33–38] описаны сравнительно сложные вероятностные модели АТФ-синтазы, которые объединяют в себе традиционный кинетический и стохастический подходы. Эти модели позволяют достаточно реалистично описать работу АТФ-синтазы в режимах гидролиза и синтеза АТФ.

Однако нам представляется целесообразным для учета работы АТФ-синтазы воспользоваться более простой моделью, в которой поток протонов через АТФ-синтазу можно задать явным образом в виде функции локальных концентраций ионов водорода внутри и снаружи тилакоида, используя формулу, аналогичную формуле (1):

$$J_{\text{АТФ}}(\vec{r}, t) = J_0 \frac{k_2[H_i(\vec{r}, t) - H_o(\vec{r}, t)]}{10^{-pK_A}(1 + k_2/k_1) + [H_i(\vec{r}, t) + H_o(\vec{r}, t)] \cdot k_2/k_1} \quad (2)$$

где J_0 — нормировочный коэффициент; k_1 и k_2 — эффективные скорости переноса ионов водорода к протонируемой группе с внутренней и внешней сторон тилакоидной мембраны, соответственно.

Конкретные значения параметров в формулах (1) и (2), определяемых свойствами кислотных групп, вовлеченных в трансмембранный перенос протонов через АТФ-синтазу и в пассивный поток протонов, различаются. При выборе значения pK_A для АТФ-синтазного канала трансмембранного переноса протонов мы исходили из экспериментальных данных [40], согласно которым $pK_A \approx 7,1$. Выбор значения pK_M для мембранных протон-акцепторных групп, включенных в пассивный перенос протонов через мембрану, основывался на результатах расчетов, выполненных в работе [14]. Другое различие в описании пассивного и активного потоков заключается в том, что пассивный перенос протонов может происходить во всех областях тилакоидной мембраны (области А и В), в то время как перенос протонов, сопряженный с синтезом АТФ, происходит только в межграничных тилакоидах (область В), содержащих АТФ-синтазные комплексы (см. рис. 1).

Предполагая, что число образующихся молекул АТФ связано определенным стехиометрическим соотношением с числом протонов, прошедших через АТФ-синтазу, можно рассчитать скорость образования АТФ в момент времени t . Зная радиальную функцию $J_{\text{АТФ}}(r, t) = J_{\text{АТФ}}(|\vec{r}|, t)$, нетрудно определить суммарный поток протонов через АТФ-синтазу, и тем самым определить скорость образования АТФ:

$$J_{\text{АТФ}}(t) = \frac{k_{\text{АТФ}}}{m} \cdot \frac{2\pi}{b^2 - a^2} \int_a^b J_{\text{АТФ}}(r, t) r dr \quad (3)$$

где коэффициент $k_{\text{АТФ}}$ — параметр модели, определяемый количеством активных АТФ-синтазных комплексов, находящихся в стромальной части тилакоидной мембраны ($a \leq r \leq b$); m — стехиометрический коэффициент, равный числу протонов, перенесенных

через АТФ-синтазу, в расчете на одну синтезированную молекулу АТФ (согласно данным [41], $m \geq 4-5$). В условиях интенсивного синтеза АТФ (избыток субстратов фосфорилирования, состояние 3) мы полагаем $k_{\text{АТФ}} > 0$. В состоянии фотосинтетического контроля (недостаток субстратов фосфорилирования и избыток АТФ, состояние 4) $k_{\text{АТФ}} = 0$.

Методика численного интегрирования систем дифференциальных уравнений, описывающих поведение переменных $[P^+_{700}]$, $[Pc]$, $[Q]$, $[H_i^+]$ и $[H_o^+]$, а также выбор констант скоростей элементарных стадий электронного и протонного транспорта описаны в работах [15–17].

Исследование процессов переноса электронов и протонов в фотосинтетическом аппарате (результаты и обсуждение)

Синтез АТФ и трансмембранная разность рН в зависимости от числа активных АТФ-синтазных комплексов

Поток протонов $J_{\text{АТФ}}$ и трансмембранная разность рН ($\Delta pH = pH_o - pH_i$) зависят от числа активно функционирующих АТФ-синтазных комплексов (параметр $k_{\text{АТФ}}$). На рис. 3а приведены зависимости стационарной скорости синтеза АТФ ($J_{\text{АТФ}}$) от $k_{\text{АТФ}}$, рассчитанные для двух значений параметра модели pK_A . Видно, что при $pK_A = 7,0$ во всем диапазоне изменений параметра $k_{\text{АТФ}}$ ($0 < k_{\text{АТФ}} \leq 0,1$) скорость синтеза АТФ монотонно возрастает с увеличением параметра $k_{\text{АТФ}}$.

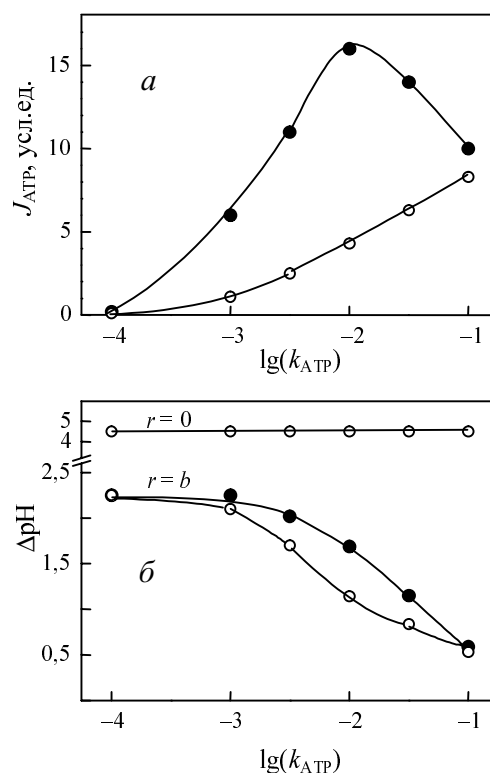


Рис. 3. Зависимости интегральной скорости синтеза АТФ $J_{\text{АТФ}}$ (а) и трансмембранной разности рН = рН_о - рН_и в центре ($r = 0$) и на периферии ($r = b$) тилакоида (б) от параметра $k_{\text{АТФ}}$.

