

СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЕ ФОТОХИМИИ РОДОПСИНОВ I И II ТИПОВ

Обзор

© 2023 М.А. Островский^{1,2}, О.А. Смитиенко², А.В. Боченкова³, Т.Б. Фельдман^{1,2*}

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119991 Москва, Россия; электронная почта: feldmantb@mail.ru

² Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 Москва, Россия

³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 01.07.2023

После доработки 20.07.2023

Принята к публикации 12.08.2023

Разнообразие ретиналь-содержащих белков (родопсинов) в природе чрезвычайно велико. Принципиальное сходство структуры и фотохимических свойств объединяет их в одно семейство. Однако до сих пор идет дискуссия о происхождении родопсинов: дивергентная или конвергентная эволюция? В обзоре на основе результатов собственных и литературных данных проведен сравнительный анализ сходства и различий фотопревращения родопсинов I и II типов. Представлены результаты экспериментальных исследований прямых и обратных фотореакций бактериородопсина (родопсина I типа) и зрительного родопсина (родопсина II типа) в фемто- и пикосекундном интервале времен, фотообратимой реакции родопсина осьминога (родопсина II типа), фотоэлектрических реакций родопсинов I и II типов, а также квантово-химические расчеты прямых фотореакций. Обсуждается вопрос о вероятной конвергентной эволюции родопсинов I и II типов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ретиналь-содержащие белки, зрительный родопсин, бактериородопсин, конвергентная эволюция, фотохимия, фемтосекундная спектроскопия, квантово-химические расчеты.

DOI: 10.31857/S0320972523100093, EDN: OTFNWZ

ВВЕДЕНИЕ

Семейство ретиналь-содержащих белков (РСБ) содержит три типа родопсинов: микробные (I тип), животные (II тип) и сравнительно недавно обнаруженные гелиородопсины (III тип) [1–7]. Несмотря на то что функции их чрезвычайно разнообразны, принципиальное сходство структуры, 7- α -спиральной трансмембранной топографии белковой части и ретиналя в качестве хромофорной группы, а также фотохимических и спектральных свойств поражают воображение. Естественно, возникает вопрос об их эволюционном происхождении. При всей противоречивости мнений об их дивергентной [8–10]

или конвергентной [11–15] эволюции чаша весов, как нам представляется, склоняется в пользу последней. Другими словами, предполагается, что нет общего предка для всех трех типов родопсинов. И если это так, то, скорее всего, давление внешних факторов (дарвиновский естественный отбор) и физиологическая потребность привели к столь удивительной похожести столь неродственных РСБ. В этой связи сравнение и понимание эволюции каждого из этих типов родопсинов представляет самостоятельный и исключительно большой интерес. Об этом свидетельствует все нарастающее число публикаций по этому поводу [3–5, 11, 16–18].

Разнообразие РСБ, как сейчас становится ясно, чрезвычайно велико. В настоящее время

Принятые сокращения: волновой пакет – набор когерентных возбужденных колебательных состояний; ППЭ – поверхность потенциальной энергии; РСБ – ретиналь-содержащие белки; РПШО – протонированное шиффово основание ретиналя; ТМ – трансмембранная спираль; ф/и – фотоиндуцированный; BR – бактериородопсин археи *Halobacterium salinarum*; CI – коническое пересечение ППЭ; FC – франк-кондоновское состояние; HOOP – внеплоскостные колебания атомов водорода; Rh – зрительный родопсин быка *Bos taurus*.

* Адресат для корреспонденции.

они обнаружены во всех доменах живой природы — бактериях, археях и эукариотах, а также в гигантских вирусах. Родопсины I типа характерны для бактерий, архей, вирусов и низших эукариот; они очень разнообразны по выполняемым функциям, основные из которых — фотоэнергетическая (ионные насосы) и фотоинформационная (сенсорные родопсины, катионные и анионные каналы) [6]. Родопсины II типа характерны для высших животных, в большинстве случаев они представляют собой специализированные G-белок-связывающие рецепторы, которые обеспечивают в основном фотоинформационные функции, основная из которых — зрительная [1, 2]. Родопсины III типа широко распространены в живых организмах из тех же доменов, что и родопсины I типа, и, предположительно, выполняют фотоинформационную функцию [7].

Изначально термин родопсин относился только к зрительному белку. Открытый в 1876 г. Ференцем Боллем (Ferenz Boll), он был назван «зрительным веществом» (Sehestoff), затем в силу своего цвета — «зрительным пурпуром» (Sehpurpur) и позже — родопсином от греческих слов: «*rhodo*» — розовый и «*opsis*» — видеть. Открытый Уолтером Стоккениусом (Walther Stoeckenius) и Дитером Остерхельтом (Dieter Oesterhelt) почти 100 лет спустя РСБ — протонный насос галофильной археи *Halobacterium salinarum*, был назван ими по аналогии со зрительным родопсином — бактериородопсином [19]. В настоящее время название родопсины распространилось на все семейство РСБ I, II и III типов. Общим для них являются, во-первых, структура апо-белка — опсина, с его семью трансмембранными α -спиральными «тяжами» и, во-вторых, кофактор (хромофор) — ретиналь, поглощающий кванты света. Становится все более очевидным, что 7- α -спиральный белковый каркас РСБ и консервативен, и одновременно необыкновенно пластичен. Что касается ретиналя, то он, как правило, ковалентно связан протонированным шиффовым основанием (РПШО) с лизинным аминокислотным остатком опсина в седьмой трансмембранной α -спирали (TM7) и находится в полностью-*транс* (родопсины I и III типов) или 11-*цис* (родопсины II типа) изомерной форме. Следует подчеркнуть, что хромофорный центр — это наиболее консервативный домен опсина. Ближайшее белковое окружение РПШО является принципиально важным как для спектральной настройки молекулы родопсина, так и для осуществления сверхбыстрой и эффективной фотохимиче-

ской реакции изомеризации хромофора, лежащей в основе функционирования всех РСБ. Рассматривая роль ближайшего белкового окружения РПШО в хромофорном центре опсина, допустимо говорить о белковом катализе процесса фотоизомеризации. При этом вопрос о природе взаимодействия белок—хромофор — стерическом, электростатическом, водородном и гидрофобном — остается предметом активного изучения [20].

Что касается топологии в мембране белковой части молекулы, то если в родопсинах I и II типов *N*-конец обращен наружу клетки, а *C*-конец — внутрь, в родопсинах III типа наблюдается противоположное расположение, при котором *N*-конец обращен внутрь клетки, а *C*-конец — наружу [4, 7, 21]. Причина и биологический смысл такого расположения родопсинов III типа в мембране клетки остаются неясными. Удивительно и то, что «перевернутая» топология белковой части молекулы обнаружена и у обонятельных G-белок-связывающих рецепторов насекомых [22].

Родопсины зубактерий и архей I типа, включая бактериородопсин, осуществляющий простейший фотосинтез, — одни из самых древних белков биосферы, они возникли в клетках прокариот около 3,8 млрд лет назад. Родопсины одноклеточных эукариот I типа возникли около 3,2 млрд лет назад, в то время как родопсины высших животных II типа, включая зрительный родопсин, появились в многоклеточных эукариотах менее 1 млрд лет назад [5, 11, 18, 23–25].

В рамках теории конвергентной эволюции родопсинов предполагается, что предшественниками микробных родопсинов были лизосомальные переносчики цистеина, имеющие 7- α -спиральную структуру [15]. Предшественниками животных родопсинов были, как считается, сАМР-зависимые G-белок-связывающие рецепторы с классической 7- α -спиральной структурой, то есть не содержащие ретиналь рецепторы [12–14], а ретиналь в качестве хромофора был «вставлен» в хромофорный центр зрительных опсинов позже.

В рамках теории дивергентной эволюции в одной из работ предполагается, что сначала из сАМР-рецепторов произошли родопсины II типа (как и другие G-белок-связывающие рецепторы класса A), от которых затем произошли родопсины I типа путем горизонтального переноса генов от эукариот к прокариотам [9]. В другой работе, исходя из оптимизации электронных свойств хромофора, невзирая при этом на явное различие аминокислотных последовательностей,

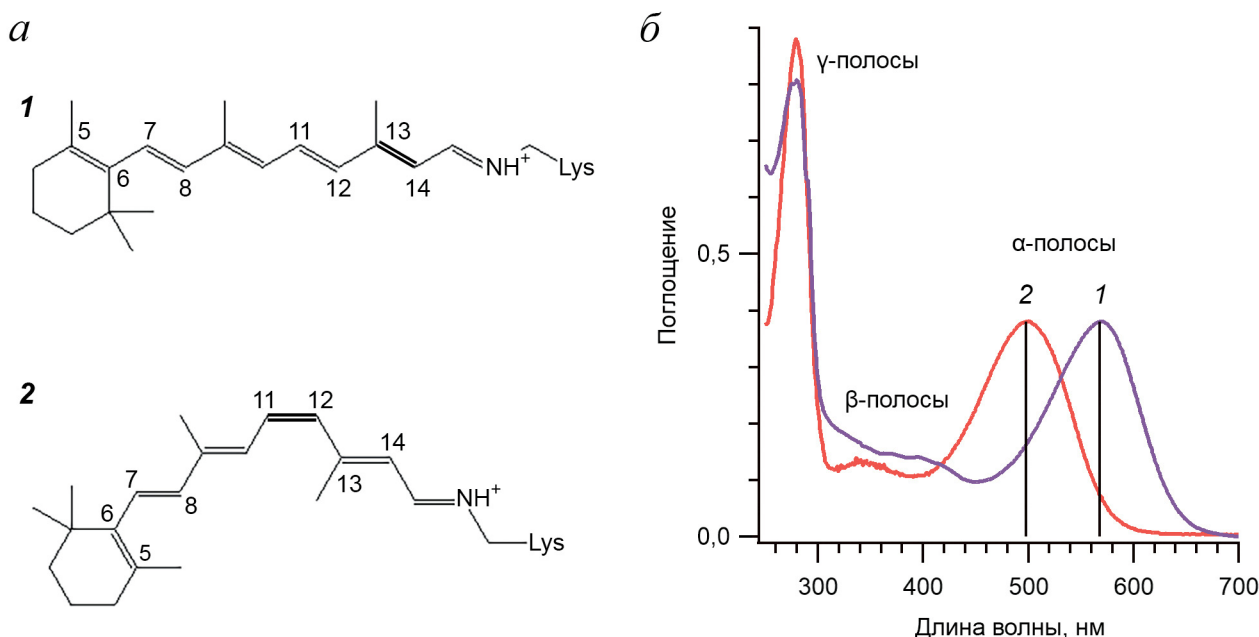


Рис. 1. Физико-химические характеристики хромофорной группы родопсинов I и II типов. *а* – Химические структуры хромофорной группы родопсинов – полностью-*транс* РПШО в родопсинах I типа (1) и 6-*s-цис*–11-*цис* РПШО в родопсинах II типа (2). Реакционная связь выделена жирным. *б* – Нормированные по α-полосе стационарные спектры поглощения суспензии пурпурных мембран, содержащих бактериородопсин археи *Halobacterium salinarum* (BR) (1), и детергентного экстракта зрительного родопсина быка *Bos taurus* (Rh) (2)

авторы предполагают существование дивергентного пути эволюции, но уже от родопсинов I типа к родопсинам II типа [8]. Еще в одной работе, сравнивая структуры Na-связывающего центра в консервативном ароматическом остатке в ТМ6 и функционально важный наклон этой спирали в микробных родопсинах и G-белок-связывающих рецепторах, авторы приходят к предположению об их общем происхождении [10].

Что касается недавно обнаруженных родопсинов III типа, то их происхождение остается загадкой. По мнению авторов одной из работ, гелиородопсины произошли от эукариотических родопсинов II типа, впоследствии были захвачены гигантскими вирусами и перешли в клетки прокариот [16]. Это предполагает, как и в одной из гипотез происхождения родопсинов I типа [9], необычную направленность эволюции от эукариот к прокариотам.

Как бы то ни было, совокупность накопленных к настоящему времени данных позволяет предпочесть представление о конвергентной, независимой эволюции всех трех типов РСБ I, II и III типов. В данном обзоре рассматривается сходство и различие молекулярных механизмов фотохимической реакции в родопсинах I и II типов. На основании наших собственных экспериментальных данных и квантово-химических расчетов приводятся доводы в пользу конвергентной эволюции РСБ.

СРАВНЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ РЕАКЦИЙ ФОТОПРЕВРАЩЕНИЯ РОДОПСИНОВ I И II ТИПОВ

В основе функционирования родопсинов лежит фотохимическая реакция изомеризации хромофорной группы РПШО (полностью-*транс* → 13-*цис* в родопсинах I типа и 11-*цис* → полностью-*транс* в родопсинах II типа) (рис. 1, *а*) [1, 2, 26–30]. Фотореакция протекает в возбужденном состоянии и характеризуется уникальными параметрами, которые определяются как химическими свойствами самого хромофора, так и влиянием белкового окружения на хромофор [26, 31–33]. При этом энергия кванта света запасается путем образования напряженной, сильно скрученной конфигурации изомеризованного РПШО в хромофорном центре [34]. Кроме того, в случае родопсинов I типа дополнительный вклад в запасание энергии кванта света вносит изменение структуры водородных связей в области РПШО [27]. Эти процессы протекают в фемто- и раннем пикосекундном временных диапазонах [27]. Далее, происходит переход напряженной конфигурации хромофора в отрелаксированное состояние с высвобождением запасенной энергии, что, в свою очередь, приводит к перестройке его ближайшего белкового окружения в хромофорном центре. Этот процесс в конечном итоге

запускает глобальные структурные изменения во всей белковой части молекулы, необходимые для ее функционирования.

