

ПЕРЕДАЧА ЭНЕРГИИ ВОЗБУЖДЕНИЯ С МОНОМЕРОВ НА ДИМЕРЫ ХЛОРОФИЛЛОВ

Э. ЛЕХОЦКИ и Л. САЛАИ

Кафедра биофизики Университета им. А. Йожефа, Сегед

Исследовалось концентрационное тушение флуоресценции хлорофиллов *a* и *b* в мицеллярных растворах детергента тритона X—100. Концентрацию пигментов варьировали от 10^{-7} до 10^{-4} моль/л, концентрацию детергента от $4 \cdot 10^{-4}$ до $7 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Зависимость, квантового выхода флуоресценции от концентрации пигментов выражается эмпирической формулой $B/B_0 = 1/[1 + (c/c_{1/2})^2]$ где $c_{1/2} = c$ при $B/B_0 = 0,5$, отражающей, вероятно, перенос энергии с мономерной формы хлорофиллов на димеры. Показано, что эффективность этого переноса пропорциональна $1/R_0^2$, где R_0 критическое расстояние переноса энергии, которое по нашим оценкам равно 45 и 36 Å для хлорофилла *a* и *b*, соответственно.

В мицеллярных растворах детергентов, содержащих растительные пигменты, наблюдается эффективный гомогенный и гетерогенный перенос энергии [1—3]. Зенькевич и другие [4] показали что, несмотря на гетерогенность мицеллярных растворов, экспериментальные результаты хорошо совпадали с теоретическими, вычисленными из теории переноса энергии для гомогенной системы, по механизму индуктивного резонанса. Наши данные, полученные при исследовании концентрационной деполаризации флуоресценции, подтвердили этот вывод [5—7] при учете локальной концентрации пигментов в мицеллах. Однако при анализе тушения флуоресценции мы обнаружили [7] отличие от теоретической кривой Фёрстера, причем зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации пигмента хорошо описывалась эмпирической формулой Келли и Портера [8]. Такая зависимость может быть результатом участия в процессе тушения гетерогенного переноса энергии от мономеров на агрегаты пигментов.

В данной работе мы попытались выяснить, каким должен быть механизм гетерогенного переноса, если тушение подчиняется формуле Келли и Портера, при этом в качестве модели использованы растворы хлорофилла *a* и *b* в мицеллярных растворах тритона X—100.

Методы исследования

Способ приготовления мицеллярных растворов хл. *a* и *b*, а также получения чистых пигментов описаны в работах [5] и [6]. Интенсивность флуоресценции измеряли на спектрофлуориметре Perkin Elmer MPF 4 в максимуме люминесценции мономерной формы хлорофиллов. Относительный выход флуоресцен-

ции определяли по следующей формуле:

$$\frac{\beta}{\beta_0} = \text{const.} \frac{I_{\phi\lambda}(1 - e^{-k(\lambda)l})}{I_{0\phi\lambda}(1 - e^{-k(\lambda)l_0}} \quad (1)$$

где B выход флуоресценции, $k(\lambda)$ — коэффициент поглощения при λ нм возбуждающего света и l — толщина кюветы при измерениях интенсивности флуоресценции ($I_{\phi\lambda}$). Все измерения проводились при 30 °С.

Результаты и их обсуждение

Совместное рассмотрение кривых деполаризации и относительного выхода флуоресценции хл a и b (рис. 1) указывает на процесс переноса энергии возбуждения: по кривой деполаризации, перенос энергии между мономерными молекулами, по кривой относительного выхода, перенос энергии с возбужденных мономеров на агрегаты. Из рис. 1 видно также, что одинаковые условия в мицеллах, с точки зрения переноса энергии, создаются при различных концентрациях пигментов, как это показано в работах [6] и [7].