Расчет при параметрах модели $l_o/l_i = 0,1$; pK_A : 7,8 (●); 7,0 (○).

Модифицированный вариант рисунка из [17].

При более высоких значениях pK_A , например 7,8, зависимость $J_{\text{АТФ}}$ от $k_{\text{АТФ}}$ приобретает немонотонный характер. Очевидно, что спад величины $J_{\text{АТФ}}$, наблюдаемый при достаточно высоких значениях параметра $k_{\text{АТФ}}$, вызван влиянием утечки протонов на трансмембранную разность pH . Действительно, расчеты показали, что чем интенсивнее выход протонов из тилакоидов наружу, тем сильнее защелачивается межтилакоидная щель и слабее закисляется внутритилакоидное пространство.

Расчеты показали, что трансмембранная разность pH ($pH = pH_o - pH_i$ в тилакоидах гран, $pH = pH_s - pH_i$ в межгранных тилакоидах), которая устанавливается в условиях освещения, неоднородна в направлении от центра грани к периферии. В условиях интенсивного синтеза АТФ различие в величинах pH_i в центре тилакоида и на его периферии становится более выраженным. Из рис. 3б видно, что трансмембранная разность ΔpH в центре грани ($r = 0$) остается практически неизменной ($\Delta pH \approx 4,5$) при разных значениях параметров pK_A и $k_{\text{АТФ}}$. Однако в межгранной области тилакоида ($a \leq r \leq b$) по мере увеличения числа активно функционирующих АТФ-синтазных комплексов ΔpH существенно снижается. На периферии межгранного тилакоида ($r = b$) устанавливается значение $\Delta pH \approx 0,7$. Отметим, что приведенные на рис. 3 зависимости, относятся к интегральной скорости синтеза АТФ, определяемой работой АТФ-синтазных комплексов всего межгранного тилакоида (уравнение (3)). Поэтому близким значениям ΔpH на периферии тилакоида ($r = b$) могут отвечать разные значения $J_{\text{АТФ}}$, получаемые при варьировании параметра pK_A .

Влияние pH стромы на скорость синтеза АТФ

На рис. 4 приведена зависимость стационарной скорости синтеза АТФ ($J_{\text{АТФ}}$) от pH внешней среды (pH_s), рассчитанная при $pK_A = 7,5$. Зависимость $J_{\text{АТФ}}$ от pH_s имеет немонотонный характер: с увеличением pH_s скорость синтеза АТФ возрастает, достигая максимального значения при $pH_s \approx 8,0$, при дальнейшем увеличении pH_s скорость синтеза АТФ уменьшается. Приведенная теоретическая кривая хорошо согласуется с экспериментальной зависимостью в интервале $pH_s = 6-8$. Основной причиной снижения скорости синтеза АТФ при уменьшении pH_s (в интервале 6-8) является уменьшение трансмембранной разности ΔpH в межгранных тилакоидах. Об этом свидетельствуют расчетные зависимости pH_i и pH_o от pH стромы (данные не приведены). Отметим, что в условиях интенсивного синтеза АТФ в центре грани ($r = 0$) происходит более сильное закисление внутритилакоидного пространства, чем в межгранной области ($a \leq r \leq b$). В тилакоидах грани ($0 \leq r \leq a$) сравнительно высокая трансмембранная разность pH ($\Delta pH_{\text{trans}}(r) = pH_o(r) - pH_i(r)$) сохраняется во всем интервале значений pH_s , чему способствует то обстоятельство, что в межтилакоидной щели сохраняется повышенное значение pH_o во всем интервале варьирования pH_s в строме. В то же время в межгранных тилакоидах ($a \leq r \leq b$) с понижением pH_s происходит заметное уменьшение трансмембранной разности ($\Delta pH_{\text{trans}} = pH_s - pH_i$).

При $pH_s > 8,0$ скорость синтеза АТФ уменьшается с ростом pH_s (см. рис. 4). Однако нам не удалось получить хорошего совпадения экспериментальной и

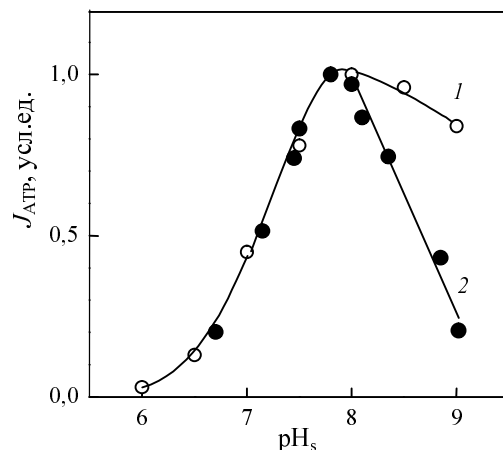


Рис. 4. Зависимости скорости синтеза АТФ от pH_s .

Теоретические зависимости (светлые символы) рассчитаны для $pK_A = 7,6$. Экспериментальные зависимости (темные символы) — данные работы [50]).

Модифицированный вариант рисунка из [17]

теоретической кривых в области $pH_s > 8,0$. Более сильный спад экспериментальной зависимости можно объяснить рядом причин, не учитываемых в модели. Одна из них состоит в том, что при высоких значениях pH_s активность фотосинтетического аппарата уменьшается, например, за счет инактивации белков при «щелочных» значениях pH . Кроме этого, необходимо иметь в виду, что работа АТФ-синтазного комплекса может описываться более сложной зависимостью от pH потока протонов $J_{\text{АТФ}}$ как внутри, так и снаружи тилакоидов, чем уравнение (2), использованное в настоящей работе для описания потока протонов через АТФ-синтазу.

