

УДК 577.355

СИНГЛЕТ-ТРИПЛЕТНОЕ ДЕЛЕНИЕ ВОЗБУЖДЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ СВЕТСОБИРАЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ *Thermochromatium tepidum*

© 2019 г. А.А. Грязнов, И.Б. Кленина, З.К. Махнева, А.А. Москаленко, И.И. Проскуряков

*Институт фундаментальных проблем биологии РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН,
142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 2*

E-mail: pros@issp.serpukhov.su

Поступила в редакцию 10.07.2019 г.

После доработки 10.07.2019 г.

Принята к публикации 22.08.2019 г.

Освещение пурпурных фототрофных бактерий в полосе поглощения каротиноидов светособирающих комплексов часто приводит к низкой эффективности использования энергии поглощенного света. Известно, что это связано с синглет-триплетным делением возбуждения каротиноидов. В работе исследован механизм данного процесса на примере фототрофной бактерии *Thermochromatium tepidum*. С использованием методов ЭПР высокого временного разрешения и модуляции выхода флуоресценции магнитным полем показано, что развиваемое в ряде работ представление о внутримолекулярном делении возбуждения не находит своего экспериментального подтверждения. Получены свидетельства межмолекулярного характера деления возбуждения с участием двух молекул каротиноидов светособирающих пигмент-белковых комплексов LH1-RC и LH2. Обсуждаются преимущества межмолекулярного деления возбуждения для использования в фотопреобразователях солнечной энергии.

Ключевые слова: светособирающие комплексы, каротиноиды, синглет-триплетное деление возбуждения, электронный парамагнитный резонанс, эффекты магнитного поля, фототрофные бактерии.

10.1134/S0006302919060012

Первичные процессы преобразования солнечной энергии в химическую при фотосинтезе происходят в специализированных пигмент-белковых комплексах – реакционных центрах [1]. Для повышения скорости фотосинтеза реакционные центры в фотосинтетических мембранах окружены пигмент-белковыми комплексами другого типа, так называемыми антенными или светособирающими комплексами. В состав светособирающих комплексов пурпурных фототрофных бактерий входят пигмент-белковый комплекс периферической антенны LH2 и комплекс LH1-RC. Оба типа комплексов содержат пигментные молекулы – бактериохлорофиллы (БХл) и каротиноиды (Кар), поглощающие свет. При этом комплекс LH1-RC состоит из прицентральной антенны LH1 и реакционного центра, осуществляющего указанное выше преобразование энергии. Комплексы LH2 не содержат реакционных центров и обеспечивают поглощение света и передачу электронного возбуждения на LH1 [2]. Каротиноиды

в процессе бактериального фотосинтеза выполняют две главные функции [3]. Первая – поглощение света в области оптической прозрачности бактериохлорофиллов и передача энергии электронного возбуждения на БХл. Вторая – тушение триплетных состояний БХл [4], т. е. защита от генерации синглетного кислорода, возникающего в результате взаимодействия триплетного БХл с триплетным кислородом воздуха [5,6].

Известно, что реакции фотопереноса электрона в реакционных центрах идут с высокой скоростью и с квантовой эффективностью, близкой к единице. Процессы переноса энергии между пигментами также оптимизированы. Каротиноиды светособирающих комплексов LH1 и LH2 за времена в пико- и субпикосекундном диапазоне передают энергию молекулам БХл. Несмотря на высокую скорость, эффективность переноса энергии $^1\text{Кар}^* \rightarrow \text{БХл}$ у некоторых пурпурных бактерий не превышает 25–30% [7]. При этом регистрируется образование триплетных состояний каротиноидов. Прямое заселение $^3\text{Кар}$ путем интеркомбинационной конверсии имеет низкую вероятность, поскольку время жизни синглетно-возбужденных со-

Сокращения: БХл – бактериохлорофилл, Кар – каротиноид, ЭПР – электронный парамагнитный резонанс, РНП – расщепление в нулевом поле.

