

УСПЕХИ ФИЗИЧЕСКИХ НАУК**К ВОПРОСУ О МИГРАЦИИ ЭНЕРГИИ
ПРИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ****А. Н. Теренин и А. А. Красновский**

Физик Н. Риль, известный своими работами по люминесценции кристаллов, развивает в статье, недавно вышедшей в настоящем журнале¹, представление о миграции энергии в биологических системах, основанное на уподоблении этих систем неорганическим полупроводникам — фосфóрам, в которых, при возбуждении квантом света, электрон может перейти в зону проводимости. Аналогичная концепция была также выдвинута известным венгерским биологом А. Сент-Дьерди². В более расплывчатой формулировке представление об электронной проводимости привлекалось и ранее некоторыми биохимиками к объяснению действия ферментов³. Н. Риль в своей статье приводит ряд экспериментальных обоснований такой точки зрения и даёт развёрнутую физическую картину, охватывающую широкий круг биокаталитических процессов. Однако представленные упомянутыми авторами опытные доказательства трудно считать убедительными, и предложенная в статье Н. Риль теоретическая трактовка белка как полупроводника, по нашему мнению, встречает серьёзные возражения.

Один из нас (А. Н. Теренин) в своей речи на всесоюзном совещании по фотосинтезу⁴ уже указывал на то, что перенесение на белок представлений из теории полупроводников пока лишено достаточных оснований, и он же наметил вкратце те выводы для биохимии, которые вытекают из подвижности электрона и протона в органических соединениях⁵).

Перейдём к более детальному рассмотрению вопроса.

**ОБ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ МИГРАЦИИ
ЭНЕРГИИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ**

В качестве *experimentum crucis*, доказывающего факт передачи энергии в белковой молекуле на значительные расстояния, Риль приводит опыты Бюхера по фотохимическому разложению комплекса CO + миоглобин, не приводя литературной ссылки; повидимому,

⁵) Более подробное изложение этой точки зрения будет дано в статье, намеченной к опубликованию в настоящем журнале.

речь идёт об опубликованной в прошлом году работе Бюхера и Касперса⁵. В этой работе был измерен квантовый выход реакции фотохимического разложения соединения $\text{CO} + \text{миоглобин}$ под действием длин волн 280, 313, 334, 366 и 546 м μ . Величина квантового выхода оказалась равной $1 \pm 0,1$ во всех участках спектра. Была измерена в той же спектральной области и величина молярного коэффициента погашения как $\text{CO} + \text{миоглобина}$, так и отдельно геминового компонента этого соединения, непосредственно связывающего CO . Спектры поглощения оказались полностью совпадающими, от видимой части до длины волны 320 м μ . Это указывало на то, что в этой части спектра поглощает свет исключительно геминовый компонент. Различие спектров заметно только в более коротком участке спектра: $\text{CO} + \text{миоглобин}$ имеет максимум при 280 м μ , $\text{CO} + \text{гемин}$ — при 265 м μ *). Поглощение геминового компонента при 280 м μ на 40% ниже по сравнению со спектром поглощения миоглобинового комплекса.

Из того факта, что значения квантового выхода практически одинаковы и равны единице во всех участках спектра, авторы делают вывод, что кванты света с длиной волны 280 м μ , поглощаемые не только геминовым, но и белковым компонентом, а именно ароматическими кольцами тирозина и триптофана, распределёнными по всей массе белка миоглобина, — используются для отщепления CO от геминовой части системы.

В статье Рилиа этот факт интерпретируется в решающем смысле для его концепции миграции электронной энергии; он пишет: «Квантовая энергия перемещается без всяких потерь через всю большую белковую молекулу к геминовой группе».

Между тем неясен основной вопрос: каким образом происходит отщепление CO от гемина при поглощении света последним? То обстоятельство, что отрыв CO от миоглобина идёт с измеримой скоростью также и без освещения даже при 0°С, указывает на слабую связь CO с гемом, для разрыва которой оказывается достаточно подвести несколько *ккал/моль* термической энергии.