Влияние диффузионных ограничений для протонов на латеральные профили pH внутри и снаружи тилакоидов

Одним из параметров рассматриваемой модели, который влияет на латеральные профили pH внутри тилакоидов и межтилакоидной щели, является коэффициент диффузии ионов водорода D_{H^+} . Этот параметр не поддается прямому измерению. Однако есть основания считать, что эффективный коэффициент диффузии ионов водорода вблизи поверхности мембраны заметно ниже, чем в объемной водной фазе [42,43]. Для выбора реалистичного значения параметра D_{H^+} мы воспользовались данными по скорости поглощения протонов хлоропластами (измеряемой с помощью pH -индикаторов). В работах [44, 45] было показано, что скорость поглощения протонов при функционировании ФС 2 зависит от структурной организации тилакоидной системы. В условиях, когда тилакоиды гран плотно упакованы (что соответствует малому расстоянию l_0 между соседними тилакоидами грани), характерное время изменения pH во внешней среде в ответ на действие короткой вспышки света, обусловленное поглощением протонов в результате работы ФС 2, составляет $t_{1/2} \approx 60-100$ мс. Заметим, что это время на два порядка превышает характерное время срабатывания ФС 2. Сравнительно медленное изменение pH во внешней среде объясняются тем, что диффузия протонов внутри узкой межтилакоидной

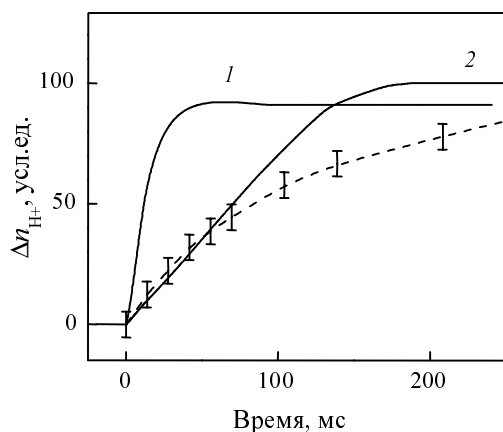


Рис. 5. Кинетические кривые поглощения протонов из внешней среды в ответ на кратковременное освещение хлоропластов (импульс света длительностью 1 мс).

Сплошные линии — теоретические кривые, рассчитанные для значений $D = 0,1D_0$ (кривая 1) и $D = 0,02D_0$ (кривая 2), D_0 — приведенный коэффициент диффузии протонов в объемной водной фазе [18]. Пунктирная линия — кинетика фотоиндуцированного уменьшения поглощения рН-чувствительного красителя (крезоловый красный) в суспензии хлоропластов гороха в ответ на короткую вспышку света. Кривая построена на основании экспериментальной зависимости, приведенной на рис. 2 в работе [45]. Рисунок заимствован из [18].

щели в сторону комплексов ФС 2 происходит существенно медленнее, чем в объемной фазе.

Рис. 5 демонстрирует кинетику убывающих протонов из внешней среды в ответ на кратковременное освещение (1 мс) хлоропластов в момент времени $t = 0$. Приведенные на рис. 5 данные были получены в предположении равенства коэффициентов диффузии для межтилакоидной щели и внутритилакоидного пространства. Видно, что поглощение протонов тилакоидами существенно замедляется при уменьшении коэффициента диффузии протонов. Для исследуемой системы получено, что при $D = 0,02D_0$ (где D_0 — приведенный коэффициент диффузии) характерное время рассматриваемого процесса составляет $t_{1/2} = 70$ мс, что согласуется с экспериментальными данными по кинетике изменения рН в суспензии хлоропластов в ответ на короткую вспышку света. Так, для хлоропластов шпината $t_{1/2} \approx 60$ мс [44], для хлоропластов гороха $t_{1/2} \approx 100$ мс [45]. При более быстрой диффузии протонов внутри межтилакоидной щели ($D = 0,1D_0$), как показали наши расчеты (см. рис. 5), поглощение протонов тилакоидами происходит существенно быстрее ($t_{1/2} \approx 11$ мс).

Как видно из сравнения расчетных кинетических кривых с экспериментальной кривой, воспроизводящей кинетику фотоиндуцированных изменений поглощения рН-чувствительного красителя [45], при значении параметра модели $D = 0,02D_0$ ход теоретической кривой на начальном участке (интервал времени 0—60 мс) хорошо согласуется с экспериментальными результатами. Некоторое расхождение экспериментальной и теоретической зависимостей при больших временах можно объяснить тем, что в рамках нашей модели не учитывается процесс диффузии ионов водорода в объемной водной фазе внешней среды [15—

17]. Нельзя также исключить того, что двухфазный характер экспериментальной кривой может быть обусловлен гетерогенностью тилакоидной системы. Тем не менее можно считать, что при выбранных нами геометрических параметрах тилакоидов и коэффициенте диффузии протонов $D = 0,02D_0$ теоретическая кривая в целом удовлетворительно описывает кинетику поглощения протонов при работе ФС 2. Подчеркнем, что для получения такого согласия приходится предположить, что коэффициент диффузии ионов водорода внутри узкого пространства вблизи от поверхности тилакоидной мембраны существенно ниже (приблизительно в 50 раз) коэффициента диффузии в объемной водной фазе. Это не удивительно, если учесть, что зазор между близлежащими тилакоидами гран очень мал, а выступающие из противоположных мембран молекулы белков тесно соприкасаются друг с другом [28—30].