В данном разделе обзора рассматриваются механизмы фотоиндуцированных (ф/и) реакций родопсинов I и II типов на примере наиболее изученных представителей этих двух классов РСБ — протонного насоса бактериородопсина археи *H. salinarum* (BR) и G-белок-связывающего зрительного родопсина быка *Bos taurus* (Rh).

На рис. 1, б представлены стационарные спектры поглощения BR и Rh, которые состоят из α -, β - и γ -полос, последняя из которых определяется поглощением опсина и имеет максимум при 280 нм. α - и β -полосы связаны с поглощением РПШО в составе хромофорного центра. При этом в зависимости от изомерной формы, протонирования шиффового основания и особенностей строения хромофорного центра спектральные, фотохимические и ряд других функционально важных свойств молекулы меняются самым существенным образом [35]. Положение α -полосы поглощения определяет спектральный диапазон функционирования родопсинов (300–700 нм) [2]. В случае BR максимум положения α -полосы — 568 нм (рис. 1, б (1)), а в случае Rh — 498 нм (рис. 1, б (2)). На положение максимума поглощения РПШО большое влияние оказывает положение β -иононового кольца [36]. В BR хромофорная группа имеет плоскую *транс*-конфигурацию связей $C_5 = C_6$ и $C_7 = C_8$ относительно одинарной связи $C_6 - C_7$ (6-*s-транс*; рис. 1, а (1)), тогда как в Rh — *цис*-конфигурацию (6-*s-цис*; рис. 1, а (2)), которая является неплоской из-за стерических затруднений, что приводит к уменьшению длины цепи сопряжения хромофора и сдвигу максимума поглощения Rh в более коротковолновую область.

Прямые фотореакции родопсинов I и II типов. При поглощении кванта света происходит фотохимическая реакция изомеризации РПШО и образуются первичные фотопродукты, обладающие спектральными свойствами, отличными от исходного состояния. В данном обзоре представлены наши собственные результаты по динамике первичных процессов фотопревращения BR и Rh, полученные методом фемтосекундной абсорбционной лазерной спектроскопии [37–46] и дополненные данными квантово-химических расчетов [32, 47–50].

На рис. 2 представлены дифференциальные спектры и кинетические кривые ф/и-поглощения BR и Rh, полученные на временах задержки зондирующего импульса до 10 пс. Первые ф/и-сигналы, наблюдаемые в раннем

фемтосекундном временном диапазоне, — это поглощение и вынужденное испускание из возбужденного состояния S_1 (рис. 2, а (2 и 3); рис. 2, б (2)). Далее, эти сигналы сменяются поглощением первого фотопродукта, находящегося в основном электронном состоянии S_0 , а в области поглощения исходного состояния родопсина проявляется отрицательная полоса выцветания (рис. 2, а (5), 600–700 нм; рис. 2, б (4), 540–700 нм). В течение нескольких пикосекунд полоса поглощения первого фотопродукта немного сдвигается в коротковолновую область, что отражает образование следующего продукта в результате процессов колебательной релаксации хромофорной группы и ее ближайшего аминокислотного окружения (рис. 2, а (6); рис. 2, б (6)). Часть возбужденных молекул BR и Rh возвращается в исходное состояние с неизомеризованным РПШО, что определяет квантовый выход реакции.

Сравнительный анализ спектров ф/и-поглощения BR и Rh показывает различия как в положении полос поглощения и вынужденного испускания, так и во времени образования первичных продуктов. В случае BR сигналы из возбужденного состояния (I_{460}) возникают ко времени задержки 100 фс (рис. 2, а (2 и 3); 400–540 нм и 700–880 нм) [42–44]. В течение 1 пс эти сигналы практически полностью исчезают и сменяются положительным сигналом поглощения первого продукта (J_{625}) (рис. 2, а (5)), содержащего РПШО в 13-*цис*-конфигурации. Следующий продукт (K_{590}) образуется в пикосекундном масштабе времени (рис. 2, а (6)).

В случае Rh сигналы из возбужденного состояния (Rh_{510}^*) возникают за время < 30 фс (рис. 2, б (2); 410–480 нм и 620–720 нм) [41, 42], что значительно быстрее, чем в BR. Ко времени задержки 100 фс эти сигналы уже исчезают и сменяются положительным сигналом поглощения первого продукта ($Фото_{570}$), который окончательно образуется к 200 фс после поглощения кванта света (рис. 2, б (3 и 4)) [37, 38, 41, 42]. Следующий продукт ($Бато_{535}$) образуется в течение нескольких пикосекунд (рис. 2, б (5 и 6)).

На рис. 2 приведены кинетические кривые ф/и-поглощения BR и Rh, отражающие образование и распад возбужденного состояния (I_{460} и Rh_{510}^* соответственно; рис. 2, в) и образование первого продукта фотореакции (J_{625} и $Фото_{570}$ соответственно; рис. 2, г). В случае Rh фотореакция протекает значительно быстрее (60 фс) по сравнению с BR (480 фс) [40, 42–44], что хорошо согласуется с данными работ Kochendoerfer и Mathies [51],

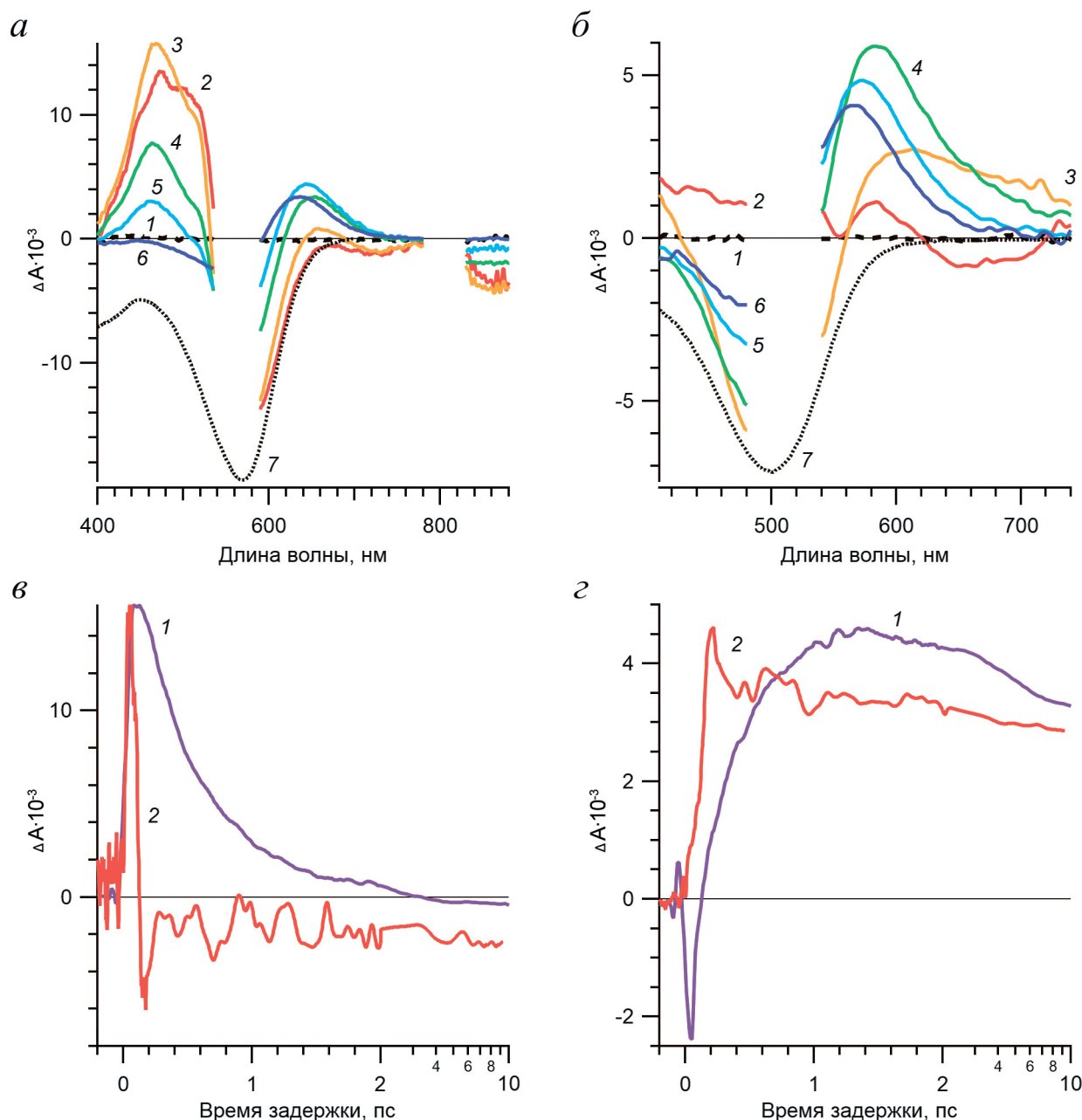


Рис. 2. Прямые фотореакции BR и Rh. *а* – Спектры ф/и-поглощения BR, зарегистрированные на временах задержки: –0,2 (1), 0,05 (2), 0,12 (3), 0,5 (4), 1 (5) и 10 (6) пс. *б* – Спектры ф/и-поглощения Rh, зарегистрированные на временах задержки: –0,2 (1), 0,03 (2), 0,1 (3), 0,2 (4), 0,8 (5) и 10 (6) пс. Стационарные спектры поглощения BR (*а*) и Rh (*б*) представлены с обратным знаком (7). *в, з* – Нормированные кинетические кривые ф/и-поглощения BR (1) и Rh (2), зарегистрированные в полосе поглощения возбужденного состояния (*в*) на длинах волн зондирования 470 (BR) и 410 (Rh) нм и в полосе поглощения продукта фотореакции (*з*) на длинах волн зондирования 640 (BR) и 580 (Rh) нм. Кинетические кривые представлены в линейном масштабе времени задержки до 2 пс и далее – в логарифмическом масштабе. Рисунок адаптирован с разрешения [44]

Polli et al. [52] и Johnson et al. [53, 54]. Время образования второго продукта реакции BR (K_{590}) оценивается в 1,8 пс, а второго продукта реакции Rh (Бато₅₃₅) – в 2,2 пс [44]. Анализ динамики распада возбужденного состояния (как Rh, так и BR) показывает, что в небольшой доле молекул ($\approx 4\%$) возбужденное состояние живет гораздо дольше (2,4 пс), а его

распад приводит к образованию только исходного состояния РСБ, поэтому такой путь распада называется нереакционным [44]. Наличие нескольких путей распада возбужденного состояния, некоторые из которых могут быть нереакционными, в целом характерно для родопсинов I типа [55–58] и в меньшей степени – для родопсинов II типа [59]. Это связывают