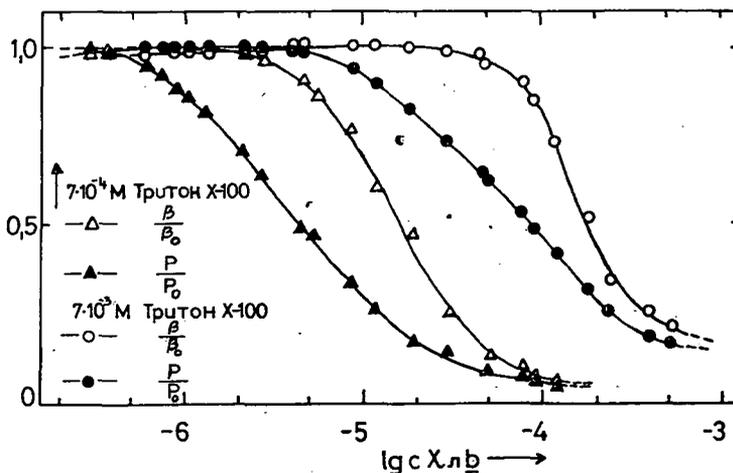


Рис. 1. Зависимость степени поляризации и относительного квантового выхода люминесценции хлорофилла b при $7 \cdot 10^{-4}$ и $7 \cdot 10^{-3}$ моль/л концентрации тритона X-100

Как мы показали ранее, кривые зависимости относительного выхода флуоресценции от локальной концентрации хлорофиллов хорошо описываются эмпирической формулой предложенной Келли и Портером [8]

$$B/B_0 = 1/(1 + \gamma^2) \quad (2)$$

где $\gamma = c/c_{1/2}$ и $c_{1/2}$ означает концентрацию пигмента при которой $B/B_0 = 0,5$. При всех концентрациях детергента можно было найти такие значения $c_{1/2}$

хлорофилла *a* и *b* (таблица I.) при которых кривые зависимости B/B_0 от $\log \gamma$ практически совпадали (рис. 2). Отсюда можно сделать заключение, что механизм тушения не зависит от содержания детергента, а видимо, также определяется локальной концентрацией пигмента в мицеллах.

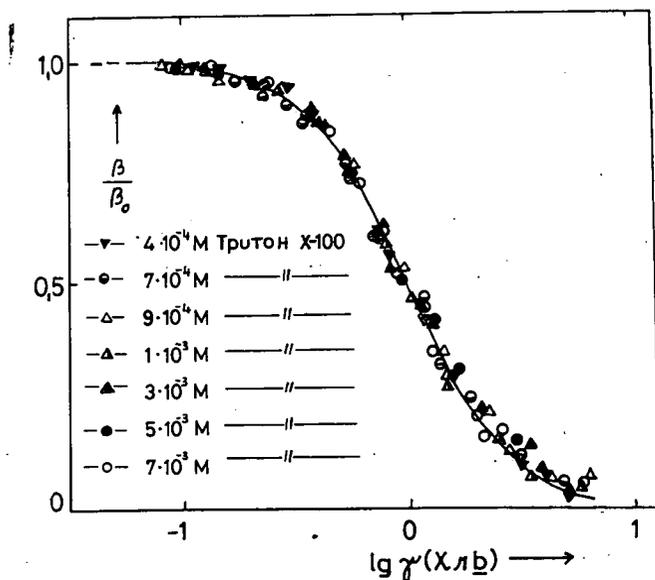


Рис. 2. Зависимость относительного квантового выхода люминесценции хлорофилла *b* при различных концентрациях тритона X-100

Таблица I.

Тритон X-100·10 ⁻³ М	0,4	0,7	0,9	1,0	3,0	5,0	7,0
$c_{1/2} \cdot 10^{-6}$ М Хл <i>a</i>	4,0	20,0	30,0	—	78,0	130,0	200,0
$c_{1/2} \cdot 10^{-6}$ М Хл <i>b</i>	6,2	16,0	25,0	29,0	84,0	130,0	190,0

В согласии с гипотезой Келли и Портера можно предполагать, что в нашем случае интенсивность флуоресценции мономеров уменьшается вследствие переноса энергии с мономеров на димеры. (Известно, что хлорофиллы образуют несколько типов агрегатов от димеров до олигомеров. Однако наиболее вероятно, что количество димеров значительно превышает количество агрегатов более высокого порядка.) В этом случае зная значение $c_{1/2}$ и локальную концентрацию пигментов можно оценить критическое расстояние R_0 для переноса энергии, мономер → димер которое по нашим расчетам для хлорофилла *a* и *b* 45 и 36 Å, соответственно. Отсюда следует, что перенос энергии от моно-

меров на димеры происходит по механизму индуктивного резонанса, потому что такой порядок значения R_0 характерно для переноса энергии по индуктивному резонансу.