При поглощении кванта уже в первом максимуме, расположенном в видимой области (около 570 м μ), молекуле гемина подводится энергия в 50 *ккал/моль*, которая полностью преобразуется во внутримолекулярные вибрации, как об этом свидетельствует отсутствие у гемина флуоресценции. Достаточно небольшой части этой энергии, чтобы вызвать отщепление CO ⁶. Вибрационная энергия будет подводиться к связи гемин- CO с избытком при поглощении квантов ещё большей величины в максимумах ультрафиолетового спектра гемина.

*) Следует подчеркнуть, что авторами измерялся спектр поглощения геминового компонента, отделённого от белкового носителя, между тем не исключена возможность, что в связанном состоянии максимум спектра геминового компонента будет ещё более близок к максимуму спектра комплекса $\text{CO} + \text{миоглобин}$.

Этим объясняется необычное для фотохимических реакций распада постоянство квантового выхода, сохраняющего значение, равное единице на широком протяжении спектра поглощения гемина, начиная от видимой области. Усиление выделения СО под действием света, поглощаемого гемом, следует с этой точки зрения трактовать, как своего рода внутренний разогрев молекулы, доставляющий на вибрацию связи гемин-СО требующуюся сравнительно небольшую энергию диссоциации. Как известно, расщепление валентной связи даже в сложных молекулах происходит не непосредственно при подведении электронной энергии возбуждения, а только в последующем процессе преобразования энергии возбуждения в движение ядер.

При освещении миоглобина, содержащего гемин, в максимуме 280 м μ происходит, наряду с описанным выше процессом, поглощение тирозиновыми и триптофановыми структурными звеньями белка квантов с энергией в 100 ккал. При обычно происходящей деградации поглощённой энергии в вибрационную энергию вполне мыслимо распространение значительных порций энергии вибрации по жёстко связанной цепи главных валентностей белка до подвижных атомов водорода, точнее — протонов, образующих мостики «водородной» связи между структурными звеньями белка. В результате такой активации может произойти перенос протона от одного звена к другому с соответствующей валентной перегруппировкой весьма протяжённой системы, наподобие известной реакции таутомерии органических соединений⁴. Перенос протона под действием света между сопряжёнными молекулами был установлен у нас прямым опытом⁷. Энергия, освобождающаяся при такой обратимой реакции «макротаутомерии», переносится по участвующим в ней валентным связям на большие расстояния в виде потенциальной энергии, растрачиваясь затем на вибрации большой амплитуды. Повидимому, таким именно путём гемину доставляется требующаяся для отщепления СО небольшая порция вибрационной энергии^{*)}. В белке мигрирует не электронная энергия возбуждённого уровня (экситон) и отнюдь не свободный электрон в зоне проводимости, а потенциальная энергия вибраций, создаваемая внезапной таутомерной перегруппировкой структурного скелета миоглобина, как единого целого. Можно говорить лишь о перегруппировке валентных электронов, затрагивающей одновременно большое число атомов. Миграция кванта электронной энергии, как такового, в белке невероятна из-за отсутствия сопряжённых двойных связей и правильного чередования однотипных молекул. Но как раз это обстоятельство, наоборот, способствует беспрепятственному распространению вибраций по цепи ординарных валентностей, имею-

*) Этой передаче благоприятствует то обстоятельство, что атом Fe гемина координационно связан с белком — глобином — посредством имидазольной группы гистидина⁸.

ших примерно одинаковые упругие константы и приведённые массы вибрирующих частиц.

Перенос кванта электронной энергии возбуждения без всяких потерь был бы доказан, если бы удалось показать сенсibilизованную флуоресценцию фиксированной на белке и способной флуоресцировать молекулы под действием света, поглощённого только белком.

Оставляя в стороне вопрос о методической трудности измерения поглощения света и квантового выхода в микрогетерогенных коллоидных структурах, интерпретация подобного опыта встретит то затруднение, что в спектральной области поглощения белка обычно поглощает свет и адсорбированный компонент.

В условиях живого листа была показана сенсibilизованная флуоресценция хлорофилла под действием света, поглощаемого каротиноидами⁹. Однако последние, в отличие от белка, представляют собой длинные цепи сопряжённых связей, с глубокой окраской; кроме того, неизвестно, были ли компоненты фиксированы, и притом на одном и том же белке.

В исследовании передачи энергии в биохимических системах, проводимом в нашей лаборатории, была в своё время сделана также попытка получить данные о возможности переноса электронной энергии в системе белок-краситель методом исследования сенсibilизованной флуоресценции.