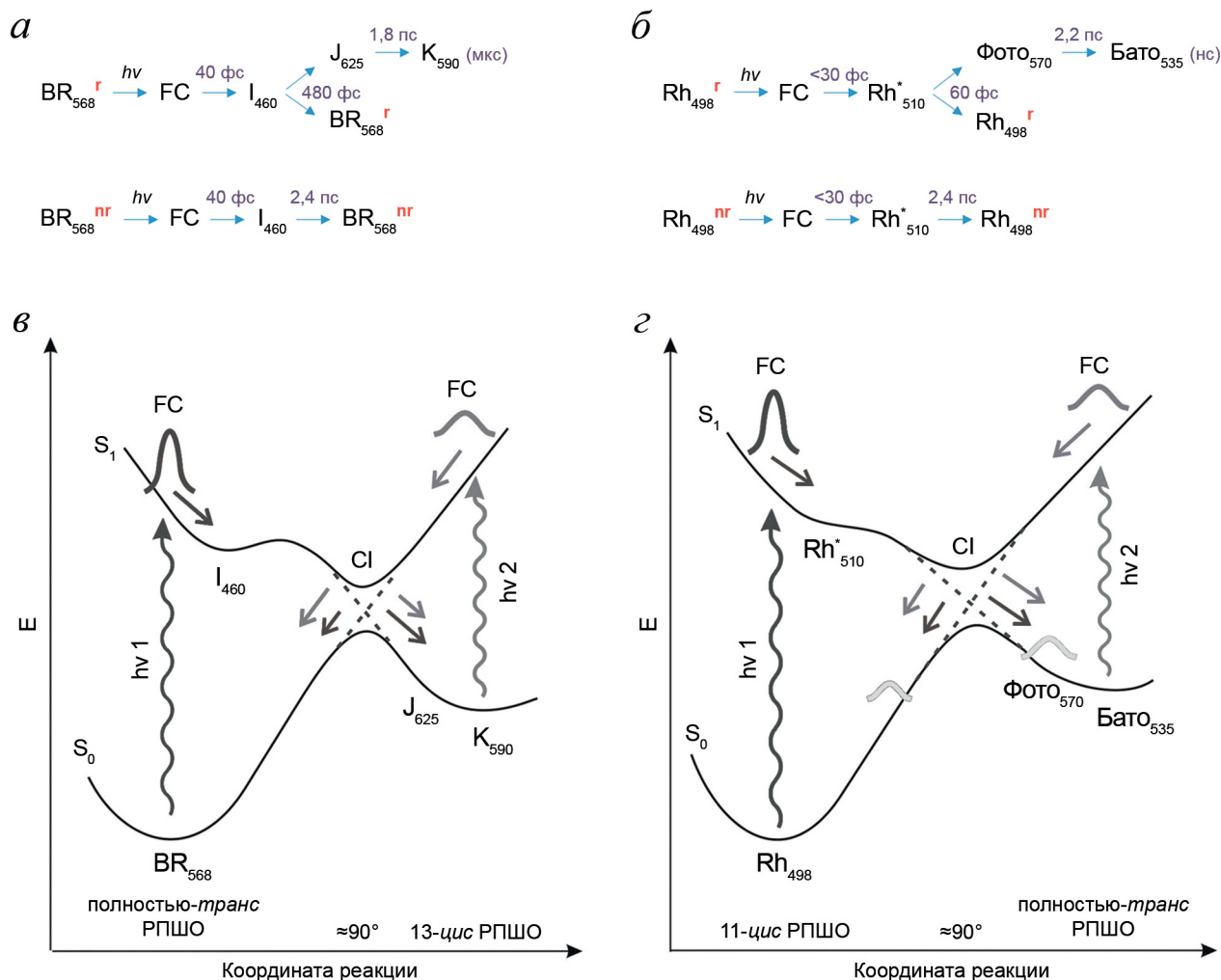


Рис. 3. Кинетические схемы элементарной реакции фотоизомеризации в родопсине I типа – BR (a) и в родопсине II типа – Rh (б). На схемах приведены времена жизни промежуточных состояний и указаны реакционные (индекс «r») и нереакционные (индекс «nr») пути распада возбужденного состояния. Строение поверхностей потенциальной энергии (S₀ и S₁) родопсинов I типа на примере BR (в) и родопсинов II типа на примере Rh (г), показывающее реакционный путь их прямой (темно-серый цвет) и обратной (серый цвет) фотореакций в фемто- и пикосекундном диапазонах времен. FC – франк-кондоновское состояние; CI – коническое пересечение. Рисунок адаптирован с разрешения [42]

с разделением путей реакции во франк-кондоновском состоянии (FC) или с исходной гетерогенностью белковой части молекулы [28, 60]. Последнее предположение было подтверждено для натриевого насоса KR2 бактерии *Krokinobacter eikastus* [49, 57] и для протонных насосов протеородопсина и BR [58]. Соотношение доли возбужденных молекул, претерпевающих изомеризацию, и доли возбужденных молекул, возвращающихся в исходное состояние по реакционному и нереакционному путям, определяет квантовый выход изомеризации, который составляет 0,64 для BR [61] и 0,65 – для Rh [62]. Кинетическая схема и времена наблюдаемых процессов представлены на рис. 3, а и б.

Отличительной особенностью фотореакции РПШО в родопсинах и в растворе явля-

ется наличие осцилляционной составляющей в ее динамике на ранних временах [29, 42, 53, 63, 64]. Фазы и амплитуды этих осцилляций позволили интерпретировать их возникновение как результат нестационарного колебательного движения в возбужденном и основном электронных состояниях реагента и продуктов реакции. В фотохимических реакциях такого типа, вопреки классическим представлениям, образование продукта происходит как результат согласованного движения ядер молекулы и завершается быстрее процессов колебательной релаксации и дефазировки различных колебательных состояний в возбужденном состоянии [65, 66]. Такие реакции называются когерентными и могут быть описаны как движение волнового пакета (набора когерентных возбужденных колебательных

состояний) сначала по S_1 , а потом по S_0 -поверхности потенциальной энергии (ППЭ) вдоль координаты реакции. Такой быстрый переход $S_1 \rightarrow S_0$ возможен из-за наличия многомерной области конического пересечения (conical intersection, CI) S_1/S_0 ППЭ, благодаря которой происходит эффективное и сверхбыстрое преобразование энергии квантов света в химическую энергию [31, 67].

Основные отличия динамики прямых фотореакций BR и Rh связаны со строением S_0 , S_1 и S_2 ППЭ реакционных форм этих родопсинов (рис. 3, в и г), которое определяется как изомерной формой РПШО, так и влиянием на хромофор специфического белкового окружения.

В случае BR, как и других родопсинов I типа, прямая фотореакция описывается моделью трех состояний (S_0 , S_1 и S_2) [26, 28, 55, 68], постулирующей наличие небольшого барьера на пути распада возбужденного состояния S_1 из-за взаимодействия с S_2 ППЭ, что сильно влияет на динамику реакции (рис. 3, в). При возбуждении молекулы BR на S_1 ППЭ образуется состояние FC, которое в результате движения волнового пакета вдоль полносимметричных ($C=C$ и $C-C$) колебательных мод РПШО за время 40 фс переходит в возбужденное состояние I_{460} . Далее волновой пакет начинает двигаться вдоль реакционных колебательных мод — внеплоскостных колебаний атомов водорода $H-C=C-H$ (hydrogen-out-of-plane, HOOP) и торсионных колебаний и, преодолевая небольшой барьер на S_1 ППЭ, достигает области CI с характерным временем 480 фс. В области CI волновой пакет разделяется на два подпакета, один из которых переходит на S_0 ППЭ продукта J_{625} , а второй — на S_0 ППЭ исходного состояния BR_{568} . В результате преодоления барьера на S_1 ППЭ волновой пакет сильно теряет свои когерентные свойства, что видно по отсутствию ярко выраженных осцилляций во время разрешенных сигналах поглощения первого продукта J_{625} (рис. 2, г (1)) [29, 42–44, 55, 56]. Такой тип динамики называется диффузным [26].

В случае Rh, как и других родопсинов II типа, прямая фотореакция описывается моделью двух состояний (S_0 и S_1) (рис. 3, г) [2, 26, 28, 69]. В результате возбуждения молекулы Rh на S_1 ППЭ образуется состояние FC, которое меньше чем за 30 фс переходит в возбужденное состояние Rh_{510}^* , как результат движения волнового пакета вдоль полносимметричных ($C=C$ и $C-C$) колебательных мод РПШО, как и в случае BR. Далее волновой пакет двигается вдоль реакционных внеплоскостных (HOOP и торсионных) колебательных мод, через

≈ 60 фс достигает области CI, где разделяется на два подпакета. Первый подпакет двигается по S_0 ППЭ Фото₅₇₀, что сопровождается колебательной релаксацией этого продукта и отражается в ярко выраженных осцилляциях кинетических кривых (рис. 2, г), а второй подпакет переходит на S_0 ППЭ исходного состояния Rh_{498} , где также продолжает свое движение. Таким образом, переход $S_1 \rightarrow S_0$ волнового пакета в процессе фотореакции Rh происходит быстро, направленно и безбарьерно с сохранением значительной доли когерентности [37, 38, 42, 63]. Такой тип динамики называется баллистическим или импульсным [26, 70].

Для объяснения различий в динамике протекания ф/и-процессов и специфичности реакции фотоизомеризации в BR и Rh были проведены квантово-химические расчеты структуры этих РСБ и проведен анализ активности колебательных мод при фотовозбуждении $S_0 \rightarrow S_1$ и их связи с реакционными модами при безызлучательном переходе $S_1 \rightarrow S_0$.

На рис. 4 показаны оптимизированные структуры полностью-*транс* и 11-*цис* РПШО в основном электронном состоянии в белковом окружении BR и Rh соответственно, полученные при помощи комбинированного метода квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ) [48].

В белковом окружении хромофоры оказываются существенно скрученными по реакционным связям (рис. 4, а и в). При этом вне белкового окружения такая скрученность отсутствует и π -сопряженная система является плоской за исключением двойной связи β -ионового кольца. Эта связь в зависимости от конфигурации РПШО либо лежит в плоскости сопряжения остальных пяти двойных связей (6-*s-транс*; рис. 1, а (1)), либо выходит из плоскости сопряжения (6-*s-цис*; рис. 1, а (2)). Необходимо отметить, что в белковом окружении угол выхода двойной связи β -ионового кольца из плоскости сопряжения в BR практически не меняется, тогда как в Rh он значительно увеличивается [48].

Таким образом, белковое окружение действительно способствует изменению конформации и «скручиванию» хромофорной группы, что обусловлено ее взаимодействием с ближайшими аминокислотными остатками в хромофорном центре. Это связано главным образом с образованием водородных связей между протонированным шиффовым основанием и первичным противополоионом, что сильно влияет на торсионный угол реакционной связи. Кроме того, речь идет и о стерических взаимодействиях в области β -ионового кольца ретиналя.

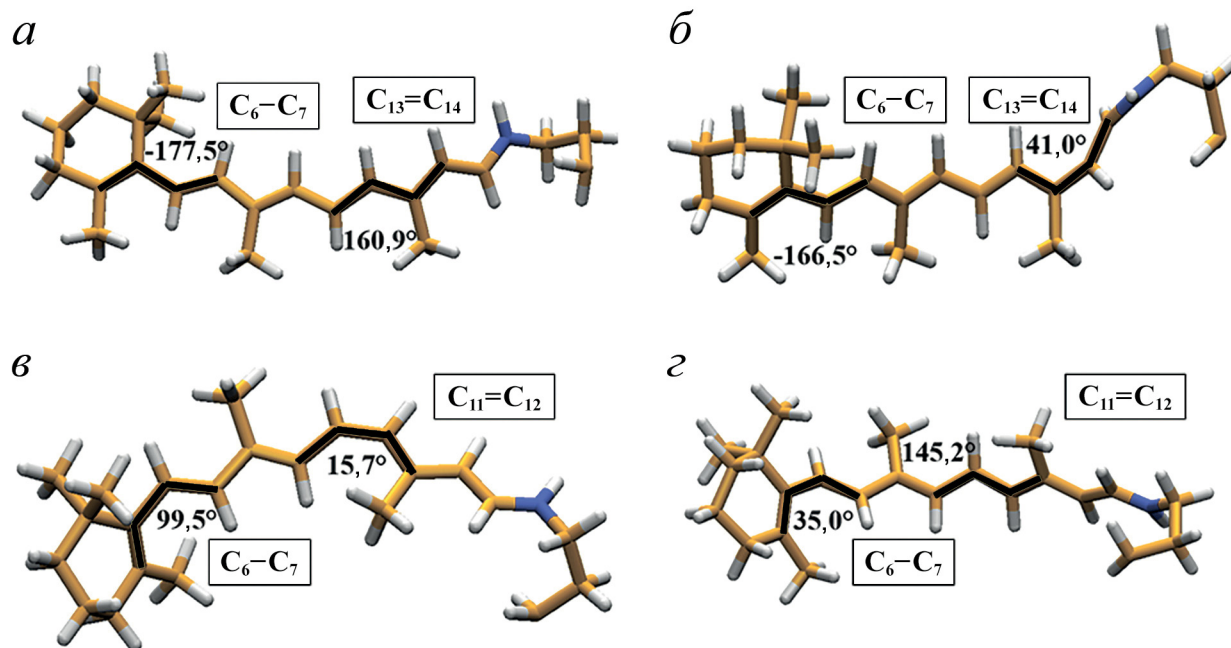


Рис. 4. Оптимизированные структуры реагентов и первичных фотопродуктов BR и Rh — полностью-*транс* РПШО в BR₅₆₈ (а), 13-*цис* РПШО в K₅₉₀ (б), 11-*цис* РПШО в Rh₄₉₈ (в) и полностью-*транс* РПШО в Bato₅₃₅ (г). Черными линиями обозначены двугранные углы, их значения приведены на рисунке

Как и ожидалось, геометрии первичных фотопродуктов оказываются еще более скрученными по реакционным связям из-за их нерелаксированности в белковом окружении, которое на пикосекундных временах еще остается более оптимальным для исходных изомеров РПШО (рис. 4, б и г).

Интересно отметить, что в газовой фазе барьер вращения по одинарной связи C₆—C₇ не превышает 3 ккал/моль [50], что обуславливает практически свободный переход между конформациями 6-*s-транс* и 6-*s-цис* РПШО. Как было отмечено выше, длина цепи π-сопряжения является важным фактором, влияющим на положение длины волны максимума поглощения. Внутримолекулярное вращение по одинарной связи C₆—C₇ приводит к аномально широкому спектру поглощения изомеров РПШО в газовой фазе [71], тогда как белковое окружение может легко влиять на конформацию РПШО в области β-иононового кольца и, в зависимости от величины двугранного угла по связи C₆—C₇, регулировать длину цепи π-сопряжения в хромофоре, тем самым настраивая его поглощение на определенный диапазон. Такой механизм регуляции фотофизических свойств РПШО может лежать в основе спектральной настройки родопсинов II типа. Примечательно, что в BR положение β-иононового кольца не меняется ни по сравнению с газовой фазой, ни при переходе в первичные фотопродукты, тогда как в Rh его конформация пре-

терпевает существенные изменения. Таким образом, конформация β-иононового кольца оказывается менее значимой в родопсинах I типа по сравнению с родопсинами II типа.