Диффузионные ограничения для протонов, вызывающие замедление скорости обмена протонами между различными областями хлоропласта, могут приводить к появлению неоднородных латеральных профилей рН внутри тилакоида (pH_o) и в межтилакоидной щели (pH_i). На рис. 6 показаны стационарные латеральные профили рН внутри (pH_i) и снаружи (pH_o) тилакоида, рассчитанные для метаболических состояний 3 и 4. Приведенные кривые получены для коэффициента диффузии протонов $D = 0,02D_0$ и $D = 0,1D_0$ и различных значений геометрического параметра модели — ширины межтилакоидной щели l_o , фиксированное значение рН стромы равно $pH_s = 8$. Из рис. 6а,б видно, что профили внутритилакоидного рН(r) для состояний 3 и 4 заметно различаются. В условиях фотосинтетического контроля (рис. 6б, состояние 4) внутри тилакоида рН снижается сильнее, чем в условиях интенсивного синтеза АТФ (рис. 6а, состояние 3), когда происходит перенос протонов из тилакоидов наружу через активно функционирующие АТФ-синтазные комплексы. Для состояния 4 характерен однородный профиль внутритилакоидного рН, при этом, как видно из рис. 6б, степень понижения рН_i возрастает по мере увеличения ширины межтилакоидной щели l_o . В состоянии 3 за счет дополнительного потока протонов из тилакоидов наружу через АТФ-синтазные комплексы, локализованные в межгранных тилакоидах, устанавливается неоднородный профиль рН_i (рис. 6а). В гранальной области тилакоида рН_i снижается более заметно, чем в стромальной области внутритилакоидного пространства, откуда происходит интенсивный переход протонов наружу через АТФ-синтазные комплексы.

Расчеты также показывают, что освещение хлоропластов приводит к заметному повышению рН_o в щели между тилакоидами грани ($pH_o \approx 9,5—11$ в зависимости от параметров модели). Уменьшение активности ионов водорода (повышение рН_o) в межтилакоидной щели вызвано быстрым потреблением протонов, сопряженным с восстановлением пластохинона на акцепторном участке ФС 2. При этом приток протонов из стромы ($pH_s < pH_o$) не успевает компенсировать фотоиндуцированное уменьшение концентрации протонов в щели между близлежащими тилакоидами грани.

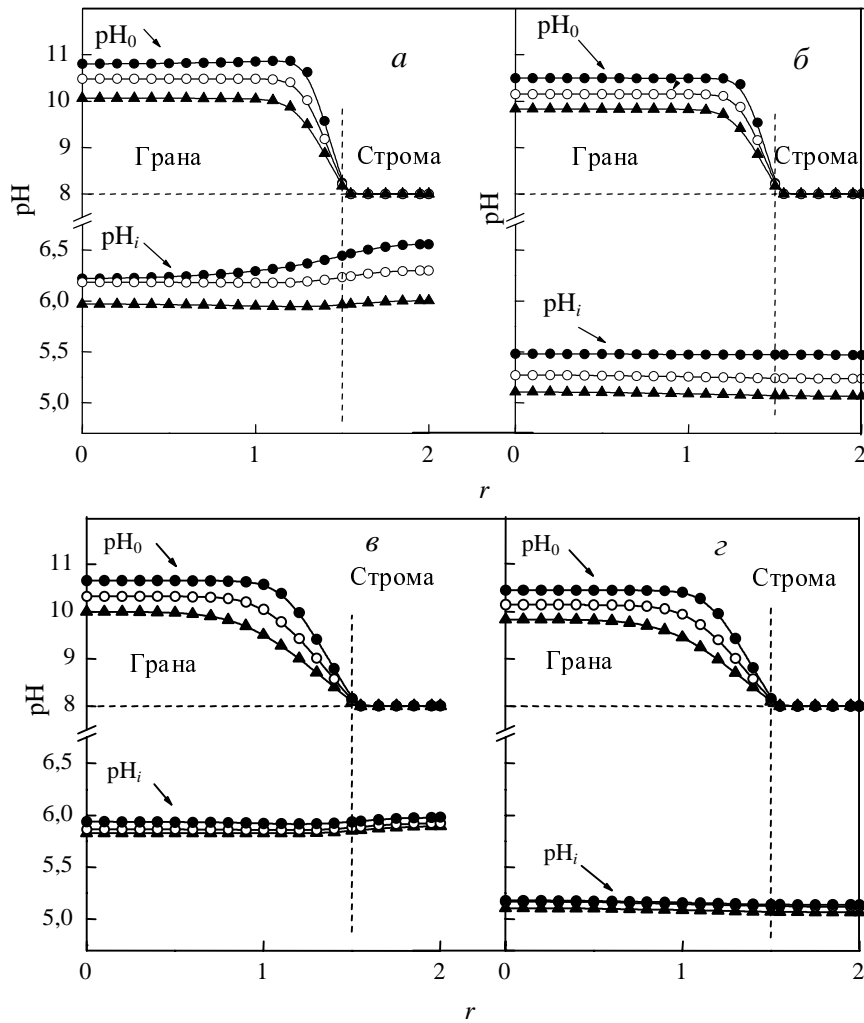


Рис. 6. Латеральные стационарные профили pH внутри (pH_i) и снаружи тилакоида (pH_o) в метаболических состояниях 3 (а, в) и 4 (б, г).

Расчет для коэффициента диффузии протонов $D = 0,02D_0$ (а, б) и $D = 0,1D_0$ (в, г) и различных значений параметра модели l_0/l_i : ● — 0,1, ○ — 0,2, ▲ — 0,4. D_0 — коэффициент диффузии протонов в воде. Рисунок заимствован из [18]

Нетрудно убедиться в том, что при $pH \approx 10-11$ количество свободных ионов водорода N_{H^+} , находящихся в малом объеме v , приходящемся на межтилакоидную щель, должно быть намного меньше единицы ($N_{H^+} = 10^{-pH} v \ll 1$). Как было показано в [46], для термодинамического описания малых систем можно пользоваться обычными понятиями химической термодинамики, такими как концентрация (активность) ионов водорода и химический потенциал ионов водорода (см. обоснование и подробное обсуждение данного вопроса в [46–48]). Это дает основание считать, что для описания диффузии протонов внутри тилакоида и в межтилакоидной щели правомерно применение математического аппарата, основанного на использовании дифференциальных уравнений, в которых в качестве переменных фигурируют концентрации ионов водорода.