На белке (фибронин шелка) адсорбировались два вида красителей, максимумы поглощения которых были значительно сдвинуты один относительно другого. Предполагалось, что при освещении системы в области поглощения красителя с максимумом, расположенным в коротковолновой области спектра, можно будет наблюдать флуоресценцию другого красителя, обладающего более длинноволновым максимумом, т. е. высвечивание должно было бы произойти по наиболее низкому энергетическому уровню системы. Опыты проводились в высоковакуумных условиях при температуре жидкого воздуха с тем, чтобы воспрепятствовать быстрой деградации энергии возбуждения в тепло. Явления сенсibilизованной флуоресценции в этих условиях нам наблюдать не удалось.

В свете приведённых соображений трудно считать приведённый выше материал прямым доказательством существования миграции электронной энергии в белковой молекуле.

Сент-Дьерди в своей книге² описывает опыты по фосфоресценции и фотопроводимости белков, окрашенных красителями, типа желатиновых фосфоров. В белке без красителей фотопроводимости установлено не было. Автор полагает, что проводимость системы белок-краситель свидетельствует о наличии общих электронных уровней по типу неорганических фосфоров.

Однако исследования последних лет прежде всего показали, что природа фосфоресценции органических соединений в корне различна

от флуоресценции неорганических кристаллов и объясняется переходом органической молекулы в длительно живущее метастабильное бирадикальное состояние (Теренин⁶, Льюис). Что же касается фотопроводимости «сухих» систем белок-краситель, то работами советских исследователей было впервые показано, что не только микрокристаллы красителей¹⁰, но и красители в коллоидных плёнках и бензольном растворе, т. е. не белковых средах, обладают сами по себе значительной фотопроводимостью¹¹.

Из последних опытов¹² следует, что молекулы красителей, адсорбированные на полупроводниках, могут вызвать при поглощении видимого света появление электронов в зоне проводимости, но подобный эффект совершенно отсутствует на кристаллических аминокислотах.

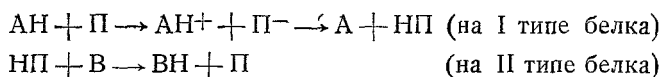
На основании этих экспериментальных фактов следует признать, что гипотеза о миграции электронов в белке, подобно полупроводнику, лишена основания.

Рассмотрим теперь теоретические представления о биокаталитических процессах, изложенные в статье Н. Рия.

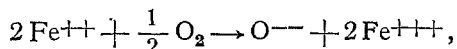
1. Модель действия окисляющих и восстанавливающих ферментов

Предложенная Н. Рием модель действия различных окислительно-восстановительных систем основана на передаче (на расстояние) через белковую молекулу электрона с компенсирующей отдачей или приёмом протона из водной фазы. Ныне принятая схема действия дегидраз основана на известных фактах диссоциации фермента на простетическую группу и специфический белок и обратимого окислительно-восстановительного превращения простетической группы, происходящего на разных типах специфического белка.

Таким образом, передача электрона от одной системы к другой происходит путём диффузии диссоциирующей простетической группы фермента дегидразы. Механизм реакции передачи водорода от АН к В может быть выражен следующей упрощённой схемой, где П обозначает простетическую группу, а НП—гидрированную простетическую группу, (см., например,¹⁴):



Мы не будем здесь останавливаться на детальном разборе схем окислительно-восстановительных реакций, приведённых в статье Н. Рия, укажем лишь, что элементарный процесс



сопровождающийся появлением иона $O^{\bullet-}$, чрезвычайно маловероятен, а присоединение второго электрона к молекуле кислорода представляет собой сильно эндотермический процесс¹³.

2. Модель действия гидролаз

Автор рассматривает гидролазы, в том числе ферменты, гидролизующие пептидную связь, как двухкомпонентные, содержащие простетическую группу и белковый носитель. При этом указывается на необходимость существования простетической группы в двух различных энергетических состояниях. Присоединение воды к пептидной связи рассматривается с электронной точки зрения как «разрядка» H^+ с присоединением H к NH -группе пептидной связи и как компенсирующая разрядка OH^- с присоединением OH к CO -группе.