О влиянии скрученности по реакционным связям различных изомеров РПШО на динамику фотоизомеризации в белковом окружении можно также судить, исходя из сравнения их с фотооткликом в газовой фазе. Как было отмечено выше, в изолированном состоянии изомеры РПШО обладают плоской структурой основной части π-сопряженной системы. С помощью экспериментов в газовой фазе с фемтосекундным временным разрешением и квантово-химических расчетов было показано, что динамика релаксации электронно-возбужденного состояния S₁ 11-*цис*-изомера РПШО проходит на субпикосекундных временах (400 фс) [32] и сопоставима со сверхбыстрыми временами фотоизомеризации хромофора в Rh (50–100 фс) [40, 42, 51–54]. При этом специфичность реакции и средние времена жизни возбужденного состояния полностью-*транс*-изомера РПШО значительно различаются в изолированном состоянии (3 пс) [32] и белковом окружении BR (~500 фс) [29, 55, 56, 58]. Важно отметить, что в газовой фазе фотоизомеризация плоского полностью-*транс*-изомера РПШО происходит медленно, но селективно. Наименьший барьер изомеризации в состоянии S₁ наблюдается в случае связи C₁₁=C₁₂, а не связи C₁₃=C₁₄, как в BR.

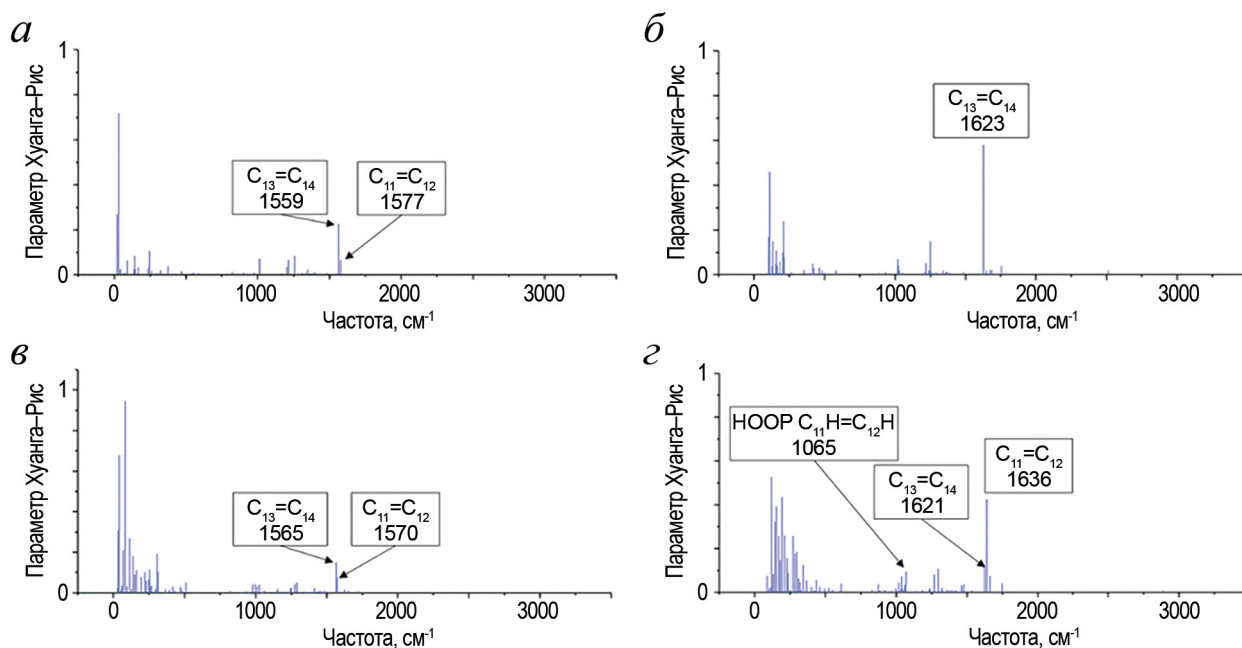


Рис. 5. Активность колебательных мод РПШО при переходе $S_0 \rightarrow S_1$ в газовой фазе и белковом окружении: полностью-*транс* РПШО в газовой фазе (а) и в BR₅₆₈ (б); 11-*цис* РПШО в газовой фазе (в) и в Rh₄₉₈ (г)

Таким образом, влияние белкового окружения является ключевым в случае родопсинов I типа. В случае же родопсинов II типа используется более совершенный, с точки зрения фотохимических свойств, 11-*цис*-изомер РПШО. При этом в Rh реакция идет на сверхкоротких временах, что также говорит о важном влиянии белкового окружения в хромофорном центре. Это отличие приводит к протеканию первичной фотохимической реакции в родопсинах II типа в ярко выраженном когерентном режиме.

Влияние конформации реакционных связей РПШО на динамику фотоизомеризации независимо подтверждено и при изучении химически модифицированного полностью-*транс*-хромофора, скрученного по одной из двойных связей. Изменение конформации РПШО по реакционной связи приводит к значительному уменьшению величины барьера фотоизомеризации и к субпикосекундным временам, что характерно для реакции в белковом окружении [47].

Скрученность по реакционной связи в электронном состоянии S_0 не только изменяет топографию ППЭ в состоянии S_1 , уменьшая барьер фотоизомеризации, но и способствует одновременному возбуждению определенных колебательных мод при переходе $S_0 \rightarrow S_1$ [48, 49]. Происходит возбуждение как валентных колебаний, локализованных преимущественно на реакционной двойной связи, так и НООР-колебаний при этой связи. При этом белко-

вое окружение BR способствует возбуждению колебаний связи $C_{13}=C_{14}$, тогда как в случае Rh белковое окружение способствует возбуждению колебаний связи $C_{11}=C_{12}$. Об активности колебательных мод при фотовозбуждении можно судить по смещениям минимумов ППЭ состояний S_0 и S_1 вдоль этих мод. Смещения характеризуют изменения геометрии хромофора в S_1 -состоянии по сравнению с S_0 . Определенное колебание будет тем активнее при фотовозбуждении, чем больше смещение вдоль этой моды. Удобным безразмерным параметром, по которому можно судить об активности колебательной моды при электронном переходе, является так называемый фактор Хуанга–Рис, который связан с квадратом смещения вдоль нормальной моды в гармоническом приближении. На рис. 5 представлены факторы Хуанга–Рис для полностью-*транс* и 11-*цис* РПШО в белковом окружении и газовой фазе, рассчитанные при помощи метода КМ/ММ с использованием многоконфигурационной квазивыврожденной теории возмущений второго порядка [48, 49].

В газовой фазе у плоских изомеров полностью-*транс* и 11-*цис* РПШО при возбуждении в состояние S_1 активны два высокочастотных валентных колебания связей $C_{11}=C_{12}$ и $C_{13}=C_{14}$. В случае BR активность колебательной моды, локализованной на связи $C_{13}=C_{14}$, становится значительно больше по сравнению с газовой фазой, а валентное колебание связи $C_{11}=C_{12}$ полностью пропадает. В случае же Rh,

наоборот, интенсивность моды, связанной с колебаниями связи $C_{11}=C_{12}$, заметно увеличивается, а интенсивность моды $C_{13}=C_{14}$ уменьшается. Более того, в Rh также становятся активными внеплоскостные НООР-колебания атомов водорода при связи $C_{11}=C_{12}$.

Таким образом, увеличение скрученности по реакционной связи способствует увеличению активности соответствующего валентного колебания при фотовозбуждении. Следует отметить, что специфичность фотоотклика РПШО и активность колебаний, способствующих фотоизомеризации по определенной двойной связи (в данном случае валентные и НООР-колебания), в большей степени характерны именно для Rh. Это коррелирует с очень высокой скоростью фотохимической реакции в этом родопсине II типа. Важным фактором также является возможность возбуждения различного типа реакционных мод в одинаковой фазе, что способствует когерентному протеканию реакции в Rh.

Таким образом, результаты квантово-химических расчетов позволили объяснить обнаруженную экспериментально разницу в динамике протекания ф/и-процессов в BR и Rh. Основным фактором, влияющим на эти процессы и определяющим различие в динамике протекания фотореакции в обоих случаях, является белковое окружение РПШО. Фотоотклик хромофорной группы в родопсинах I и II типа становится высоко специфичным по сравнению с газовой фазой уже на ранних временах, приводя к возбуждению определенных колебательных мод, способствующих изомеризации по реакционной связи. Хромофор 11-*цис* РПШО родопсинов II типа является более быстрым и селективным по сравнению с полностью-*транс* РПШО BR. Кроме этого, белковое окружение Rh приводит к возбуждению не только валентных колебаний реакционной связи, но и внеплоскостных колебаний атомов водорода при этой связи, непосредственно приводящих к реакции фотоизомеризации. Необходимо также отметить, что конформация β -иононового кольца 6-*s-цис*—11-*цис* изомера РПШО, по всей видимости, является важным фактором регуляции фотофизических свойств хромофорной группы родопсинов II типа, что связано с механизмом спектральной настройки.

Таким образом, судя по всему, эволюционно более «молодые» родопсины II типа обладают более совершенными хромофорным центром опсина и изомерной формой хромофора для осуществления эффективной прямой фотохимической реакции.

Фотохромизм родопсинов I и II типов. Родопсины обладают фотохромными свойствами [30, 34, 61, 72], то есть способностью осуществлять фотопереходы из промежуточных продуктов прямой фотореакции обратно в исходное состояние. Эта способность, реализуемая в природе в ряде родопсинов, начиная с наносекундного временного диапазона, служит для выполнения определенных физиологических функций в таких родопсинах I типа, как сенсорный родопсин I *H. salinarum* [73], сенсорный родопсин цианобактерии *Anabaena* sp. [29] и канальный родопсин одноклеточной зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* [74] и в таких родопсинах II типа, как зрительные родопсины беспозвоночных [75–77] и близкородственные им меланопсины позвоночных [78].

Несмотря на то что на первых стадиях фотопревращения родопсинов обратные фотопереходы в природе практически не реализуются, тем не менее изучение такого сверхбыстрого фотохромизма в условиях *in vitro* может дать дополнительные сведения о молекулярных механизмах фотохимической реакции этих РСБ. В данном обзоре представлены результаты наших исследований по изучению обратной фотореакции BR и Rh, инициированной в фемто- и раннем пикосекундном временных диапазонах [39, 41, 42].

На рис. 6 представлен спектр ф/и-поглощения BR, зарегистрированный на времени задержки 100 пс после действия первого возбуждающего импульса с длиной волны 560 нм (импульс 1) и состоящий из полосы поглощения продукта K_{590} и полосы выцветания исходного состояния BR_{568} (рис. 6, а (1)). Вторым возбуждающий импульс с длиной волны 680 нм (импульс 2), следующий с задержкой 5 пс, возбуждает молекулы K_{590} , часть из которых в результате обратной фотореакции (13-*цис* → полностью-*транс* РПШО) возвращается в исходное состояние BR_{568} . При этом уменьшается темновое образование продукта K_{590} и увеличивается поглощение исходного состояния BR_{568} (рис. 6, а (2)). Квантовый выход обратной фотореакции BR из продукта K_{590} составляет 0,81 [16], что согласуется с данными работ Kim et al. [61] и Balashov et al. [79]. Обратный фотопереход может быть осуществлен не только из продукта K_{590} (рис. 6, а (вставка: 3 и 5 пс)), но и из продукта J_{625} (рис. 6, а (вставка: 1 пс)) примерно с одинаковой эффективностью [42].