На рис. 6 показано, каким образом стационарные профили $pH_o(r)$ и $pH_i(r)$ изменяются при варьировании размеров межтилакоидной щели. При увеличении толщины межтилакоидной щели l_0 (при толщине внутритилакоидного пространства $l_i = \text{const}$) фотоин-

дуцированное повышение pH в щели становится более слабым. Интересно, что степень закисления внутритилакоидного пространства и форма латерального профиля $pH_i(r)$ также чувствительны к размерам межтилакоидной щели. Очевидно, это является отражением того, что скорость нециклического транспорта электронов может контролироваться не только значением pH_i внутри тилакоидов (влияние pH_i на скорость окисления пластохинона b/f -комплексом [49–51]), но и величиной pH_o . Согласно теоретическим предсказаниям [15–18], общая скорость электронного транспорта в хлоропластах снижается не только при уменьшении pH_i , но и при увеличении pH_o , поскольку при уменьшении концентрации ионов водорода в межтилакоидной щели скорость протонирования восстановленной формы пластохинона снижается.

Другим фактором, который может влиять на латеральные профили $pH_o(r)$ и $pH_i(r)$, является скорость латеральной диффузии протонов внутри тилакоидов и в межмембранном пространстве. Латеральные профили $pH_o(r)$ и $pH_i(r)$, рассчитанные для $D = 0,1D_0$, показаны на рис. 6в,г для трех разных значений параметра l_0 .

Сравнение соответствующих кривых на рис. 6*в,г* и *а,б* показывает, что пятикратное увеличение коэффициента диффузии протонов приводит к изменению профилей $pH_0(r)$ лишь на периферии грани, в то время как значения pH_0 в центральной части ($r < 0,5$) остаются практически без изменений. В отличие от четко выраженных ступенеобразных профилей, характерных для медленной диффузии протонов ($D = 0,02D_0$), при $D = 0,1D_0$ профиль pH_0 в районе точки $r = a$ (граница стромальной и гранальной областей) становится более плавным. Из сравнения кривых на рис. 6 также видно, что увеличение параметра D во всех случаях приводит к небольшому уменьшению значений pH_i внутри тилакоида, а также к сглаживанию неравномерного профиля $pH_i(r)$, характерного для состояния 3 при низких значениях D . Это обусловлено тем, что ускорение диффузии протонов способствует более быстрому выравниванию концентрации протонов во всем внутритилакоидном объеме. Повышение скорости латеральной диффузии протонов в межтилакоидной щели в свою очередь способствует ускорению электронного транспорта в хлоропластах и тем самым ускоряет работу «протонных помп», обеспечивая более сильное снижение pH_0 внутри тилакоидов. Интересно также отметить, что при повышенных значениях D вид латерального профиля $pH_i(r)$ оказывается менее чувствительным к размерам межтилакоидной щели.

Влияние геометрических параметров и диффузионных ограничений для протонов на скорости электронного транспорта и синтеза АТФ

Рис. 7 показывает, как стационарные скорости нециклического электронного транспорта (J_e), синтеза АТФ ($J_{АТФ}$) и эффективность синтеза АТФ (отношение $J_{АТФ}/J_e$) меняются при варьировании размера межтилакоидной щели l_0 (при постоянной толщине внутритилакоидного пространства $l_i = \text{const}$). При значениях $D = 0,02D_0$ (кривые 1), соответствующем замедленной диффузии протонов внутри тилакоидов и в межтилакоидных щелях, стационарные скорости электронного транспорта и синтеза АТФ существенно ниже при плотной упаковке тилакоидов в грани ($l_0/l_i \approx 0,1$), чем в случае рыхлой упаковки ($l_0/l_i = 0,4$). При более высокой скорости диффузии протонов ($D = 0,1D_0$, кривые 2) влияние геометрического параметра l_0 на скорости электронного транспорта и синтеза АТФ становится очень слабым. В обоих случаях ($D = 0,02D_0$ и $D = 0,1D_0$) эффективность синтеза АТФ сравнительно слабо зависит от параметра l_0 .

Влияние метаболического состояния фотосинтезирующей системы на кинетику окислительно-восстановительных превращений P_{700}

Кинетика фотоиндуцированных окислительно-восстановительных превращений реакционного центра P_{700} существенно зависит от условий функционирования электрон-транспортной цепи. На рис. 8 приведены три набора кинетических кривых окислительно-восстановительных превращений P_{700} , полученных при различных соотношениях эффективных констант скоростей циклического и нециклического путей переноса электронов. Варьируя параметры модели, можно моделировать поведение системы в зависимости от метаболического состояния хлоропластов и при действии ингибиторов, блокирующих перенос электронов

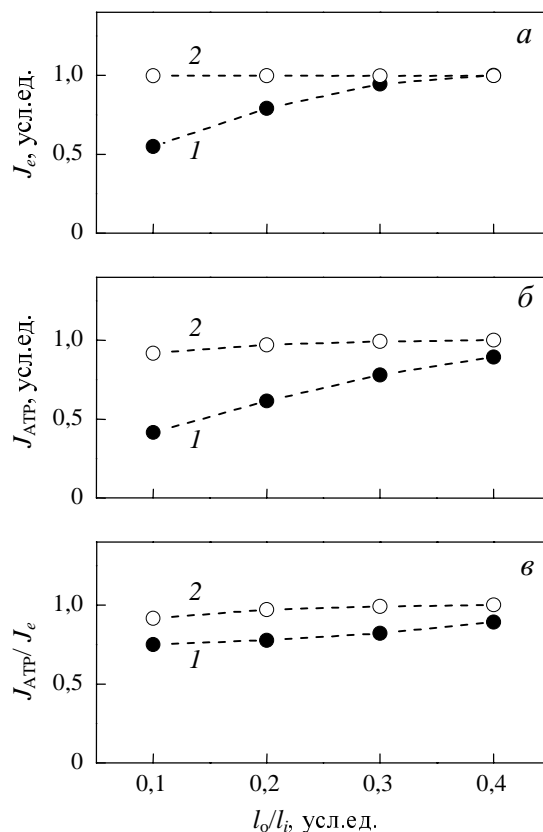


Рис. 7. Влияние ширины межтилакоидной щели l_0 (при $l_i = \text{const}$) и коэффициента диффузии протонов D на фотосинтетические процессы:

а — нециклический электронный транспорт (J_e); *б* — синтез АТФ ($J_{АТФ}$); *в* — эффективность фотосинтеза ($J_{АТФ}/J_e$); 1 — $D = 0,02D_0$; 2 — $D = 0,1D_0$.

Рисунок заимствован из [18]

на различных участках цепи электронного транспорта. Так, например, из рис. 8 видно, при разрыве цепи переноса электронов на участке *bf*-комплекса, имитирующем действие ингибитора дибромтимохинона, во всех трех случаях наблюдается сравнительно быстрое окисление P_{700} (кривые 1), обусловленное тем, что приток электронов к P_{700}^+ полностью блокирован. Если вклад циклического транспорта электронов невелик по сравнению с нециклическим потоком (рис. 8*а* и *б*), доминирующим источником электронов для ФС 1 является ФС 2. В этом случае при ингибировании ФС 2 также устанавливаются сравнительно высокие стационарные уровни P_{700}^+ (кривые 2). Однако при существенном увеличении вклада циклического потока электронов вокруг ФС 1 (рис. 8*в*) стационарная концентрация P_{700}^+ устанавливается на гораздо более низком уровне даже при ингибировании ФС 2.

Кинетические кривые фотоиндуцированного окисления P_{700} , рассчитанные для состояний 3 (в условиях интенсивного синтеза АТФ) и 4 (синтез АТФ не происходит), заметно различаются. В состоянии 3 стационарные концентрации P_{700}^+ всегда ниже, чем в состоянии 4. В последнем случае, когда нет синтеза АТФ и, соответственно, не происходит утечки прото-

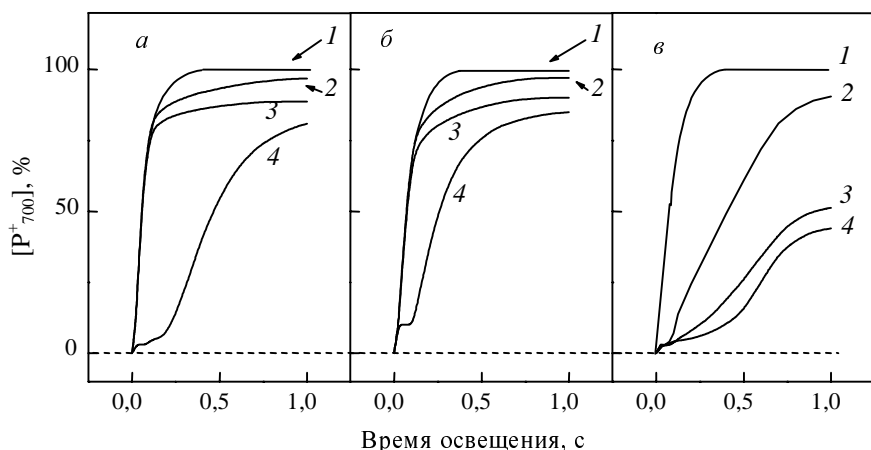


Рис. 8. Кинетические кривые фотоиндуцированных окислительно-восстановительных превращений реакционного центра P_{700} в зависимости от условий функционирования электрон-транспортной цепи:

a — нециклический транспорт; *б* — циклический и нециклический транспорт; *в* — циклический транспорт; 1 — ингибирование электронного транспорта на участке *bf*-комплекса; 2 — ингибирование ФС 2; 3 — электронный транспорт при ингибировании синтеза АТФ; 4 — электронный транспорт в условиях интенсивного синтеза АТФ. Рисунок заимствован из [19].

нов наружу через АТФ-синтазу, лаг-фаза, характерная для состояния 3, в состоянии 4 отсутствует. Это объясняется тем, что в состоянии 4 rH_i снижается гораздо быстрее, чем в состоянии 3, в результате в состоянии 4 приток электронов к P_{700}^+ быстро замедляется.

Влияние циклического транспорта электронов на кинетику синтеза АТФ

Варьирование соотношения между нециклическим и циклическим потоками электронов приводит не только к изменению кинетики окисления реакционного центра P_{700} (рис. 9*а*), но также сказывается на скорости синтеза АТФ (рис. 9*б*). Видно, что при увеличении вклада циклического транспорта электронов (рис. 9*б*, кривая 3) стационарный уровень АТФ воз-

растает. Этот результат объясняется тем, что функционирование цепи циклического транспорта электронов вокруг ФС 1 в хлоропластах обеспечивает более сильное снижение rH_i , что в свою очередь сопровождается дополнительным увеличением скорости синтеза АТФ, чем в случае нециклического транспорта электронов (рис. 9*б*, кривая 1).

Результаты расчетов, приведенные на рис. 9*б*, хорошо согласуются с представлениями о роли циклического транспорта электронов в поддержании оптимального баланса между процессами восстановления НАДФ⁺ и синтеза АТФ в хлоропластах, активно обсуждаемыми в последнее время (см. список литературы в [52]). Считается, что разветвление потока электронов на акцепторном участке ФС 1 на нециклический и циклический потоки позволяет повысить скорость образования АТФ за счет усиления

транспорта протонов внутрь тилакоидов. Благодаря этому достигается оптимальное соотношение между числом синтезируемых молекул АТФ и числом восстановленных молекул НАДФН, потребляемых в цикле Кальвина. Действительно, как показали наши расчеты, при возрастании доли циклического потока электронов наблюдается заметное увеличение уровня АТФ.