стояний каротиноидов, составляющее в растворах обычно 1–10 пс [8,9], слишком мало для ее протекания. Синглетное возбуждение каротиноидов в составе светособирающих комплексов — еще более короткоживущее из-за переноса энергии на БХл. Для объяснения факта образования $^3\text{Кар}$ было сделано предположение, что триплетные состояния каротиноидов LH2 возникают из синглетно-возбужденных в результате деления на два триплета [10,11]: $^1\text{Кар}^* \rightarrow ^3\text{Кар} + ^3\text{Кар}$. Этот разрешенный по спине процесс может развиваться очень быстро, в пико- и фемтосекундном диапазоне времен.

Явление синглет-триплетного деления возбуждения было открыто в 1965 г. (см. обзоры [12,13]) в органических молекулярных кристаллах. Интерес к этому явлению резко возрос после 2004 г., когда была выдвинута идея, что его использование может существенно повысить коэффициент полезного действия фотопреобразователей солнечной энергии [14]. Начиная с указанного времени, синглет-триплетное деление возбуждения активно исследуется с целью выяснения механизмов этого процесса и поиска осуществляющих его материалов. Таким образом, изучение данного явления в каротиноидах светособирающих антенн важно как для понимания первичных процессов фотосинтеза, так и для решения прикладных задач повышения эффективности преобразователей энергии света.

Первая прямая регистрация синглет-триплетного деления возбуждения каротиноидов LH1 пурпурной бактерии *Rhodospirillum rubrum* была выполнена в работе [10] методом пикосекундной спектроскопии. Авторами было высказано предположение, что деление возбуждения протекает внутримолекулярно, с локализацией двух триплетов на половинах одной молекулы каротиноида. Было показано, что деление возбуждения происходит за время менее 5 пс, что объясняет его конкуренцию с переносом энергии на БХл. Триплетные состояния БХл в этом процессе не образуются. Позднее методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) высокого временного разрешения нами было показано, что в комплексах LH2 *Allochrochromatium minutissimum* регистрируются спектры, соответствующие локализации триплетных состояний на отдельных молекулах каротиноидов [15], что свидетельствует в пользу межмолекулярного механизма деления возбуждения.

В недавней работе [16] методом оптического флеш-фотолиза было проведено количественное сравнение выцветания полосы поглощения каротиноидов за счет образования триплетного состояния и появления полосы $^3\text{Кар}$ в комплексах LH1-RC и LH2 *Thermochromatium tepidum* и *Rhodobacter sphaeroides*. На основании этого анализа был сделан вывод о внутримолекулярном меха-

низме деления возбуждения. В целях проверки данного результата мы провели исследование LH1-RC- и LH2-комплексов *Th. tepidum* методами ЭПР-спектроскопии и модуляции квантового выхода триплетных состояний магнитным полем и пришли к выводу, что синглет-триплетное деление возбуждения у этой бактерии происходит по межмолекулярному механизму с участием двух молекул каротиноидов. Предварительное сообщение о данной работе было опубликовано в работе [17].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Светособирающие комплексы LH1-RC и LH2 выделяли из клеток *Thermochromatium tepidum* методом электрофореза, как описано в работе [18], с переводом препаратов в 10 мМ трис-НСI-буфер, рН 7,5. В измерениях флуоресценции использовали препараты с исходной оптической плотностью 2 ед. при 470 нм. Для приготовления образцов к препаратам добавляли 66% глицерина и после тщательного перемешивания помещали в кварцевые капилляры диаметром 3 мм. В результате максимальная оптическая плотность образцов для измерения флуоресценции составляла 0,2 ед. при 470 нм, обеспечивая их однородное возбуждение. В измерениях ЭПР использовали аналогично приготовленные препараты с оптической плотностью в полосе поглощения каротиноидов, достаточно высокой для практически полного поглощения возбуждающего света. Ряд измерений ЭПР был проведен при температуре 260 К. В этом случае образцы помещали в одномиллиметровые капилляры без добавки глицерина. В препараты LH1-RC комплексов для оптических измерений добавляли 10 мкМ феррицианида для поддержания окисленного состояния первичного акцептора Q_A и подавления рекомбинационной флуоресценции реакционных центров.