В случае Rh действие импульса 2 (620 нм), следующего с задержкой относительно импульса 1 (500 нм) 0,2–3,8 пс, также приводит

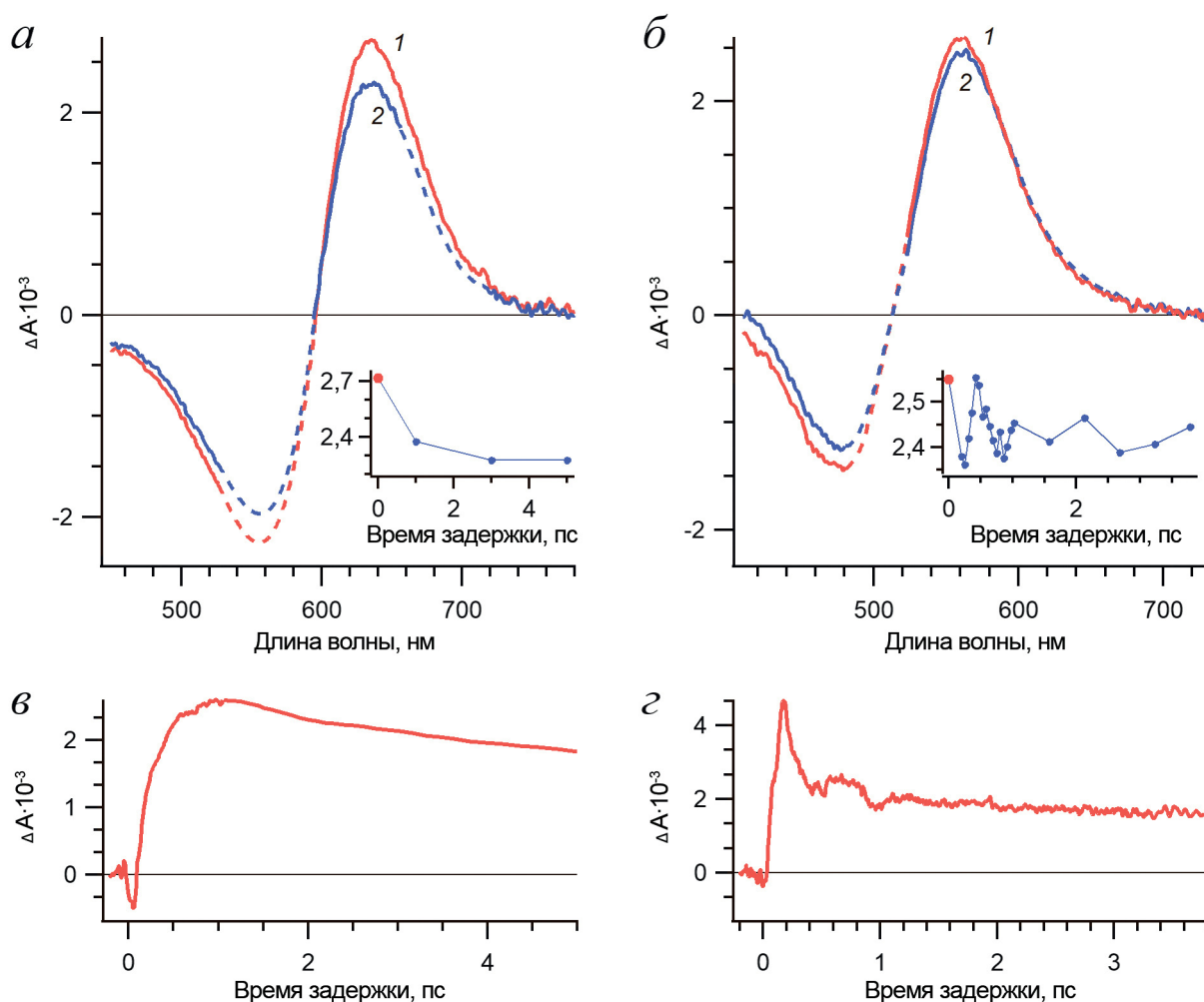


Рис. 6. Обратные фотореакции BR и Rh. *а, б* – Спектры ф/и-поглощения BR (*а*) и Rh (*б*), зарегистрированные на времени задержки зондирования 100 пс после действия одного (1) и двух (2) возбуждающих импульсов с задержкой второго возбуждающего импульса 5 пс (*а*) и 200 фс (*б*). В спектральных областях прохождения возбуждающих импульсов экспериментальные кривые были достроены модельными кривыми (пунктирные кривые). Вставка: значения ф/и-поглощения BR (*а*) и Rh (*б*), зарегистрированные на длинах волн зондирования 635 нм (*а*) и 560 нм (*б*) до и после действия второго возбуждающего импульса в зависимости от его времени задержки. *в, з* – Кинетические кривые ф/и-поглощения BR (*в*) и Rh (*з*), зарегистрированные после действия одного возбуждающего импульса на длинах волн зондирования 680 нм (*в*) и 620 нм (*з*). Рисунок адаптирован с разрешения [41, 42]

к индуцированию обратной фотореакции (рис. 6, б) [39, 41, 42, 46]. В зависимости от задержки импульса 2 происходит обратный фотопереход (полностью-*транс* → 11-*цис* РПШО) из продукта Фото₅₇₀ (рис. 6, б (вставка: 0,2–2 пс)) или из продукта Бато₅₃₅ (рис. 6, б (вставка: 3–3,8 пс)). Эффективность обратной фотореакции Rh из продукта Фото₅₇₀ зависит от фазы осцилляций во время разрешенных сигналах поглощения этого продукта (рис. 6, б (вставка); рис. 6, з), а время этой фотореакции сравнимо или меньше времени прямой фотореакции [41]. Квантовый выход обратной фотореакции Rh из продукта Бато₅₃₅ составляет 0,15 [41, 42, 46], что значительно меньше значения (0,5), полученного ранее при 77 К в работе Suzuki и Callender [80].

Обратный фотохимический процесс BR и Rh, индуцированный на ранних стадиях, можно описать как движение волнового пакета вдоль правой ветви S_1 ППЭ продуктов исходной фотохимической реакции в направлении области CI S_1/S_0 ППЭ (рис. 3, в и з). Для Rh теоретические расчеты показали, что это та же область CI, которая участвует в прямой фотореакции [81]. Переход молекул из возбужденного состояния S_1 на S_0 ППЭ через область CI приводит к образованию тех же состояний, что и в процессе прямой фотореакции: BR₅₆₈ и J₆₂₅ – в случае BR; Rh₄₉₈ и Фото₅₇₀ – в случае Rh. Если эффективность обратной фотореакции BR практически не зависит от времени задержки импульса 2 (рис. 6, а (вставка)), то для Rh она напрямую коррелирует

с динамикой волнового пакета в продукте Фото₅₇₀ (рис. 6, б (вставка); рис. 6, г), что связано с ярко выраженным когерентным характером прямой фотореакции Rh. В данном случае эффективность обратной фотореакции коррелирует с количеством молекул продукта Фото₅₇₀, возбужденных импульсом 2.

Скорость обратной фотохимической реакции в родопсинах сильно зависит от конкретной изомерной формы РПШО. Фотопереход из *транс*- в *цис*-форму обычно протекает медленнее по сравнению с фотопереходом *цис* → *транс*, и это наблюдается как в белке, так и в газовой фазе, и растворе [26, 29, 32, 52, 57, 58, 82]. Это различие обусловлено строением S₀, S₁ и S₂ ППЭ, как было описано выше на примерах BR и Rh (рис. 3, в и г). В работе Gai et al. [56] было показано, что в случае BR при возбуждении продукта K₅₉₀ обратная фотохимическая реакция из 13-*цис*- в полностью-*транс*-форму РПШО проходит за время ≈ 100 фс, что значительно короче, чем время протекания прямой фотореакции (480 фс). Можно предположить, что для Rh будет наблюдаться обратная закономерность. Однако, как было показано экспериментально для продукта Фото₅₇₀ [41] и теоретически для продукта Бато₅₃₅ [81], время обратного фотоперехода из полностью-*транс*- в 11-*цис*-форму РПШО сравнимо или меньше времени прямого фотоперехода (60 фс). Предположительно, на скорость (и селективность) обратной фотохимической реакции BR и Rh влияет значительный поворот реакционной связи хромофора в их первичных продуктах на угол от –39° до –20° и от –36° до –34,8° соответственно [31, 83]. Это позволяет быстро и безбарьерно достичь области С1 даже в случае перехода *транс* → *цис*, как это имеет место в случае обратной фотореакции Rh.

Следует подчеркнуть, что если квантовые выходы прямой фотореакции BR и Rh практически совпадают (≈ 0,65), то квантовые выходы их обратной фотореакции из первых фотопродуктов сильно отличаются – 0,81 и 0,15 соответственно. Согласно теоретическим расчетам [31, 81], квантовый выход образования продукта, как прямой, так и обратной фотореакций родопсинов, определяется соотношением фаз НООР и торсионных колебательных мод РПШО в момент перехода S₁ → S₀. Также немаловажную роль в эффективности фотореакции играет исходное заселение C=C и НООР колебательных мод при реакционной связи при возбуждении, как было сказано выше. В растворе метанола фотореакции 13-*цис* → полностью-*транс* и полно-

стью-*транс* → 11-*цис* РПШО идут с квантовыми выходами, близкими по значению (0,11 и 0,14 соответственно) [84]. Исходя из этого можно заключить, что столь различные квантовые выходы аналогичных обратных фотореакций BR и Rh определяются специфическим влиянием белкового окружения в хромофорном центре.

Можно отметить, что, с функциональной точки зрения, столь малый квантовый выход обратной фотореакции Rh, по сравнению с BR, является преимуществом, способствующим более надежному осуществлению прямой реакции, запускающей процесс фототрансдукции. Поглощение света родопсинами I типа служит в основном фотоэнергетической функции, как в случае BR, и обратные фотореакции, вполне вероятно, не могут существенно повлиять на ее эффективность. Однако в случае родопсинов II типа, которые являются G-белок-связывающими рецепторами, 11-*цис* РПШО действует как эффективный лиганд-антагонист, поддерживающий низкий тепловой «темновой» шум фоторецепторной клетки. При поглощении света изомеризованный полностью-*транс* РПШО превращается в мощный лиганд-агонист, и активированный Rh инициирует процесс фототрансдукции. В этом случае вероятность возникновения обратной фотореакции может значительно снизить эффективность запуска процесса фототрансдукции.

Таким образом, меньшая эффективность обратной фотореакции Rh, повышающая надежность прямой фотореакции, может рассматриваться как один из аргументов в пользу отбора в ходе эволюции 11-*цис*-изомера в качестве хромофорной группы родопсинов II типа. Это свидетельствует о более совершенном строении хромофорного центра Rh и выборе в процессе эволюции такого хромофора (11-*цис* РПШО), который позволяет эффективно осуществлять процесс фототрансдукции. Естественно, в реальных, физиологических условиях вероятность попадания второго кванта света на столь короткоживущий интермедиат фотолиза Rh, как Бато₅₃₅ и тем более Фото₅₇₀, крайне низка, однако потенциальная возможность снижения вероятности обратной фотореакции в структуре Rh и его хромофорного центра заложена.

Вместе с тем совершенно очевиден физиологический смысл обратных фотохимических реакций родопсинов II типа беспозвоночных животных с поздних промежуточных стадий фотопревращения. У большинства беспозвоночных животных это один из основных путей

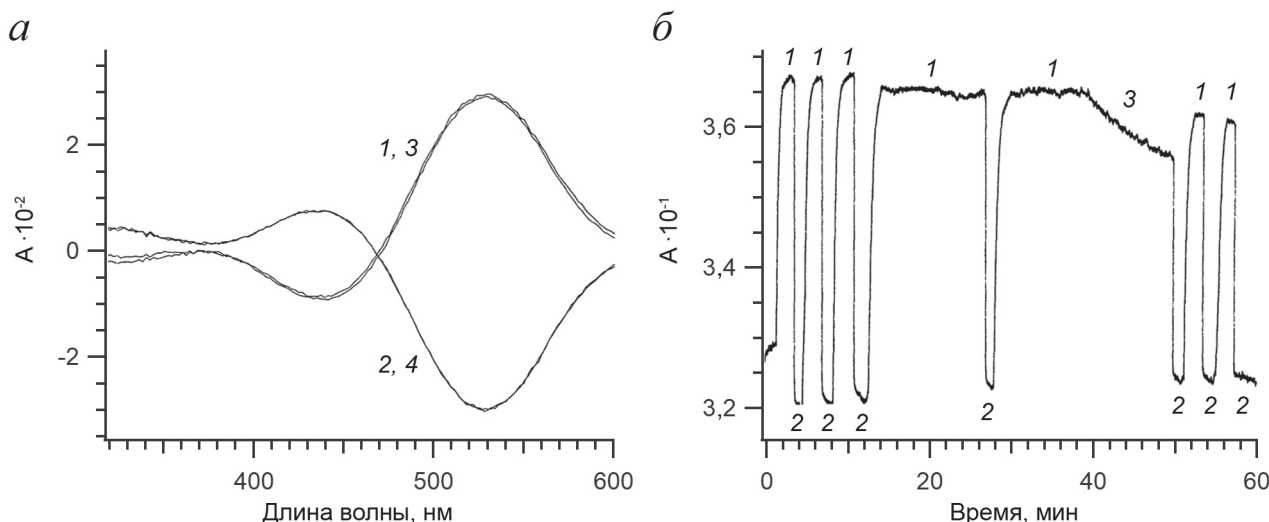


Рис. 7. Фотохромные реакции родопсина осьминога. *а* – Дифференциальные спектры двух последовательных циклов родопсина осьминога, демонстрирующие обратимое фотопревращение родопсина в кислый метародопсин: метародопсин минус родопсин (1 и 3, после освещения синим светом) и фоторегенерированный родопсин минус метародопсин (2 и 4, после освещения красным светом). *б* – Фотообратимость родопсина осьминога, зарегистрированная на длине волны максимума кислого метародопсина 528 нм при действии синего света (1), красного света (2) и в темноте (3). Рисунок адаптирован с разрешения [76]

регенерации (фоторегенерации) зрительного пигмента [75, 77]. Например, конечным продуктом прямой фотореакции родопсина осьминога является так называемый кислый метародопсин, а обратной – снова родопсин (рис. 7, *а*) [76].

В ходе прямой фотореакции образуется несколько интермедиатов с разными спектрами поглощения, а в ходе обратной – только два состояния, соответствующие конформационным изменениям сначала вблизи хромофора, а затем во всем белке, которые возвращают родопсин в исходное состояние. Как нами было показано на детергентных экстрактах родопсина осьминога, фотообратимая реакция родопсина II типа беспозвоночных животных исключительно стабильна, в условиях *in vitro* она может быть повторена многократно в течение достаточно длительного времени (рис. 7, *б*) [76].