Влияние разветвления потока электронов на акцепторном участке ФС 1 на соотношение скоростей синтеза АТФ и нециклического транспорта электронов ($J_{АТФ}/J_N$) можно рассчитать по формулам, приведенным в [18]. Наши расчеты показали, что отношение $J_{АТФ}/J_N$ может существенно изменяться при варьировании параметров модели, определяющих распределение потоков электронов на акцепторном участке ФС 1. Величина $J_{АТФ}/J_N$ растет при увеличении доли циклического потока электронов. При параметрах модели, которым на рис. 9*б* соответствуют кривые 1–3, получаются следующие стационарные значения величины $J_{АТФ}/J_N$ (в относительных единицах): в условиях, когда вклад циклического транспорта электронов очень мал (кривая 1), отношение $J_{АТФ}/J_N = 1$; при равномерном разделении потока электронов на циклический и нециклический потоки (кривая 2) имеем $J_{АТФ}/J_N = 1,6$; в условиях, когда практически все электроны направляются в цепь циклического транспорта электронов (кривая 3), получается завышенное отношение $J_{АТФ}/J_N = 23,8$. Рассчитанное значение $J_{АТФ}/J_N$ пропорционально

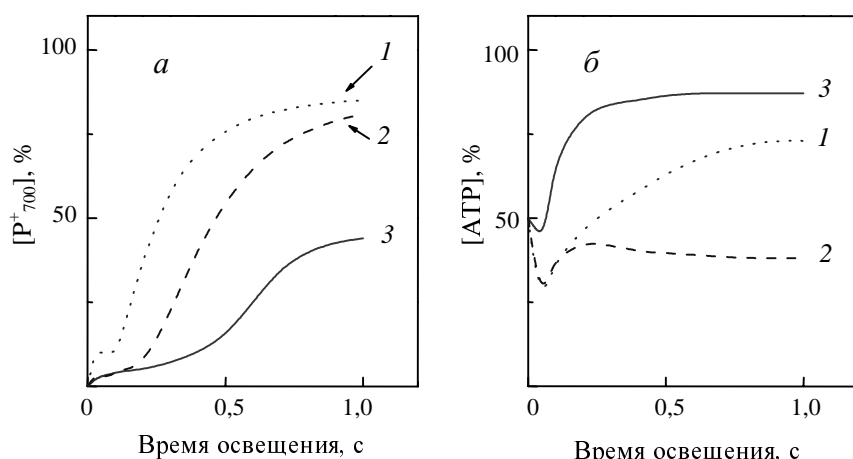


Рис. 9. Кинетические кривые фотоиндуцированного окисления реакционных центров ФС 1 (*а*) и производства АТФ (*б*).

Расчеты выполнены при разных соотношениях констант скоростей нециклического и циклического транспорта электронов.

1 — нециклический транспорт; 2 — циклический и нециклический транспорт; 3 — циклический транспорт. Рисунок заимствован из [19].

экспериментально измеряемому отношению стационарных скоростей синтеза АТФ и нециклического транспорта электронов. Известно, что в хлоропластах класса Б, у которых не работает цепь циклического транспорта электронов вследствие потери ферредоксина, число молекул АТФ, синтезируемых в расчете на два перенесенных по цепи электрона, составляет ≈ 1 [53, 54]. С другой стороны, считается, что для оптимального функционирования цикла Кальвина отношение [АТФ]/[НАДФН] должно быть равно 1,5 [52,55]. Недостающее число молекул АТФ может восполняться за счет функционирования цепи циклического транспорта электронов и/или работы Q-цикла Митчелла [52,55,56].

Заключение

В настоящей работе обобщены результаты наших исследований, посвященных математическому моделированию процессов электронного и протонного транспорта в хлоропластах высших растений с учетом латеральной гетерогенности ламеллярной системы. Моделирование этих процессов показало, что в хлоропластах могут устанавливаться неоднородные профили рН в тилакоидах гран и межгранных тилакоидах, которые зависят от метаболического состояния хлоропластов и скорости диффузии ионов водорода в примембранных слоях внутри и снаружи тилакоидов.

В рамках разработанной нами модели адекватно описаны основные закономерности кинетики фотоиндуцированных окислительно-восстановительных превращений реакционного центра P_{700} — первичного донора электронов ФС I. Результаты численных экспериментов свидетельствуют о том, что наряду с изменениями внутритилакоидного рН существенную роль в регуляции электронного транспорта в хлоропластах может играть защелачивание межтилакоидной щели, обусловленное замедлением диффузии ионов водорода из стромы к комплексам ФС 2, расположенным в тилакоидах гран.

Предложенная нами модель с учетом гибкой стехиометрии между реакциями электронного и протонного транспорта адекватно описывает процессы энергетического сопряжения в хлоропластах.

* * *

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 06-04-48620) и МНТЦ (грант № 2296).