Против этой схемы следует выдвинуть два основных возражения.

а) Гидролизующие пептидную связь ферменты являются однокомпонентными — это белки, не связанные с простетической группой, существующей в различных энергетических состояниях, как это имеет место у окислительно-восстановительных ферментов¹⁴.

б) Трудно представить себе с энергетической точки зрения возможность механизма гидратации, идущей через промежуточное образование свободных радикалов H и OH .

Диссоциация воды на радикалы требует 110 ккал, предварительная диссоциация на ионы уменьшает эту величину до, приблизительно, 95 ккал. За счёт каких энергетических ресурсов возможны подобные элементарные процессы на молекуле белка?

3. О миграции энергии в процессе ассимиляции углекислоты

В опытах исследования фотосинтеза в прерывистом свете было найдено, что отношение количества молекул хлорофилла, поглощающего свет, к количеству восстановленных молекул углекислоты составляет, при длительности световой вспышки 10^{-5} сек, величину от 2000 до 14000.

Исходя из этих данных, а также для объяснения ряда неувязок, возникающих при расчёте длительности темновой реакции фотосинтеза, Гаффрон и Воль предложили гипотезу, согласно которой число центров восстановления в несколько тысяч раз меньше числа наличных молекул хлорофилла; при этом были предложены две возможные модели:

1) «оптическая модель» фотосинтетической единицы, согласно которой большое число молекул хлорофилла связано в едином комплексе — «кристалле» (это представление развивает Н. Риль в своей статье);

2) «кинетическая модель», согласно которой энергия от большого числа отдельных молекул хлорофилла передаётся малому числу центров восстановления; эти представления также были развиты в ряде работ (лит. см. ¹⁵).

Впоследствии были предложены другие схемы: наиболее математически была разработана схема Франка-Герцфельда *), исходящая из того предположения, что лимитирующая темновая реакция управляется катализатором, рабочий период которого больше продолжительности жизни нестойкого фотопродукта. Возможно также объяснение, исходящее из представления о том, что период обратимых реакций, в которые вовлечён хлорофилл, в несколько тысяч раз больше длительности светового промежутка в опытах с прерывистым освещением. Таким образом, мы видим, что полученные опытные данные могут быть интерпретированы с помощью ряда отличающихся друг от друга схем **).

Своей концепцией Н. Риль воскрешает взгляды Рейнке, рассматривавшего хлорофилл как «физический» сенсibilизатор, передающий только энергию реагирующим молекулам, не подкрепляя этого взгляда новыми опытными доказательствами.

В противоположность этому К. А. Тимирязев в своих классических работах рассматривал хлорофилл как сенсibilизатор «оптический» и «химический», подвергающийся в процессе фотосинтеза обратимому химическому превращению.

Выдвинутое К. А. Тимирязевым направление имеет наибольшее количество экспериментальных доказательств и лучше всего объясняет фактический материал фотосинтеза (см. ^{15, 17, 18}).

Недавно удалось также показать возможность обратимого фотохимического восстановления хлорофилла, идущего с увеличением свободной энергии системы, и отметить значение этого процесса при сенсibilизованных реакциях ¹⁷.

*) Общая схема фотосинтеза Франка и Герцфельда, предложенная в 1941 г., в настоящее время неприемлема, так как не соответствует современным опытным результатам. Кроме ранее данной критики этой схемы ¹⁵, здесь следует привести следующие возражения:

1) Предположение о фотохимическом акте восстановления углекислоты не соответствует действительности; исследования, в которых применялись изотопы углерода C^{11} и C^{14} , показали, что фиксация и восстановление углекислоты происходят в результате темновой реакции.

2) Представление о существовании окисленной и восстановленной формы хлорофилла, сохраняющих подобные спектры поглощения, не получило опытного подтверждения; недавно удалось показать, что обратимое восстановление и окисление хлорофилла сопровождается размыканием системы конъюгированных связей, исчезновением красного максимума поглощения и появлением нового максимума в области 500—550 $m\mu$ ^{16, 17}.

**) Мы здесь оставляем в стороне обсуждение правильности использования имеющихся опытных данных (исследования фотосинтеза в прерывистом свете и пр.) в расчётах, произведённых различными авторами; в частности, вопрос о том, поглощали ли в условиях опытов все молекулы хлорофилла, заключённого в хлоропластах исследуемого растения.