Сравнение механизмов фотопревращения родопсинов I и II типов. При сравнении первичных реакций фотопревращения BR и Rh можно выделить как общие, так и отличительные особенности. Модельные кинетические схемы (рис. 3, *а* и *б*) имеют много общего и отражают предположение, что гетерогенность возбужденных состояний исследуемых родопсинов связана с гетерогенностью их начальных состояний. В BR и Rh в процессе реакции образуются аналогичные по своим свойствам интермедиаты: I_{460} , J_{625} , K_{590} и Rh_{510}^* , Фото $_{570}$, Бато $_{535}$ соответственно. Элементарный акт изомеризации РПШО протекает в возбуж-

денном состоянии путем перехода через CI S_1/S_0 ППЭ, и время этого перехода находится в фемтосекундном диапазоне. Первые продукты ф/и-превращения BR и Rh с изомеризованным РПШО (J_{625} и Фото $_{570}$ соответственно) образуются в основном (S_0) состоянии и являются колебательно-возбужденными предшественниками следующих продуктов (K_{590} и Бато $_{535}$ соответственно), образующихся в масштабе нескольких пикосекунд. На этом этапе завершается изомеризация РПШО, а в напряженной структуре продуктов K_{590} и Бато $_{535}$ запасается часть энергии кванта света. Квантовый выход прямых фотореакций BR и Rh практически совпадает ($\approx 0,65$). Реакция фотоизомеризации РПШО в BR и Rh, как и в других родопсинах, а также и в растворе протекает когерентно, что является внутренним свойством хромофора.

Динамика и эффективность фотореакции РПШО в родопсинах зависит от его изомерной формы (посредством длины сопряженных π -связей) и взаимодействия с белковым окружением, что приводит не только к дополнительному скручиванию хромофора, но и к сильным электростатическим взаимодействиям с противоионом. Эти факторы влияют на структуру S_0 , S_1 и S_2 ППЭ хромофора, например, уменьшая барьер на S_1 ППЭ в родопсинах I типа, что сильно влияет на скорость и когерентный характер реакции. Также меняется активность определенных колебательных мод при электронном переходе $S_0 \rightarrow S_1$. Селективное и одновременное возбуждение колебательных мод,

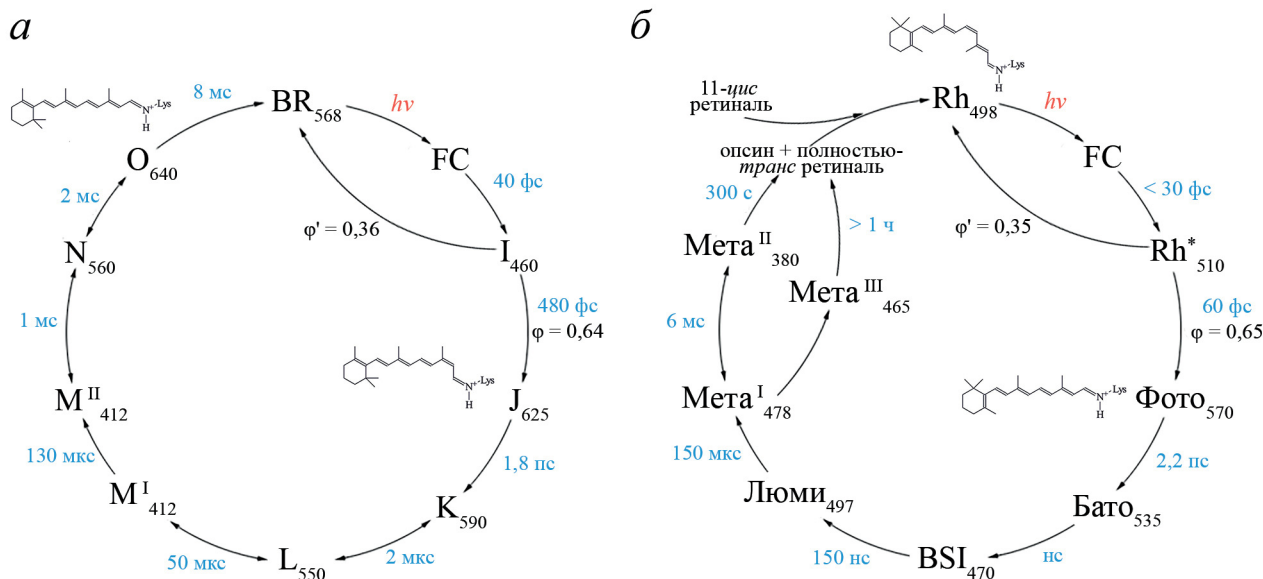


Рис. 8. Схемы фотоцикла родопсинов I типа на примере BR (а) и фотолиза родопсинов II типа позвоночных животных на примере Rh (б)

связанных с реакционными модами безызлучательного перехода $S_1 \rightarrow S_0$ в продукты реакции, уже на ранних этапах ф/и-динамики приводит к высокой скорости и большому квантовому выходу реакции фотоизомеризации.

Можно заключить, что взаимодействие РПШО с опсином существенно повышает скорость и квантовый выход фотореакции по сравнению с наблюдаемыми в газовой фазе и растворе, а селективность реакции достигает 100%. Наиболее тонкая регуляция этих параметров осуществляется в родопсинах II типа, в которых фотореакция имеет более выраженный когерентный характер. Хромофор-белковые взаимодействия также могут быть причиной возникновения гетерогенности начального состояния РСБ, поскольку в газовой фазе она не наблюдается [32].

Уменьшение длины цепи π -сопряжения в 6-*s*-цис–11-цис РПШО по сравнению с полностью-транс-изомером также приводит к сдвигу максимума поглощения родопсина в синюю область и, что очень важно, к увеличению барьера тепловой 11-цис $\rightarrow$ транс изомеризации [26]. Первый эффект активно используется родопсинами II типа как один из факторов для спектральной настройки. Второй имеет большое значение для уменьшения «темнового шума» фоторецепторной клетки, чему также сильно способствует ограниченный объем хромофорного центра [85]. В случае же BR и некоторых других родопсинов I типа хромофорный центр достаточно просторный и не препятствует тепловой транс $\rightarrow$ 13-цис изомеризации, происходящей в темноте.

Все перечисленные выше особенности 11-цис РПШО крайне важны для функционирования родопсинов II типа, выполняющих фотоинформационную функцию. Возможно, именно поэтому 11-цис РПШО был выбран в ходе эволюции в качестве хромофорной группы зрительных родопсинов и беспозвоночных, и позвоночных животных.

Следует подчеркнуть, что, хотя реакция фотоизомеризации является общей для родопсинов I и II типа, конечная стадия фотоактивируемых процессов существенно различается. В родопсинах I типа 13-цис РПШО на одной из последних стадий претерпевает тепловую изомеризацию обратно в полностью-транс-форму, замыкая фотоактивируемые процессы в фотоцикл (рис. 8. а). В родопсинах II типа большинства беспозвоночных животных для замыкания цикла требуется поглощение второго кванта света одним из долгоживущих промежуточных продуктов фотопревращения. В родопсинах II типа позвоночных животных цикл не замыкается, и изомеризованный полностью-транс-ретиналь высвобождается из хромофорного центра опсина, что называется «фотообесцвечиванием» или фотолизом родопсина (рис. 8, б). Иными словами, молекула родопсина II типа позвоночных животных — это молекула однократного действия. Для ее дальнейшей работы — регенерации родопсина — требуется доставка в хромофорный центр нового ретиналя в 11-цис-форме (подробнее см. в обзоре Островского и Фельдман [20]).

Принципиальная похожесть первичных фотохимических реакций родопсинов I и II типов

и их существенное различие на последующих стадиях фотопревращения ярко проявились в их фотоэлектрических реакциях. В конце 70-х—начале 80-х гг., используя разработанный Л.А. Драчевым метод [86], мы совместно с ним и группой В.П. Скулачева подробно сравнили генерацию фотопотенциала Rh на фоторецепторной мембране дисков палочек и BR на пурпурной мембране галоархей [87–89]. Как и следовало ожидать, как переход полностью-*транс* → 13-*цис* в BR, так и переход 11-*цис* → полностью-*транс* в Rh сопровождаются возникновением быстрого фотоэлектрического ответа. Однако и в этом есть существенное различие: если генерация потенциала на пурпурной мембране сопровождается еще и переносом протона, что принципиально важно для фотоэнергетической функции BR, то в случае Rh такой перенос отсутствует. Именно с этого момента физиологические пути BR и Rh расходятся. Отсутствие переноса протона через фоторецепторную мембрану диска было нами затем показано в прямом эксперименте [90].

В случае Rh одновременно с разделением зарядов происходят конформационные изменения белковой части молекулы, что приводит на стадии метародопсина II сначала к быстрому депротонированию РПШО, а затем к медленному высвобождению протона во внешнюю среду [91]. В результате всех этих конформационных перестроек Rh на стадии метародопсина II приобретает способность взаимодействовать с G-белком (трансдуцином) и запускать процесс фототрансдукции [24, 92]. По своим характерным временам и по полярности быстрый компонент фотоответа Rh является, по существу, так называемым ранним рецепторным потенциалом, который регистрируется при обычном электрофизиологическом отведении от сетчатки [93].

В то время как BR, фотоактивируемые процессы которого замкнуты в фотоцикл, генерирует на пурпурной мембране устойчивый электрический потенциал в течение всего периода освещения, в случае Rh, претерпевающего фотолиз, быстрый фотоэлектрический ответ необратимо падает задолго до выключения света и на повторное включение света никак не реагирует [88, 89].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно заключить, что сходство фотохимии родопсинов I и II типов связано с природой общей хромофорной груп-

пы — ретиналем, который во многом определяет механизм фотореакции как ключевой стадии функционирования РСБ. А наблюдаемые различия в характере фотореакции родопсинов I и II типов, судя по всему, определяются различной изомерной формой хромофора, выбранной в процессе эволюции в соответствии с выполняемыми ими функциями. В рамках теории конвергентной эволюции родопсинов I и II типа можно предположить, что похожие и вместе с тем пластичные 7- α -спиральные белковые структуры этих двух типов совершенствовались независимо, движимые в том числе необходимостью оптимизации электронных свойств своих хромофорных групп в полностью-*транс* и 11-*цис* изомерных формах.

Сходство структуры и механизма работы такой сложной молекулярной системы, как ретиналь-содержащие трансмембранные светочувствительные белки, явилось результатом давления естественно отбора при, подчеркнем, определенных физико-химических ограничениях. Сам же этот отбор был направлен на максимально эффективное выполнение функции каждым из типов родопсинов.

Совершенно очевидно, что механизмы эволюции на молекулярном и субмолекулярном уровнях всех трех известных в настоящее время типов РСБ — микробных (I тип), животных (II тип) и сравнительно недавно обнаруженных гелиородопсинов (III тип) — еще ждут своего дальнейшего подробного изучения.

Вклад авторов. М.А. Островский — концепция и руководство работой; М.А. Островский, О.А. Смитиенко, А.В. Боченкова, Т.Б. Фельдман — написание и редактирование текста статьи.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2020-795, внутренний № 13.1902.21.0027).

