

чатки, фиксированной глутаровым альдегидом. В импульсных опытах наблюдалось значение 2, отвечающее $f = 0,7$. Значение времени вращательной диффузии τ зависит от вязкости среды η , температуры и размеров хромофорной молекулы. Согласно Эйнштейну, для сферы радиуса r , испытывающей броуновское вращение вокруг некоторой оси,

$$\tau = \frac{8\pi r^3}{\kappa T} \eta. \quad (14.10)$$

При 20°C время τ для родопсина имеет значение около 20 мкс, $r = 2,2-2,8$ нм, родопсин приближенно сферичен и погружен в мембрану. Отсюда следует, что вязкость мембраны η около $0,2$ Па·с (интервал от $0,07$ до $0,6$ Па·с), т. е. она близка к вязкости легкого масла, такого, как оливковое.

При поворотах молекулы родопсина, возникающих вследствие его конформационных превращений, меняется степень погружения родопсина в жидкую билипидную мембрану, что существенно для изменения ее ионной проницаемости.

Найденная константа диффузии для палочек из сетчатки лягушки равна $3,5 \pm 1,5 \cdot 10^{-9}$ см²·с⁻¹. Вязкость мембраны оказалась лежащей в том же интервале значений $0,1-0,4$ Па·с. Время между столкновениями соседних молекул родопсина в сетчатке τ_c находится по формуле

$$s^2 = 4D\tau_c, \quad (14.11)$$

где s — расстояние между молекулами родопсина. Если эффективный диаметр родопсина $4,5$ нм, а расстояние между центрами молекул 7 нм, то $s = 2,5$ нм и $\tau_c = 4$ мкс, что в 5 раз меньше времени релаксации вращательной диффузии. Частота соударений составляет 10^5-10^6 с⁻¹.

Эти результаты, полученные Коном и др., весьма интересны. Они дают основу для построения теории функционирования мембран, исходящей из их жидкостных свойств (ср. с. 337). Мы еще очень мало знаем о событиях, приводящих к возникновению первого импульса в фоторецепторной системе. Можно думать, что эти события тесно связаны с поведением жидкой мембраны.

§ 14.7. Бактериородопсин

Родопсин функционирует не только в сетчатке глаза. В определенной области мембранной поверхности красных галобактерий (*Halobacterium halobium*) содержится белок бактериородопсин (БР). БР имеет м. м. 26 000, он состоит из одной молекулы белка, связанной с молекулой ретиналя через альдиминную связь. Максимум полосы поглощения БР лежит у 570 нм. *Галобактерии* — экстремальные галофилы, живущие в соленых озерах. Они обладают положительным фототаксисом на видимый свет и отрицательным — на ультрафиолетовый.

Вместе с липидами БР составляет систему, обеспечивающую транспорт протонов через мембрану против градиента рН. БР функционирует как фотоиндуцированный протонный насос (Остерхельт и Стекениус, 1971).

Работа протонного насоса в галофильных бактериях сопряжена с фосфорилированием АДФ и с работой натриевого насоса, обеспечивающей опреснение внутренней среды бактериальной клетки.

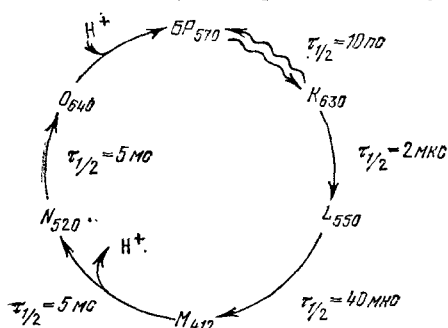


Рис. 14.25. Цикл функционирования бактериородопсина

По-видимому, теория Митчелла (§ 13.3) применима к этой системе. Имеются данные, указывающие на то, что зрительный родопсин также работает как фотогенератор, выполняя роль протонного насоса.

В отличие от мембран палочек и колбочек пурпурная мембрана бактерий является скорее кристаллической, чем жидкой. Молекулы БР сгруппированы в кластеры по три и упакованы в

гексагональную решетку, помещенную в плотный липидный матрикс. В середине кластера находится канал диаметром в 1—2 нм. Молекула БР α -спирализована на 70—80%. Каждая молекула содержит 7 палочкообразных α -спиралей длиной 3,5—4 нм, ориентированных перпендикулярно плоскости мембраны. Размеры белка $2,5 \times 3,5 \times 4,5 \text{ нм}^3$. БР пронизывает мембрану насквозь и контактирует с водными фазами по обе ее стороны. Молекулы БР асимметричны (см. с. 335). Из величины переходного дипольного момента ретиналя (12 дебаев) следует, что при поглощении света электрон переносится на расстояние, сравнимое с расстоянием между концевыми группами ретиналя — циклогексеновым кольцом и шиффовым основанием.

В процессе фотоиндуцированного транспорта протонов происходят изменения конформации БР и его спектра. Светоадаптированная форма БР₅₇₀ входит в цикл фотоиндуцированных реакций с образованием ряда промежуточных соединений, что сопровождается переносом H^+ через мембрану и регенерацией исходной формы БР₅₇₀. Схема цикла показана на рис. 14.25. В результате одного оборота цикла при поглощении одного кванта света через мембрану переносится один протон. В определенной фазе цикла БР выделяет протон в кислую среду (рН 3,0), находящуюся по одну сторону мембраны. В другой фазе та же группа поглощает протон из щелочной среды (рН 12,0), находящейся с другой стороны мембраны.