Оптические и основные ЭПР-измерения проводили при температуре 175 К, которую поддерживали с помощью криостатов ESR900 (Oxford Instruments, Англия). Для оптических измерений криостат помещали в зазор электромагнита, способного создавать поле до 480 мТл. Образцы освещали вспышками света с частотой повторения 15 Гц, энергией около 1 мДж и длительностью 6 нс от лазерной системы Solar Laser Systems («СОЛАР ЛС», Минск, Беларусь) на длине волны 470 нм. Вспышку флуоресценции после прохождения фильтра КС-19 и интерференционного фильтра 890 нм регистрировали с помощью ФЭУ-83 и записывали на осциллографе НДО4022 (Teledyne LeCroy, США). Значение для каждой точки на рис. 2 (см. ниже) получали попарным вычитанием десяти измерений при включенном поле и десяти измерений при вы-

ключенном поле, накапливая в одном измерении 1000 импульсов флуоресценции. Полученные разностные значения усредняли и делили на среднюю амплитуду флуоресценции в нулевом поле. Измерения ЭПР проводили на спектрометре высокого временного разрешения, как описано в работе [18]. Для возбуждения образцов использовали лазерную систему, описанную выше. При регистрации сигналов триплетных состояний каротиноидов применяли метод стробоскопического интегрирования в интервале 150 нс – 1,5 мкс после возбуждающей вспышки при непрерывной развертке магнитного поля. Сигналы сохраняли в памяти компьютера после их преобразования аналого-цифровым преобразователем E14-140-M («L-Card», Россия). В работе представлены результаты накопления сигнала после суммирования 300 измеренных спектров. Для калибровки магнитного поля использовали ЯМР-измеритель магнитной индукции Ш1-1 (СССР).

Количественный анализ каротиноидов проводили хроматографически, как описано в работе [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты анализа каротиноидного состава приведены в таблице. Комплексы LH1-RC содержат в качестве основного каротиноида (почти 72 мол. %) спириллоксантин (число сопряженных двойных связей $n = 13$). Основные каротиноиды LH2 – родопин ($n = 11$), 44 мол. % и дидегидродоропин ($n = 12$), 30 мол. %. Присутствует также спириллоксантин ($n = 13$). Количественные отличия от данных, приведенных в работе [16], связаны, по-видимому, с разными условиями выращивания культуры клеток. Спектры поглощения комплексов совпадают с опубликованными в работе [16].

На рис. 1 представлены спектры ЭПР высоко-го временного разрешения светособирающих комплексов LH1-RC и LH2 *Thermochromatium tepidum*. Ранее спектры этих препаратов были приведены в диапазоне магнитных полей 280–365 мТл [17]. Чтобы убедиться в отсутствии дополнительных сигналов в изучаемых образцах, развертку сканируемого поля увеличили с 85 мТл до 165 мТл. Спектры получены во временном интервале 150 нс – 1,5 мкс после возбуждающей вспышки, также более широко, чем в работе [17]. Представленные спектры соответствуют триплетным состояниям каротиноидов [15,18] и описываются следующими константами расщепления в нулевом поле (РНП) $|D| = 0,0225 \text{ см}^{-1}$, $|E| = 0,0022 \text{ см}^{-1}$ (LH1-RC) и $|D| = 0,0250 \text{ см}^{-1}$, $|E| = 0,0028 \text{ см}^{-1}$ (LH2). Величина РНП зависит от длины системы сопряженных связей каротиноида [20]. Наблюдаемые в LH1-RC параметры

Каротиноидный состав светособирающих комплексов *Thermochromatium tepidum* по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии

Каротиноиды	LH1-RC	LH2
Дидегидродоропин	5	29,7
Родопин	–	43,6
Спириллоксантин	71,6	9,5
Ангидродоровибрин	6,4	11,1
Неидентифицированный глюкозил-каротиноид	13,2	–
Остальные	3,8	6,1

РНП отвечают триплетному состоянию преобладающего каротиноида спириллоксантина ($n = 13$). В случае LH2 спектр хорошо интерпретируется в предположении вклада каротиноидов с $n = 11, 12$ и 13 , что также достаточно хорошо согласуется с анализом каротиноидного состава. Важно отметить, что эти параметры однозначно указывают на локализацию триплетных состояний на отдельных молекулах каротиноидов, что согласуется с выводами работы [17]. Поскольку данные в работе [16] были получены при комнат-