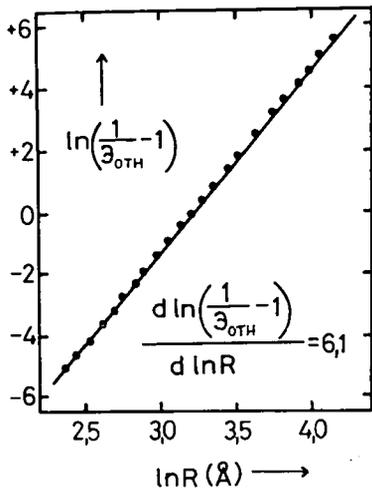


Рис. 3. Зависимость $\ln(1/\mathcal{E}_{отн} - 1)$ от среднего расстояния ($\ln R$) между молекулами хлорофилла

порционален $1/R^6$, что подтверждает наличие переноса энергии по механизму индуктивного резонанса.

Подобный вывод можно сделать из анализа выражения (2) по методу Штреера и Хаугланда [9]. Они предполагали, что между эффективностью переноса энергии ($\mathcal{E}_{отн.}$) и молекулами участвующими в процессе переноса энергии существует следующая взаимосвязь:

$$\mathcal{E}_{отн.} = (R_0/R)^j / (R_0/R)^j - 1 \quad (3)$$

где $\mathcal{E}_{отн.} = 1 - B/B_0$, R_0 - критическое расстояние переноса энергии, R - расстояние между молекулами пигментов, j - степень зависимости от расстояния. Если значения $\mathcal{E}_{отн.}$ и R известны, тогда R_0 и j легко можно определить, из графика зависимости $\ln(1/\mathcal{E}_{отн.} - 1)$ от $\ln R$. На рис. 3 показан такой анализ кривых концентрационного тушения флуоресценции растворов хлорофилла *a* и *b*. Оказалось, что $j=6,1$. Из этого можно заключить, что перенос энергии с мономеров на димеры про-

Литература

- [1] Teale, F. W. J.: Nature **181**, 415 (1958).
- [2] Zenkevich, E. I., A. P. Losev, G. P. Gurinovich: Mol. Biol. **6**, 824 (1972).
- [3] Szabad., J. E. Lehoczki, L. Szalay, K. Csatorday: Biophys. Struct. Mech. **1**, 65 (1974).
- [4] Zenkevich, E. I., A. P. Losev, G. P. Gurinovich: Izv. Akad. Nauk SzSzSzR, Szer. Fiz. **36**, 979 (1972).
- [5] Lehoczki, E., K. Csatorday, L. Szalay, J. Szabad: Biofizika (Moszkva) **20**, 44 (1975).
- [6] Csatorday, K., E. Lehoczki, L. Szalay: Biochim. Biophys. Acta **376**, 268 (1975).
- [7] Lehoczki, E., K. Csatorday: Biochim. Biophys. Acta **396**, 86 (1975).
- [8] Kelly, A. R., G. Porter: Proc. R. Soc. Lond. Ser. A **315**, 149 (1970).
- [9] Stryer, L., R. P. Hangland: Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. **58**, 719 (1967).

TRANSFER OF ELECTRONIC EXCITATION ENERGY FROM MONOMERIC TO DIMERIC CHLOROPHYLLS

E. Lehoczki and L. Szalay

The quenching of the fluorescence of chlorophyll-a and chlorophyll-b solutions containing detergent micelles was studied in a concentration range of $c=0.4$ mM–0.6 mM chlorophylls and 0.4–7.0 mM Triton at room temperature. The quenching is described by an empirical formula for the relative fluorescence yield $\eta/\eta_0=1/[1+(c/c_{1/2})^2]$ with $c_{1/2}=c$ at $\eta/\eta_0=0.5$. This formula is characteristic of the transfer from monomer to dimer, obeying the $1/R^6$ distance law. The critical distance of this transfer (in terms of Förster's theory) R_0 is 45 and 36 Å for chlorophyll-a and -b, respectively.