Чернавская и Чернавский (1978) рассмотрели этот процесс на основе туннельного транспорта электронов, приводящего к внутримолекулярной трансформации энергии (см. § 13.4). Мо-

дель состоит из двух потенциальных ям, разделенных барьером (рис. 14.26). Ямы отвечают электрофильным группам — циклогексеновому кольцу ретиналя и азоту лизила (соединенному с ретиналем в шиффовом основании). В яме *I* имеются два уровня, расстояние между которыми равно энергии поглощаемого кванта. Уровень второй ямы несколько ниже верхнего уровня первой. Электрон возбуждается светом в яме *I*, туннелирует с верхнего уровня в яму *II*. Вследствие приближения протона происходит поляризация ямы *II*, сопровождающаяся понижением электронного уровня. Оказавшаяся заряженной положительно, поляризуется и яма *I* — электронные уровни в ней повышаются. Дальнейшее понижение уровня во *II* и повышение в *I* происходят в результате конформационных изменений, имеющих характер релаксации к новому равновесному состоянию, отвечающему новому распределению зарядов. После этого происходит обратное туннелирование электрона из *II* на нижний уровень *I*, новая поляризация обеих ям и конформационная релаксация к исходному состоянию. Цикл завершается. Условия резонанса, необходимые для туннелирования, обеспечиваются поляризацией и конформационными переходами.

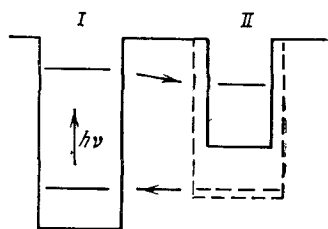


Рис. 14.26. Две электрофильные группы, разделенные барьером

Изменение свободной энергии протона при туннелировании электрона из *I* во *II* равно

$$\Delta G = \frac{e^2}{\epsilon} \left(\frac{1}{r_2} - \frac{1}{r_1} \right), \quad (14.12)$$

где $e = 4,8 \cdot 10^{-10}$ ед. СГСЭ — заряд электрона, $\epsilon \approx 5$ — диэлектрическая проницаемость, r_2 — расстояние протона до центра ямы *II*, r_1 — до центра *I*. Для протона, расположенного близко к азоту шиффова основания и участвующего в его протонировании, $r_2 = 0,25$ нм, $r_1 = 1,3$ нм, тогда $\Delta G \approx 1$ эВ. Соответствующее изменение константы диссоциации этой группы $\Delta pK = \Delta G/2,3kT = 17$. Изменение pK при обратном туннелировании того же порядка, но обратного знака. Эти оценки показывают, что изменения свойств рассматриваемой группы в результате туннелирования электрона могут покрыть весь интервал наблюдаемых pH — от 3 до 12.

Понижение электронного уровня для поляризации выражается сходным образом:

$$\Delta E = \frac{e^2}{\epsilon} \left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right), \quad (14.13)$$

где r_1 и r_2 — расстояния протона от центра ямы до и после по-

ляризации. При $r_2 = 0,25$ нм и $r_1 = 0,15$ нм находим $\Delta E = 0,75$ эВ. Сдвиги уровней в результате конформационных изменений того же порядка. Сближение уровней, необходимое для обратного процесса, может быть реализовано.

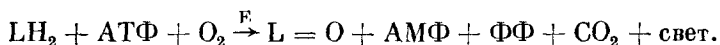
Процесс состоит в протонировании шиффова основания, выделения и захвата этого и других протонов, в поляризации и ротамеризации ретиналя и родопсина. Нельзя считать, что эти явления изучены, несмотря на ряд интересных спектроскопических и кинетических исследований. Схема, предложенная Чернавскими, не противоречит имеющимся результатам, но нуждается в прямых подтверждениях.

Свойства бактериородопсина представляют существенный интерес для *биоэлектроники* — для создания искусственных запоминающих устройств на биологической основе. Полимерные пленки, содержащие БР, изменяют свой цвет при освещении, на них могут быть получены изображения, подобные фотографическим. В отличие от фотоэмульсий, содержащих бромистое серебро, изменения пленок с БР обратимы. В принципе такие пленки могут быть применены в компьютерах.

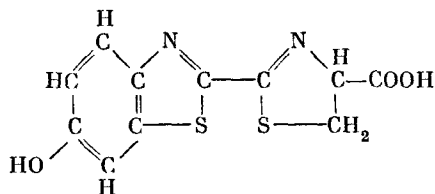
§ 14.8. Билюминесценция

К фотобиологическим явлениям относится билюминесценция — холодное свечение ряда живых организмов, начиная с бактерий и кончая рыбами (светящиеся представители других классов позвоночных не известны). Билюминесценция более свойственна морским организмам, но всем хорошо известны жуки-светляки северных широт (*Lampyrus noctiluca*) и летающие светляки черноморского побережья Кавказа (*L. mingrelica*).

Билюминесценция есть хемилюминесценция — химическая реакция, сопровождающаяся испусканием видимого света (у различных летающих светляков длины волн лежат в интервале 550—595 нм). В реакции участвуют фермент *люцифераза* (E), окисляемый субстрат *люциферин* (LH_2), кислород воздуха и АТФ:



Здесь ФФ — пирофосфат. Строение люциферина летающего светляка:



Это — карбоновая кислота, которая активируется в ходе реакции, идущей с участием АТФ с превращением в люцифериладе-