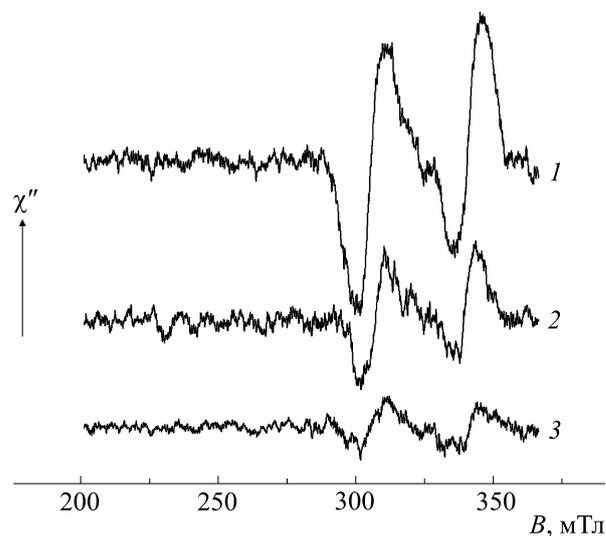


Рис. 1. Спектры ЭПР комплексов LH2 (1) и LH1-RC (2) фототрофной бактерии *Thermochromatium tepidum*, полученные при $T = 175 \text{ К}$ и возбуждении в полосу поглощения каротиноидов ($\lambda_{\text{возб}} = 470 \text{ нм}$) в интервале от 150 нс до 1,5 мкс после возбуждающей вспышки света. Спектр (3) получен на таком же препарате LH2 при 260 К без добавления глицерина. Вертикальная стрелка указывает направление, соответствующее поглощению СВЧ.

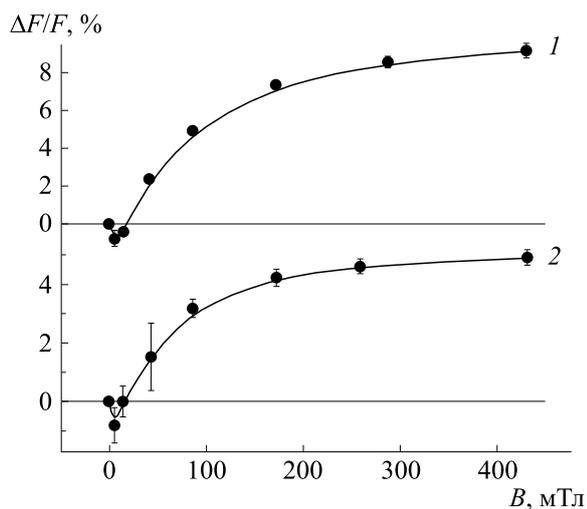


Рис. 2. Относительные изменения флуоресценции комплексов LH2 (1) и LH1-RC (2), вызванные наложением постоянного магнитного поля. $T = 175$ К, $\lambda_{\text{изм}} = 885$ нм. Поглощение образцов было выровнено при 470 нм.

ной температуре, мы также провели измерения при повышенной температуре. На рис. 1 (спектр 3) приведен спектр комплексов LH2, полученный при $T = 260$ К. Значительное уменьшение его амплитуды по сравнению с рис. 1 (спектр 1) объясняется менее благоприятными условиями измерения (меньшее количество образца, плохое оптическое качество препарата без добавки глицерина).

На рис. 2 представлена зависимость относительных изменений флуоресценции при наложении магнитного поля от величины магнитной индукции. Следует отметить качественно схожий характер приведенных полевых зависимостей для LH2- (рис. 2, кривая 1) и LH1-RC-комплексов (рис. 2, кривая 2), а также наличие отрицательных значений эффекта в низких магнитных полях. Обе кривые в высоких полях выходят на насыщение, что особенно очевидно в случае комплексов LH1-RC (рис. 2, кривая 2). Значения максимального эффекта магнитного поля составляют приблизительно 5% для LH1-RC и около 9% для LH2. Эти величины превышают полученные в работе [17], что связано с большим значением магнитных полей и более корректными условиями измерения (низкая оптическая плотность образцов) при получении данных, представленных на рис. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Необходимо отметить, что внутримолекулярное деление возбуждения с образованием достаточно долгоживущих триплетных состояний встречается относительно редко, причем почти