Благодарности. Авторы выражают благодарность м.н.с, к.ф.-м.н. П.А. Кусочеку и В.В. Логвинову за проведение части квантово-химических расчетов. Расчеты проведены с использованием вычислительного кластера лаборатории квантовой фотодинамики химического факультета, закупленного по программе развития МГУ имени М.В. Ломоносова.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Spudich, J. L., Yang, C.-S., Jung, K.-H., and Spudich, E. N. (2000) Retinylidene proteins: Structures and functions from archaea to humans, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **16**, 365-392, doi: 10.1146/annurev.cellbio.16.1.365.
- Ernst, O. P., Lodowski, D. T., Elstner, M., Hege- mann, P., Brown, L. S., and Kandori, H. (2014) Microbial and animal rhodopsins: Structures, functions, and molecular mechanisms, *Chem. Rev.*, **114**, 126-163, doi: 10.1021/cr4003769.
- Nagata, T., and Inoue, K. (2021) Rhodopsins at a glance, *J. Cell Sci.*, **134**, jcs258989, doi: 10.1242/jcs.258989.
- Rozenberg, A., Inoue, K., Kandori, H., and Bèjà, O. (2021) Microbial rhodopsins: The last two decades, *Annu. Rev. Microbiol.*, **75**, 427-447, doi: 10.1146/annurev-micro-031721-020452.
- Gordeliy, V., Kovalev, K., Bamberg, E., Rodriguez-Valera, F., Zinovev, E., Zabelskii, D., Alekseev, A., Rosselli, R., Gushchin, I., and Okhrimenko, I. (2022) Microbial rhodopsins, in *Rhodopsin* (Gordeliy, V., ed) *Methods Mol. Biol.*, **2501**, 1-52, Humana, New York, NY, doi: 10.1007/978-1-0716-2329-9_1.
- Kandori, H. (2020) Biophysics of rhodopsins and optogenetics, *Biophys. Rev.*, **12**, 355-361, doi: 10.1007/s12551-020-00645-0.
- Pushkarev, A., Inoue, K., Larom, S., Flores-Urbe, J., Singh, M., Konno, M., Tomida, S., Ito, S., Nakamura, R., Tsunoda, S. P., Philosof, A., Sharon, I., Yutin, N., Koonin, E. V., Kandori, H., and Bèjà, O. (2018) A distinct abundant group of microbial rhodopsins discovered using functional metagenomics, *Nature*, **558**, 595-599, doi: 10.1038/s41586-018-0225-9.
- Luk, H. L., Melaccio, F., Rinaldi, S., and Olivucci, M. (2015) Molecular bases for the selection of the chromophore of animal rhodopsins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 15297-15302, doi: 10.1073/pnas.1510262112.
- Mackin, K. A., Roy, R. A., and Theobald, D. L. (2014) An empirical test of convergent evolution in rhodopsins, *Mol. Biol. Evol.*, **31**, 85-95, doi: 10.1093/molbev/mst171.
- Shalaeva, D. N., Galperin, M. Y., and Mulkidjanian, A. Y. (2015) Eukaryotic G protein-coupled receptors as descendants of prokaryotic sodium-translocating rhodopsins, *Biol. Direct*, **10**, 63, doi: 10.1186/s13062-015-0091-4.
- Kojima, K., and Sudo, Y. (2023) Convergent evolution of animal and microbial rhodopsins, *RSC Adv.*, **13**, 5367-5381, doi: 10.1039/d2ra07073a.
- Krishnan, A., Almen, M. S., Fredriksson, R., and Schiöth, H. B. (2012) The origin of GPCRs: Identification of mammalian like *rhodopsin*, *adhesion*, *glutamate* and *frizzled* GPCRs in fungi, *PLoS One*, **7**, e29817, doi: 10.1371/journal.pone.0029817.
- Feuda, R., Hamilton, S. C., McInerney, J. O., and Pisani, D. (2012) Metazoan opsin evolution reveals a simple route to animal vision, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 18868-18872, doi: 10.1073/pnas.1204609109.
- Feuda, R., Menon, A. K., and Göpfert, M. C. (2022) Rethinking opsins, *Mol. Biol. Evol.*, **39**, doi: 10.1093/molbev/msac033.
- Zhai, Y., Heijne, W. H., Smith, D. W., and Saier, M. H., Jr. (2001) Homologues of archaeal rhodopsins in plants, animals and fungi: Structural and functional predications for a putative fungal chaperone protein, *Biochim. Biophys. Acta*, **1511**, 206-223, doi: 10.1016/s0005-2736(00)00389-8.
- Bulzu, P.-A., Kavagutti, V. S., Andrei, A.-S., and Ghai, R. (2022) The evolutionary kaleidoscope of rhodopsins, *mSystems*, **7**, e00405-22, doi: 10.1128/msystems.00405-22.
- Govorunova, E. G., Sineshchekov, O. A., and Spudich, J. L. (2022) Emerging diversity of channelrhodopsins and their structure-function relationships, *Front. Cell. Neurosci.*, **15**, 800313, doi: 10.3389/fncel.2021.800313.
- Островский М. А. (2017) Родопсин: эволюция и сравнительная физиология, *Палеонтол. Журн.*, **5**, 103-113.
- Oesterhelt, D., and Stoeckenius, W. (1971) Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*, *Nat. New Biol.*, **233**, 149-152, doi: 10.1038/newbio233149a0.
- Островский М. А., Фельдман Т. Б. (2012) Химия и молекулярная физиология зрения: светочувствительный белок родопсин, *Успехи химии*, **81**, 1071-1090, doi: 10.1070/RC2012v081n11ABEH004309.
- Kovalev, K., Volkov, D., Astashkin, R., Alekseev, A., Gushchin, I., Haro-Moreno, J. M., Chizhov, I., Siletsky, S., Mamedov, M., Rogachev, A., Balandin, T., Borshchevskiy, V., Popov, A., Bourenkov, G., Bamberg, E., Rodriguez-Valera, F., Büldt, G., and Gordeliy, V. (2020) High-resolution structural insights into the heliorhodopsin family, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 4131-4141, doi: 10.1073/pnas.1915888117.
- Benton, R., Sachse, S., Michnick, S.W., and Vossahl, L.B. (2006) Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors *in vivo*, *PLoS Biol.*, **4**, e20, doi: 10.1371/journal.pbio.0040020.
- Lamb, T. D., Collin, S. P., and Pugh, E. N., Jr. (2007) Evolution of the vertebrate eye: Opsins, photoreceptors, retina and eye cup, *Nat. Rev. Neurosci.*, **8**, 960-976, doi: 10.1038/nrn2283.
- Hofmann, K. P., and Lamb, T. D. (2023) Rhodopsin, light-sensor of vision, *Prog. Retin. Eye Res.*, **93**, 101116, doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101116.
- Розанов А.Ю. (2009) Условия жизни на ранней земле после 4,0 млрд лет назад, Проблемы происхождения жизни, *ПИН РАН*, Москва, стр. 185-201.

26. Gozem, S., Luk, H. L., Schapiro, I., and Olivucci, M. (2017) Theory and simulation of the ultrafast double-bond isomerization of biological chromophores, *Chem. Rev.*, **117**, 13502-13565, doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00177.
27. Kandori, H. (2011) Protein-controlled ultrafast photoisomerization in rhodopsin and bacteriorhodopsin, *Supramolecular Photochemistry: Controlling Photochemical Processes*, Chapter 14, 571-595, doi: 10.1002/9781118095300.ch14.
28. Diller, R. (2008) Primary reactions in retinal proteins, In: Braun M., Gilch P., Zinth W. (eds) *Ultrashort laser pulses in biology and medicine. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering*, Springer, Berlin. Heidelberg, Germany, Chapter 10, 243-277, doi: 10.1007/978-3-540-73566-3_10.
29. Wand, A., Gdor, I., Zhu, J., Sheves, M., and Ruhman, S. (2013) Shedding new light on retinal protein photochemistry, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **64**, 437-458, doi: 10.1146/annurev-physchem-040412-110148.
30. Hampp, N. (2000) Bacteriorhodopsin as a photochromic retinal protein for optical memories, *Chem. Rev.*, **100**, 1755-1776, doi: 10.1021/cr980072x.
31. Schapiro, I., Melaccio, F., Laricheva, E. N., and Olivucci, M. (2011) Using the computer to understand the chemistry of conical intersections, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **10**, 867-886, doi: 10.1039/c0pp00290a.
32. Kiefer, H.V., Gruber, E., Langeland, J., Kusochev, P. A., Bochenkova, A. V., and Andersen, L. H. (2019) Intrinsic photoisomerization dynamics of protonated Schiff-base retinal, *Nat. Commun.*, **10**, 1210, doi: 10.1038/s41467-019-09225-7.
33. Agathangelou, D., Roy, P. P., del Carmen Marin, M., Ferre, N., Olivucci, M., Buckup, T., Léonard, J., and Haacke, S. (2021) Sub-picosecond C=C bond photoisomerization: evidence for the role of excited state mixing, *Comptes Rendus Physique*, **22**, S2, 111-138, doi: 10.5802/crphys.41.
34. Birge, R. R., Cooper, T. M., Lawrence, A. F., Masthay, M. B., Vasilakis, C., Fan Zhang, C., and Zidovetzki, R. (1989) A spectroscopic, photocalorimetric, and theoretical investigation of the quantum efficiency of the primary event in bacteriorhodopsin, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 4063-4074, doi: 10.1021/ja00193a044.
35. Wang, W., Geiger, J. H., and Borhan, B. (2013) The photochemical determinants of color vision, *BioEssays*, **36**, 65-74, doi: 10.1002/bies.201300094.
36. Okada, T., Sugihara, M., Bondar, A.-N., Elstner, M., Entel, P., and Buss, V. (2004) The retinal conformation and its environment in rhodopsin in light of a new 2.2 Å crystal structure, *J. Mol. Biol.*, **342**, 571-583, doi: 10.1016/j.jmb.2004.07.044.
37. Смитиенко О. А., Шелаев И. В., Гостев Ф. Е., Фельдман Т. Б., Надточенко В. А. Саркисов О. М., Островский М. А. (2008) Когерентные процессы при образовании первичных продуктов фотолиза зрительного пигмента родопсина, *Докл. Акад. Наук*, **421**, 277-281.
38. Смитиенко О. А., Мозговая М. Н., Шелаев И. В., Гостев Ф. Е., Фельдман Т. Б., Надточенко В. А., Саркисов О. М., Островский М. А. (2010) Фемтосекундная динамика образования первичных продуктов фотопревращения зрительного пигмента родопсина, *Биохимия*, **75**, 34-45.
39. Мозговая М. Н., Смитиенко О. А., Шелаев И. В., Гостев Ф. Е., Фельдман Т. Б., Надточенко В. А., Саркисов О. М., Островский М. А. (2010) Фотохромизм зрительного пигмента родопсина в фемтосекундной шкале времени: когерентное управление фотоизомеризацией хромофора ретиналя, *Докл. Акад. Наук*, **435**, 262-266.
40. Надточенко В. А., Смитиенко О. А., Фельдман Т. Б., Мозговая М. Н., Шелаев И. В., Гостев Ф. Е., Саркисов О. М., Островский М. А. (2012) Участие конического пересечения в фемтосекундной динамике цис-транс фотоизомеризации хромофора зрительного пигмента родопсина, *Докл. Акад. Наук*, **446**, 460-465.
41. Smitienko, O., Nadtochenko, V., Feldman, T., Balatskaya, M., Shelaev, I., Gostev, F., Sarkisov, O., and Ostrovsky, M. (2014) Femtosecond laser spectroscopy of the rhodopsin photochromic reaction: A concept for ultrafast optical molecular switch creation (ultrafast reversible photoreaction of rhodopsin), *Molecules*, **19**, 18351-18366, doi: 10.3390/molecules191118351.
42. Feldman, T. B., Smitienko, O. A., Shelaev, I. V., Gostev, F. E., Nekrasova, O. V., Dolgikh, D. A., Nadtochenko, V. A., Kirpichnikov, M. P., and Ostrovsky, M. A. (2016) Femtosecond spectroscopic study of photochromic reactions of bacteriorhodopsin and visual rhodopsin, *J. Photochem. Photobiol. B.*, **164**, 296-305, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.09.041.
43. Смитиенко О. А., Некрасова О. В., Кудрявцев А. В., Яковлева М. А., Шелаев И. В., Гостев Ф. Е., Долгих Д. А., Кольчугина И. Б., Надточенко В. А., Кирпичников М. П., Фельдман Т. Б., Островский М. А. (2017) Фемто- и пикосекундная динамика первичных реакций рекомбинантного бактериородопсина в сравнении с природным белком в тримерном и мономерном состояниях, *Биохимия*, **82**, 664-676.
44. Smitienko, O., Feldman, T., Petrovskaya, L., Nekrasova, O., Yakovleva, M., Shelaev, I., Gostev, F., Cherepanov, D., Kolchugina, I., Dolgikh, D., Nadtochenko, V., Kirpichnikov, M., and Ostrovsky, M. (2021) Comparative femtosecond spectroscopy of primary photoreactions of *Exiguobacterium sibiricum* rhodopsin and *Halobacterium salinarum* bacteriorhodopsin, *J. Phys. Chem. B.*, **125**, 4, 995-1008, doi: 10.1021/acs.jpcc.0c07763.
45. Медведева А. С., Смитиенко О. А., Фельдман Т. Б., Островский М. А. (2020) Сравнительное исследо-