ЛИТЕРАТУРА

- Blankenship R.E. Molecular Mechanisms of Photosynthesis. Blackwell Science, 2002.
- Zouni A., Witt H.-T., Kern J., Fromme P., Krauß N., Saenger W., Orth P. Nature, 2001, v. 409, p. 739–743.
- Jordan P., Fromme P., Witt H.-T., Klukas O., Saenger W., Krauß N. Ibid., 2001, v. 411, p. 909–917.
- Abrahams J.P., Leslie A.G.W., Lutter R., Walker J.E. Ibid., 1994, v. 370, p. 621–628.
- Stock D., Leslie A.G.W., Walker J.E. Science, 1999, v. 286, p. 1700–1705.
- McCarty R.E., Evron Y., Johnson E.A. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 2000, v. 51, p. 83–109.
- Foyer C.H., Noctor G. J. Exp. Botany, 2000, v. 51, p. 15–19.
- Allen J. Trends Plant Sci., 2003, v. 8, p. 27–32.
- Рубин А.Б., Шинкарев В.П. Транспорт электронов в биологических системах. М.: Наука, 1984.
- Кукушкин А.К., Тихонов А.Н. Лекции по биофизике фотосинтеза высших растений. М.: Изд-во МГУ, 1988.
- Anderson J., Melis A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1983, v. 80, p. 745.
- Anderson B., Haehnel W. FEBS Lett., 1982, v. 146, p. 13–17.
- Каравая В.А., Кукушкин А.К. Биофизика, 1993, т. 38, № 6, с. 958–975.
- Дубинский А.Ю., Тихонов А.Н. Там же, 1997, т. 42, № 3, с. 644–660.
- Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н. Там же, 2001, т. 46, № 3, с. 471–481.
- Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н. Биологические мембраны, 2003, т. 20, № 2, с. 184–192.
- Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н. Биофизика, 2004, т. 49, № 1, с. 57–71.
- Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н. Биохимия, 2004, т. 69, № 9, с. 1251–1260.
- Вершубский А.В., Приклонский В.И., Тихонов А.Н. Ж. физ. химии, 2006, т. 80, № 3, с. 552–559.
- Hope A.B. Biochim. Biophys. Acta, 2000, v. 1456, p. 5–26.
- Kirchhoff G.E., Horstmann S., Weis E. Ibid., 2000, v. 1459, p. 148–164.
- Berry S., Rumberg B. Bioelectrochemistry, 2000, v. 53, p. 35–53.
- Лебедева Г.В., Беляева Н.Е., Демин О.В., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Биофизика, 2002, т. 47, № 6, с. 1044–1058.
- Bendall D.S., Manasse R.S. Biochim. Biophys. Acta, 1995, v. 1229, p. 23–38.
- Joliot P., Joliot A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, v. 99, p. 10209–10214.
- Munekage Y., Hojo M., Meurer J., Endo T., Tasaka M., Shikanai T. Cell., 2002, v. 110, p. 361–371.
- Munekage Y., Hashimoto M., Miyake C., Tomizawa K.-I., Endo T., Tasaka M., Shikanai T. Nature, 2004, v. 429, p. 579–582.
- Albertsson P.-A. Photosynth. Res., 1995, v. 46, p. 141–149.
- Allen J., Fosberg J. Trends Plant Sci., 2001, v. 6, p. 317–326.
- Albertsson P.-A. Ibid., 2001, v. 6, p. 349–354.
- Хомутов Г.Б., Гильмиярова С.Г., Тихонов А.Н. Биологические мембраны, 1989, т. 6, с. 995–1008.
- Khomutov G.B., Gilmyarova S.G., Tikhonov A.N. Current Topics in Biophysics, 1996, v. 20, p. 31–35.
- Elston T., Wang H., Oster G. Nature, 1998, v. 391, p. 510–513.
- Wang H., Oster G. Ibid., 1998, v. 396, p. 279–282.
- Oster G., Wang H. Biochim. Biophys. Acta, 2002, v. 1458, p. 482–510.
- Panke O., Rumberg B. FEBS Lett., 1996, v. 389, p. 196–200.
- Panke O., Rumberg B. Biochim. Biophys. Acta, 1999, v. 1412, p. 118–128.
- Cherepanov D.A., Mulkidjanian A.Y., Junge W. FEBS Lett., 1999, v. 449, p. 1–6.
- Jain S., Nath S. Ibid., 2000, v. 476, p. 113–117.
- Rastogi V.K., Girvin M.V. Nature, 1999, v. 402, p. 263–278.
- Tomashuk J.J., Brusilow W.S.A. J. Bioenerg. Biomembr., 2000, v. 32, p. 493–500.
- Nagle J.F. Ibid., 1987, v. 19, p. 413–426.
- Verkman A.S. Trends in Biochemical Sciences, 2002, v. 27, p. 27–33.
- Auslander W., Junge W. Biochim. Biophys. Acta, 1974, v. 357, p. 285–298.
- Junge W., Polle A. Ibid., 1986, v. 848, p. 265–273.
- Blumenfeld L.A., Grosberg A.Yu., Tikhonov A.N. J. Chem. Phys., 1991, v. 95, p. 7541–7549.
- Blumenfeld L.A., Tikhonov A.N. Biophysical Thermodynamics of Intracellular Processes. Molecular Machines of the Living Cell. Spinger-Verlag, N. Y., 1994.
- Тихонов А.Н., Блюменфельд Л.А. Биофизика, 1985, т. 30, с. 527–537.

49. *Rumberg B., Siggel U.* Naturwissenschaften, 1969, Bd. 56, S. 130–132.
50. *Tikhonov A.N., Khomutov G.B., Ruuge E.K., Blumenfeld L.A.* Biochim. Biophys. Acta, 1981, v. 637, p. 321–333.
51. *Kramer D.M., Sacksteder C.A., Cruz J.A.* Photosynth. Res., 1999, v. 60, p. 151–163.
52. *Joliot P., Joliot A.* Biochim. Biophys. Acta, 2006, v. 1757, p. 362–368.
52. *Kramer D.M., Sacksteder C.A., Cruz J.A.* Photosynth. Res., 1999, v. 60, p. 151–163.
53. *Gould J.M., Izawa S.* Biochim. Biophys. Acta, 1973, v. 314, p. 211–223.
54. *Ort D.R.* Arch. Biochem. Biophys., 1975, v. 166, p. 629–638.
55. *Tremmel I.G., Kirchhoff H., Weis E., Farquhar G.D.* Biochim. Biophys. Acta, 2003, v. 1607, p. 97–109.
56. *Rathenow M., Rumberg B.* Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem., 1980, Bd. 84, S. 1059–1062.