исключительно в синтетических соединениях, в которых две молекулы одной или разной природы соединены ковалентным мостиком (см., например, работу [21]). В работе [22] изучены линейные молекулы дифенилдицианполиена с числом сопряженных двойных связей n от 3 до 11, структурно напоминающие каротиноиды. Время жизни продукта деления возбуждения в соединении с $n = 7$ составляет всего 40 пс. Предположение о внутримолекулярном механизме деления возбуждения каротиноидов светособирающих комплексов пурпурных бактерий было впервые выдвинуто в работе [10]. Такое предположение было основано на том, что в светособирающих комплексах расстояние между каротиноидами (13–14 Å, [23,24]) слишком велико для реализации межмолекулярного деления возбуждения, требующего перекрытия электронных оболочек молекул, участвующих в процессе. Выводы о внутримолекулярном механизме деления возбуждения были подкреплены теоретическим рассмотрением процесса на примере длинных и бесконечных полиненасыщенных линейных молекул [25]. В работе [16] была предпринята попытка аккуратно определить число триплетных молекул каротиноидов, образующихся при возбуждении молекулы этого пигмента. Был сделан вывод, что в комплексах LH1-RC реализуется внутримолекулярный механизм, а в комплексах LH2 наблюдается примесь иных каналов заселения $^3\text{Кар}$.

Напомним, что в наших предыдущих работах по исследованию деления возбуждения в светособирающих комплексах LH2 пурпурной серной бактерии *Allochrocatium minutissimum*, проведенных методом ЭПР высокого временного разрешения, получены данные, однозначно указывающие на локализацию состояний $^3\text{Кар}$ на отдельных молекулах каротиноидов [15,18]. В этих работах признаков внутримолекулярного деления возбуждения и триплетов, локализованных на половинах молекулы каротиноида, обнаружено не было. Такие триплеты имели бы значительно большие константы РНП, поскольку величина этих констант линейно зависит от $1/n$, где n — число сопряженных двойных связей в молекуле каротиноида [20]. В работе [26] была продемонстрирована роль молекул бактериохлорофилла с максимумом поглощения при 850 нм в делении возбуждения каротиноидов LH2 комплексов *Alc. minutissimum*. Был сделан вывод, что молекулы БХл, находящиеся между молекулами каротиноидов, участвуют в этом процессе по суперобменному механизму, создавая «мостик» между каротиноидами. Это наблюдение снимает проблему большого расстояния между молекулами каротиноидов, поскольку БХл удален от обеих соседних молекул каротиноидов лишь на ~ 6 Å.

В работах [15,18] измерения ЭПР были проведены в интервалах времен 1,5–2,5 мкс и 0,2–0,4 мкс после возбуждающей вспышки света и только на комплексах LH2 *Alc. minutissimum* и *Rps. palustris*. В работе [17] были изучены комплексы LH1-RC и LH2 *Th. tepidum* в условиях эксперимента, максимально приближенных к условиям работы [16], где оптические измерения $^3\text{Кар}$ проводили при задержке 150 нс после вспышки. Однако и в этих условиях нами были зарегистрированы только спектры ЭПР $^3\text{Кар}$, локализованных на отдельных молекулах каротиноидов. В случае внутримолекулярного механизма деления возбуждения, т. е. при локализации триплетов на половинах молекул каротиноидов, должны регистрироваться спектры ЭПР, соответствующие сопряженной системе связей с $n = 5, 6$ или 7 . Согласно работе [20], параметры РНП $|D|$ при этом составляли бы $0,081, 0,065$ и $0,0535 \text{ см}^{-1}$ соответственно. Регистрация подобных триплетов с использованием ЭПР трехсантиметрового диапазона возможна. В данной работе мы увеличили развертку поля спектрометра ЭПР для поиска таких триплетных состояний и провели измерения в более широком временном интервале (150 нс – 1,5 мкс). При указанных параметрах D сигналы $^3\text{Кар}$ ожидаются в диапазонах полей $265\text{--}381 \text{ мТл}$ ($D = 0,0535 \text{ см}^{-1}$), $253\text{--}394 \text{ мТл}$ ($D = 0,065 \text{ см}^{-1}$) и $235\text{--}411 \text{ мТл}$ ($D = 0,081 \text{ см}^{-1}$). Из рис. 1 видно, что искомые триплетные состояния отсутствуют и регистрируются только спектры ЭПР с параметрами РНП, соответствующими триплетам мономеров каротиноидов. Спектр $^3\text{Кар}$ был также измерен при повышенной температуре 260 К (рис. 1, спектр 3) для проверки предположения, что заселение по мономолекулярному механизму требует термоактивации. Как видно из рисунка, и в этом случае регистрируются только спектры ЭПР, соответствующие локализации триплетов на отдельных молекулах каротиноидов.