В нашу задачу здесь не входит обсуждение вопроса о форме связи хлорофилла в пластиде. Хотелось бы лишь отметить, что приведённая в статье Н. Рия схема Губерта является в значительной мере умозрительной, так как отсутствуют прямые доказательства существования всего хлорофилла в пластиде в форме монослоя с порфириновым циклом, прилегающим к молекуле белка.

Более вероятно, что хлорофилл в пластиде находится не в одном состоянии, и фотохимически активной является часть молекул хлорофилла, связанная с липоидной частью липопротеинового комплекса.

В заключение мы позволим себе высказать мнение, что, несмотря на принципиальный интерес, физическое представление о миграции электрона в применении к биологическим системам нуждается в более убедительных экспериментальных доказательствах. Широкое использование этой гипотезы для толкования известных фактов биокатализа не имеет преимуществ по сравнению с ныне принятыми представлениями. Соображения Н. Рия более уместны в применении к каталитическим реакциям, протекающим на поверхности кристаллических твёрдых тел, т. е. настоящих полупроводников, для которых электронные представления уже давно развивались в нашей стране Л. В. Писаржевским¹⁹ и которые вновь приобретают в настоящее время актуальность²⁰. Нет необходимости искусственно ограничивать энергетику биохимических процессов тесными рамками детальной физической картины, взятой из области весьма интересных явлений, не имеющих, однако, прямого отношения к органическим системам. Несомненно, что в последних также наблюдается перемещение электрона с сопутствующей передачей энергии (см. примеры в⁶), но механизм этой миграции имеет иную природу, чем в неорганических кристаллах-полупроводниках. К подробному обоснованию такой точки зрения мы вернёмся на страницах настоящего журнала.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Н. В. Риль, Успехи Физ. Наук **35**, 186 (1948), № 2.
2. A. Szent-Györgyi, Nature **9**, 157 (1941); «Chemistry of Muscular Contraction», N. Y. 1947.
3. H. Borsook, Ergeb. Enzymforsch. **4**, 19 (1935).
4. А. Н. Теренин, Изв. Акад. Наук, сер. биол. № 3, 369 (1947).
5. T. Bücher, J. Kaspers, Biochimica et biophysica acta **1**, 21 (1947).
6. А. Н. Теренин, «Фотохимия красителей», Изд. АН СССР (1947).
7. А. Н. Теренин и А. В. Карякин, ДАН, **88**, 425 (1947).
8. H. Theorell, Ann. Rev. Biochem. **7**, 265 (1947).
9. H. Dutton, W. Manning, R. Duggar, J. Phys. Chem. **47**, 308 (1943).
E. Wassink, I. Kersten, Enzymologia **12**, 3 (1946).
10. А. Т. Вартамян, Ж. физ. хим. **20**, 1065 (1946), **22**, 769 (1948).
Е. К. Пучейко, Докл. Акад. Наук СССР, **59**, 471 (1948); Ж. физ. хим. **22**, 1172 (1948).

11. Щодро, Изв. Рос. Акад. Наук **6**, 727 (1919); Изв. физ. ин-та **1**, 571, 132, *J. chimie physique* **26**, 59, 117, 178 (1929).
12. А. Теренин и Е. К. Пуцейко, Ж. физ. хим. (1949).
13. И. А. Казарновский, Ж. физ. хим. **14**, 320 (1940).
14. „Ферменты“, Изд. АН (1940) (сборник).
15. А. А. Красновский, Усп. совр. биол. **21**, 153 (1946); Изв. Акад. Наук, сер. биол. № **3**, 377 (1947).
16. А. А. Красновский, Докл. Акад. Наук СССР **58**, 617 (1947); **58**, 835 (1947).
17. А. А. Красновский, Докл. Акад. Наук СССР, **60**, 421 (1948); **61**, № **1** (1948).
18. E. Rabinowitch, «Photosynthesis» № **4** (1945).
19. Л. В. Писаржевский и М. Розенберг, «Неорганическая химия» (1928) ДВНТУ.
20. Ф. Ф. Волькенштейн, Ж. физ. хим. **22**, 311 (1948).