Оценка квантового выхода состояния $^3\text{Кар}$ из спектров ЭПР значительно усложнена из-за неравновесной спиновой поляризации сигналов. Существует вероятность, что при измерениях ЭПР наблюдается лишь небольшая доля $^3\text{Кар}$, по каким-то причинам локализованных на отдельных молекулах, в то время как основное количество триплетов, возникших по внутримолекулярному механизму деления, не регистрируется трехсантиметровым спектрометром. Такая ситуация может возникнуть при локализации двух триплетов на одной молекуле каротиноида и достаточно сильных (превышающих энергию кванта сверхвысокой частоты спектрометра) спин-спиновых взаимодействиях. Мы проверили это предположение, изменяя выход триплетов каротиноидов,

образующихся в результате синглет-триплетного деления возбуждения, наложением магнитного поля, и регистрируя изменения флуоресценции бактериохлорофилла комплексов, которая возникает после переноса энергии синглетного возбуждения каротиноида на БХл. Магнитное поле оказывает влияние на синглет-триплетное деление возбуждения, изменяя волновые функции промежуточного дутриплетного комплекса и таким образом изменяя число его спиновых подуровней, содержащих примесь синглетного состояния [27,28]. При этом зависимость от магнитного поля выходит на насыщение при переходе к высоким полям, когда внешнее поле становится значительно сильнее спин-спиновых взаимодействий триплетных состояний. При наличии сильных спин-спиновых взаимодействий внутри триплетных молекул (РНП, существенно превышающее наложенное магнитное поле) или между двумя триплетами магнитный эффект отсутствует в полях, более слабых, чем указанные взаимодействия [28]. В единицах магнитного поля параметр РНП D $^3\text{Кар}$ составляет приблизительно 25 мТл . Приведенные на рис. 2 зависимости выхода флуоресценции БХл от магнитного поля соответствуют такому значению параметра РНП, поскольку они выходят на плато в полях $\sim 250 \text{ мТл}$ ($10 \cdot D$), удовлетворяющих условию сильных полей для молекул $^3\text{Кар}$. В целом форма этих кривых качественно согласуется с ожидаемой теоретически для межмолекулярного деления возбуждения между двумя одинаково ориентированными молекулами одной химической природы (так называемое гомогенное деление возбуждения) [28]. Напомним, что соседние молекулы каротиноидов светособирающих комплексов в самом деле ориентированы практически одинаково, по крайней мере, в изученных структурах светособирающих комплексов [3]. Оценим ожидаемую величину эффекта магнитного поля на флуоресценцию БХл в предположении межмолекулярного деления возбуждения. Возбужденное состояние $^1\text{Кар}^*$ (синглетный уровень S_2) дезактивирует по трем каналам: перенос возбуждения на БХл ($\Phi_{\text{ET}} \sim 30\%$ в LH2 *Th. tepidum* [29]), синглет-триплетное деление возбуждения ($\Phi_{\text{ST}} \sim 30\%$ в хроматофорах *R. rubrum* [30], 25% в LH1 *R. rubrum* [10]). Оставшаяся часть возбуждения растрачивается в тепло (Φ_{H}). Для примерной оценки примем, что $\Phi_{\text{ET}} = \Phi_{\text{ST}} = 30\%$. Оценку удобнее проводить, используя не квантовые выходы, а доли молекул N , участвующих в упомянутых процессах. Тогда, учитывая возникновение двух триплетных молекул в процессе деления возбуждения, можно записать:

$$N_{\text{ET}} + N_{\text{ST}} + N_{\text{H}} = 1 \text{ и}$$

$$N_{\text{ET}} = 0,3; N_{\text{ST}} = 0,15; N_{\text{H}} = 0,55.$$

Выход флуоресценции БХл пропорционален N_{ET} . Упрощенная теория влияния магнитного поля предсказывает, что в сильных полях вероятность синглет-триплетного деления возбуждения уменьшается на 1/3 [27,28]. Таким образом, доля молекул $^3\text{Кар}$ в магнитном поле упадет до 10%, а 5% перераспределится между двумя оставшимися каналами, увеличив выход флуоресценции до 31,7%. Отсюда эффект магнитного поля на флуоресценцию БХл составит $\sim 5,7\%$, что близко к значению, полученному для LH1-комплексов ($4,9 \pm 0,3\%$, рис. 2, кривая 2). Максимальное значение магнитного эффекта на флуоресценцию БХл в случае LH2 комплексов составляет $9,1 \pm 0,4\%$ (рис. 2, кривая 1). Близкое значение можно получить при небольших изменениях распределения по каналам дезактивации $^1\text{Кар}^*$. Так, при $N_{ET} = 0,28$, $N_{ST} = 0,2$, $N_H = 0,52$ получаем $\Delta F/F \sim 8\%$. Следует отметить, что состояние $^3\text{Кар}$ с небольшой вероятностью возникает также в процессе переноса энергии и интеркомбинационной конверсии $^1\text{Кар}^* \rightarrow ^1\text{БХл}^* \sim ^3\text{БХл} \rightarrow ^3\text{Кар}$, не зависящем от магнитного поля. Это в небольшой степени уменьшает наблюдаемый эффект поля, так что полученные выше значения являются оценками сверху. В целом можно сделать вывод, что амплитуда эффекта с учетом принятых упрощений достаточно хорошо согласуется с экспериментально наблюдаемыми величинами. Из этого следует, что по крайней мере значительная доля актов деления возбуждения происходит в отсутствие сильных спин-спиновых взаимодействий, т. е. по межмолекулярному механизму.

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные нами результаты противоречат представленным в работе [16] выводам о внутримолекулярном механизме синглет-триплетного деления возбуждения каротиноидов светособирающих комплексов *Th. tepidum*. Причины такого расхождения сложно проанализировать, поскольку в работе [16] не приведено достаточно подробного описания условий эксперимента для проведения подобного анализа. Вывод о межмолекулярном механизме деления возбуждения подтверждается также нашими предыдущими работами [15,18,26]. Межмолекулярный механизм имеет важное преимущество перед мономолекулярным с точки зрения использования процесса деления возбуждения при разработке фотопреобразователей солнечной энергии. Деление возбуждения протекает наиболее эффективно при примерном равенстве E_S и $2E_T$, где E_S — энергия синглетно-возбужденного уровня, а E_T — энергия триплетного уровня молекул, участвующих в процессе [13]. При этом локализованные на одной молекуле триплеты будут иметь повышенную ве-

роятность T–T-аннигиляции. При межмолекулярном делении вероятность потерь энергии по этому каналу понижается.

В заключение отметим, что биологический смысл потерь энергии при делении возбуждения каротиноидов остается непонятным. Возможно, этот процесс является частью механизма защиты бактерий от света высокой интенсивности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа по выделению пигментов *Th. tepidum* и пигментному анализу (см. раздел «Материалы и методы») выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 17-04-00929_a); остальные результаты получены в рамках Государственного задания №АААА-А17-117030110140-5.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. B. Ke, *Photosynthesis. Photobiochemistry and Photobiophysics* (Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, 2001).
2. H. Hashimoto, Y. Sugai, C. Urugami, et al., *J. Photochem. Photobiol. C* **25**, 46 (2015).
3. R. J. Cogdell, A. T. Gardiner, A. W. Roszak, et al., *Photosynth. Res.* **81**, 207 (2004).
4. R. J. Cogdell and H. A. Frank, *Biochim. Biophys. Acta* **895**, 63 (1987).
5. А. А. Красновский, *Биофизика* **22** (5), 927 (1977).
6. А. А. Krasnovsky, *Photochem. Photobiol.* **29**, 29 (1979).
7. H. A. Frank and R. J. Cogdell, in *Carotenoids in photosynthesis* (Springer-Science, 1993), ch. 8, pp. 252–326.
8. T. Polivka and V. Sundstrom, *Chem. Rev.* **104**, 2021 (2004).
9. D. Niedzwiedzki, J. F. Koscielcki, H. Cong, et al., *J. Phys. Chem B.* **111**, 5984 (2007).
10. C. C. Gradinaru, J. T. M. Kennis, E. Papagiannakis, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98** (5), 2364 (2001).
11. E. Papagiannakis, J. T. M. Kennis, I. H. M. van Stokkum, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 6017 (2002).
12. M. B. Smith and J. Michl, *Chem. Rev.* **110**, 6891 (2010).
13. M. B. Smith and J. Michl, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **64**, 361 (2013).
14. M. C. Hanna and A. J. Nozik, *J. Appl. Phys.* **100** (7), 074510-1 (2006).

15. И. Б. Кленина, З. К. Махнева, А. А. Москаленко и др., Докл. РАН **441** (6), 833 (2011).
16. J. Yu, L.-M. Fu, L.-J. Yu, et al., J. Am. Chem. Soc. **139**, 15984 (2017).
17. И. Б. Кленина, А. А. Грязнов, З. К. Махнева и др., Докл. РАН **485** (4), 511 (2019).
18. И. Б. Кленина, З. К. Махнева, А. А. Москаленко и др., Биофизика **58** (1), 54 (2013).
19. A. Ashikhmin, Z. Makhneva, and A. Moskalenko, Photosynth. Res. **119**, 291 (2014).
20. A. Angerhofer, F. Bornhauser, A. Gall, et al., Chem. Phys. **194**, 259 (1995).
21. K. Bhattacharyya, D. Dey, and A. Datta, J. Phys. Chem. C **123**, 4749 (2019).
22. M. Tuan Trinh, Yu Zhong, Qishui Chen, et al., J. Phys. Chem. C **119**, 1312 (2015).
23. G. McDermott, S. M. Prince, A. A. Freer, et al., Nature **374**, 517 (1995).
24. V. Cherezov, J. Clogston, M. Z. Papiz, et al., J. Mol. Biol. **357**, 1605 (2006).
25. P. Tavan and K. Shulten, Phys. Rev. B **36**, 4337 (1987).
26. И. Б. Кленина, З. К. Махнева, А. А. Москаленко и др., Биохимия **79** (3), 310 (2014).
27. R. E. Merrifield, Pure Appl. Chem. **27** (3), 481 (1971).
28. C. E. Swenberg and N. E. Geacintov, in *Organic molecular photophysics*, Ed. by J. B. Birks (London. John Wiley & Sons Ltd., 1973), pp. 489–564.
29. D. M. Niedzwiedzki, M. Kobayashi, and R. E. Blankenship, Photosynth. Res. **107**, 177 (2011).
30. H. Rademaker, A. J. Hoff, R. van Grondelle, et al., Biochim. et Biophys. Acta **592**, 240 (1980).

Singlet-Triplet Fission of Carotenoid Excitation in the Light-Harvesting Complexes from *Thermochromatium tepidum*

A.A. Gryaznov, I.B. Klenina, Z.K. Makhneva, A.A. Moskalenko, and I.I. Proskuryakov

*Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

Excitation of purple phototrophic bacteria into the absorption band of carotenoids of the light-harvesting complexes often results in low efficiency of light energy utilization. It is known that it is due to singlet-triplet fission of carotenoid excitation. In the present work, the mechanism of this process is studied using the phototrophic bacterium *Thermochromatium tepidum*. By means of time-resolved EPR spectroscopy and magnetic field modulation of the fluorescence yield, it is demonstrated that the idea of intramolecular excitation fission developed in several publications does not find its experimental confirmation. Evidence of intermolecular character of excitation fission involving two carotenoid molecules of the light-harvesting pigment–protein complexes LH1-RC and LH2 is obtained. The advantages of intermolecular excitation fission for application in photovoltaic solar energy converters are discussed.

Keywords: light harvesting complexes, carotenoids, singlet-triplet fission of excitation, electron paramagnetic resonance, magnetic field effects, phototrophic bacteria