- вание фотохимии микробиальных родопсинов (I типа) и родопсинов животных (II типа), *Журн. Эвол. Биохим. и Физиол.*, **56**, 519-523, doi: 10.31857/S0044452920070943.
46. Островский М. А., Надточено В. А. (2021) Фемтохимия родопсинов, *Хим. Физ.*, **40**, 76-84, doi: 10.31857/S0207401X21040117.
 47. Gruber, E., Kabylda, A. M., Nielsen, M. B., Rasmussen, A. P., Teiwes, R., Kusocheck, P. A., Bochenkova, A. V., and Andersen, L. H. (2022) Light driven ultrafast bioinspired molecular motors: Steering and accelerating photoisomerization dynamics of retinal, *J. Am. Chem. Soc.*, **144**, 69-73, doi: 10.1021/jacs.1c10752.
 48. Kusocheck, P. A., Logvinov, V. V., and Bochenkova, A. V. (2021) Role of the protein environment in photoisomerization of type I and type II rhodopsins: A theoretical perspective, *Moscow Univ. Chem. Bull.*, **76**, 407-416, doi: 10.3103/S0027131421060110.
 49. Kusocheck, P. A., Scherbinin, A. V., and Bochenkova, A. V. (2021) Insights into the early-time excited-state dynamics of structurally inhomogeneous rhodopsin KR2, *J. Phys. Chem. Lett.*, **12**, 8664-8671, doi: 10.1021/acs.jpcllett.1c02312.
 50. Toker, Y., Svendsen, A., Bochenkova, A. V., and Andersen, L. H. (2012) Probing the barrier for internal rotation of the retinal chromophore, *Angew. Chem. Intl. Ed.*, **51**, 8757-8761, doi: 10.1002/anie.201203746.
 51. Kochendoerfer, G. G., and Mathies, R. A. (1996) Spontaneous emission study of the femtosecond isomerization dynamics of rhodopsin, *J. Phys. Chem.*, **100**, 14526-14532, doi: 10.1021/jp960509+.
 52. Polli, D., Altoè, P., Weingart, O., Spillane, K. M., Manzoni, C., Brida, D., Tomasello, G., Orlandi, G., Kukura, P., Mathies, R. A., Garavelli, M., and Cerullo, G. (2010) Conical intersection dynamics of the primary photoisomerization event in vision, *Nature*, **467**, 440-443, doi: 10.1038/nature09346.
 53. Johnson, P. J. M., Halpin, A., Morizumi, T., Prokhorenko, V. I., Ernst, O. P., and Miller, R. J. D. (2015) Local vibrational coherences drive the primary photochemistry of vision, *Nat. Chem.*, **7**, 980-986, doi: 10.1038/nchem.2398.
 54. Johnson, P. J. M., Farag, M. H., Halpin, A., Morizumi, T., Prokhorenko, V. I., Knoester, J., Jansen, T. L. C., Ernst, O. P., and Miller, R. J. D. (2017) The primary photochemistry of vision occurs at the molecular speed limit, *J. Phys. Chem. B*, **121**, 4040-4047, doi: 10.1021/acs.jpcc.7b02329.
 55. Hasson, K. C., Gai, F., and Anfinrud, P. A. (1996) The photoisomerization of retinal in bacteriorhodopsin: Experimental evidence for a three-state model, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 15124-15129, doi: 10.1073/pnas.93.26.15124.
 56. Gai, F., Hasson, K. C., McDonald, J. C., and Anfinrud, P. A. (1998) Chemical dynamics in proteins: The photoisomerization of retinal in bacteriorhodopsin, *Science*, **279**, 1886-1891, doi: 10.1126/science.279.5358.1886.
 57. Tahara, S., Takeuchi, S., Abe-Yoshizumi, R., Inoue K., Ohtani H., Kandori, H., and Tahara, T. (2018) Origin of the reactive and nonreactive excited states in the primary reaction of rhodopsins: pH dependence of femtosecond absorption of light-driven sodium ion pump rhodopsin KR2, *J. Phys. Chem. B*, **122**, 4784-4792, doi: 10.1021/acs.jpcc.8b01934.
 58. Chang, C.-F., Kuramochi, H., M., Abe-Yoshizumi, R., Tsukuda, T., Kandori, H., and Tahara, T. (2022) A unified view on varied ultrafast dynamics of the primary process in microbial rhodopsins, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **61**, e202111930, doi: 10.1002/anie.202111930.
 59. Kandori, H., Futurani, Y., Nishimura, S., Shichida, Y., Chosrowjan, H., Shibata, Y., and Mataga, N. (2001) Excited-state dynamics of rhodopsin probed by femtosecond fluorescence spectroscopy, *Chem. Phys. Lett.*, **334**, 271-276, doi: 10.1016/S0009-2614(00)01457-3.
 60. Kochendoerfer, G. G., and Mathies, R. A. (1995) Ultrafast spectroscopy of rhodopsins – photochemistry at its best! *Isr. J. Chem.*, **35**, 211-226, doi: 10.1002/ijch.199500028.
 61. Kim, J. E., Tauber, M. J., and Mathies, R. A. (2001) Wavelength dependent *cis-trans* isomerization in vision, *Biochemistry*, **40**, 13774-13778, doi: 10.1021/bi0116137.
 62. Govindjee, R., Balashov, S. P., and Ebrey T. G. (1990) Quantum efficiency of the photochemical cycle of bacteriorhodopsin, *Biophys. J.*, **58**, 597-608, doi: 10.1016/S0006-3495(90)82403-6.
 63. Wang, Q., Shoenlein, R. W., Peteanu, L. A., Mathies, R. A., and Shank, C. V. (1994) Vibrationally coherent photochemistry in the femtosecond primary event of vision, *Science*, **266**, 422-424, doi: 10.1126/science.7939680.
 64. Liebel, M., Schnedermann, C., Bassolino, G., Taylor, G., Watts, A., and Kukura, P. (2014) Direct observation of the coherent nuclear response after the absorption of a photon, *Phys. Rev. Lett.*, **112**, 238301, doi: 10.1103/PhysRevLett.112.238301.
 65. Zewail, A. H. (2000) Femtochemistry: Atomic-scale dynamics of the chemical bond, *J. Phys. Chem. A*, **104**, 5660-5694, doi: 10.1021/jp001460h.
 66. Саркисов О. М., Уманский С. Я. (2001) Фемтохимия, *Успехи химии*, **70**, 515-538, doi: 10.1070/RC2001v070n06ABEH000664.
 67. Klessinger, M. (1995) Conical intersections and the mechanism of singlet photoreactions, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **34**, 549-551, doi: 10.1002/anie.199505491.
 68. Gozem, S., Johnson, P. J. M., Halpin, A., Luk, H. L., Morizumi, T., Prokhorenko, V. I., Ernst, O. P., Olivucci, M., and Miller, R. J. D. (2020) Excited-

- state vibronic dynamics of bacteriorhodopsin from two-dimensional electronic photon echo spectroscopy and multiconfigurational quantum chemistry, *J. Phys. Chem. Lett.*, **11**, 3889-3896, doi: 10.1021/acs.jpcclett.0c01063.
69. Rivalta, I., Nenov, A., Weingart, O., Cerullo, G., Garavelli, M., and Mukamel, S. (2014) Modelling time-resolved two-dimensional electronic spectroscopy of the primary photoisomerization event in rhodopsin, *J. Phys. Chem. B*, **118**, 8396-8405, doi: 10.1021/jp502538m.
70. Hayashi, S., Tajkhorshid, E., and Schulten, K. (2009) Photochemical reaction dynamics of the primary event of vision studied by means of a hybrid molecular simulation, *Biophys. J.*, **96**, 403-416, doi: 10.1016/j.bpj.2008.09.049.
71. Rajput, J., Rahbek, D. B., Andersen, L. H., Hirshfeld, A., Sheves, M., Altoè, P., Orlandi, G., and Garavelli, M. (2010) Probing and modeling the absorption of retinal protein chromophores *in vacuo*, *Angew. Chem. Intl. Ed.*, **49**, 1790-1793, doi: 10.1002/anie.200905061.
72. Yoshizawa, T., and Wald, G. (1963) Pre-lumirhodopsin and the bleaching of visual pigments, *Nature*, **197**, 1279-1286, doi: 10.1038/1971279a0.
73. Takahashi, T., Mochizuki, Y., Kamo, N., and Kobatake, Y. (1985) Evidence that the long-lifetime photointermediate of s-rhodopsin is a receptor for negative phototaxis in *Halobacterium halobium*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **127**, 99-105, doi: 10.1016/s0006-291x(85)80131-5.
74. Bruun, S., Stoeppler, D., Keidel, A., Kuhlmann, U., Luck, M., Diehl, A., Geiger, M. A., Woodmansee, D., Trauner, D., Hegemann, P., Oschkinat, H., Hildebrandt, P., and Stehfest, K. (2015) Light-dark adaptation of channelrhodopsin involves photoconversion between the all-*trans* and 13-*cis* retinal isomers, *Biochemistry*, **54**, 5389-5400, doi: 10.1021/acs.biochem.5b00597.
75. Dixon, S. F., and Cooper, A. (1987) Quantum efficiencies of the reversible photoreaction of octopus rhodopsin, *Photochem. Photobiol.*, **46**, 115-119, doi: 10.1111/j.1751-1097.1987.tb04744.x.
76. Ostrovsky, M. A., and Weetall, H. H. (1998) Octopus rhodopsin photoreversibility of a crude extract from whole retina over several weeks' duration, *Biosens. Bioelectron.*, **13**, 61-65, doi: 10.1016/S0956-5663(97)00078-X.
77. Inoue, K., Tsuda, M., and Terazima, M. (2007) Photoreverse reaction dynamics of octopus rhodopsin, *Biophys. J.*, **92**, 3643-3651, doi: 10.1529/biophysj.106.101741.
78. Koyanagi, M., and Terakita, A. (2008) Gq-coupled rhodopsin subfamily composed of invertebrate visual pigment and melanopsin, *Photochem. Photobiol.*, **84**, 1024-1030, doi: 10.1111/j.1751-1097.2008.00369.x.
79. Balashov, S. P., Imasheva, E. S., Govindjee, R., and Ebrey, T. G. (1991) Quantum yield ratio of the forward and back light reactions of bacteriorhodopsin at low temperature and photosteady-state concentration of the bathoproduct K, *Photochem. Photobiol.*, **54**, 955-961, doi: 10.1111/j.1751-1097.1991.tb02116.x.
80. Suzuki, T., and Callender, R. H. (1981) Primary photochemistry and photoisomerization of retinal at 77 degrees K in cattle and squid rhodopsins, *Biophys. J.*, **34**, 261-270, doi: 10.1016/S0006-3495(81)84848-5.
81. Schapiro, I., Ryazantsev, M. N., Frutos, L. M., Ferré, N., Lindh, R., and Olivucci, M. (2011) The ultrafast photoisomerizations of rhodopsin and bathorhodopsin are modulated by bond length alternation and HOOP driven electronic effects, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 3354-3364, doi: 10.1021/ja1056196.
82. Schoenlein, R. W., Peteanu, L. A., Mathies, R. A., and Shank, C. V. (1991) The first step in vision: Femtosecond isomerization of rhodopsin, *Science*, **254**, 412-415, doi: 10.1126/science.1925597.
83. Altoè, P., Cembran, A., Olivucci, M., and Garavelli, M. (2010) Aborted double bicycle-pedal isomerization with hydrogen bond breaking is the primary event of bacteriorhodopsin proton pumping, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 20172-20177, doi: 10.1073/pnas.1007000107.
84. Koyama, Y., Kubo, K., Komori, M., Yasuda, H., and Mukai, Y. (1991) Effect of protonation on the isomerization properties of n-butylamine Schiff base of isomeric retinal as revealed by direct HPLC analyses: Selection of isomerization pathways by retinal proteins, *Photochem. Photobiol.*, **54**, 433-443, doi: 10.1111/j.1751-1097.1991.tb02038.x.
85. Ikuta, T., Shihoya, W., Sugiura, M., Yoshida, K., Watari, M., Tokano, T., Yamashita, K., Katayama, K., Tsunoda, S. P., Uchihashi, T., Kandori, H., and Nureki, O. (2020) Structural insights into the mechanism of rhodopsin phosphodiesterase, *Nat. Commun.*, **11**, 5605, doi: 10.1038/s41467-020-19376-7.
86. Драчев Л. А., Каулен А. Д., Скулачев В. П. (1977) Временные характеристики бактериородопсина как молекулярного биологического генератора тока, *Мол. Биол.*, **11**, 1377-1387.
87. Большаков В. И., Драчев Л. А., Каламкаров Г. Р., Каулен А. Д., Островский М. А., Скулачев В. П. (1979) Общность свойств бактериального и зрительного родопсина: превращение энергии света в разность электрических потенциалов, *ДАН СССР*, **249**, 1462-1466.
88. Drachev, L. A., Kalamkarov, G. R., Kaulen, A. D., Ostrovsky, M. A., and Skulachev, V. P. (1981) Fast stages of photoelectric processes in biological membranes. II. Visual rhodopsin, *Eur. J. Bio-*

- chem.*, **117**, 471-481, doi: 10.1111/j.1432-1033.1981.tb06362.x.
89. Drachev, L. A., Kaulen, A. D., Khitrina, L. V., and Skulachev, V. P. (1981) Fast stages of photoelectric processes in biological membranes. I. Bacteriorhodopsin, *Eur. J. Biochem.*, **117**, 461-470, doi: 10.1111/j.1432-1033.1981.tb06361.x.
 90. Шевченко Т. Ф., Каламкаров Г. Р., Островский М. А. (1987) Отсутствие переноса H⁺ через фоторецепторную мембрану в ходе фотолиза родопсина, *Сенс. Сист.*, **1**, 117-126.
 91. Островский М. А., Федорович И. Б., Поляк С. Е. (1968) Изменение pH-среды при освещении суспензии наружных сегментов фоторецепторов сетчатки, *Биофизика*, **13**, 338-339.
 92. Каламкаров Г. Р., Островский М. А. (2002) *Молекулярные механизмы зрительной рецепции*, Наука, Москва, стр. 1-280.
 93. Brindley, G. S., and Gardner-Medwin, A. R. (1966) The origin of the early receptor potential of the retina, *J. Physiol.*, **182**, 185-194, doi: 10.1113/jphysiol.1966.sp007817.

SIMILARITY AND DIFFERENCE IN THE PHOTOCHEMISTRY OF TYPE I AND II RHODOPSINS

Review

M. A. Ostrovsky^{1,2}, O. A. Smitienko², A. V. Bochenkova³, and T. B. Feldman^{1,2*}

¹ Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia; e-mail: feldmantb@mail.ru

² Emanuel Institute of Biochemical Physics, 119334 Moscow, Russia

³ Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

The diversity of retinal-containing proteins in nature is extremely large. The fundamental similarity of the structure and photochemical properties unites them into one family. However, there is still a debate about the origin of retinal-containing proteins: divergent or convergent evolution? In this review, based on the results of our own and literature data, a comparative analysis of the similarities and differences in the photoconversion of rhodopsin types I and II is carried out. The results of experimental studies of direct and reverse photoreactions of rhodopsin types I (bacteriorhodopsin) and II (visual rhodopsin) in the femto- and picosecond time interval, photo-reversible reaction of rhodopsin type II (octopus rhodopsin), photovoltaic reactions of rhodopsin types I and II, as well as quantum chemical calculations of forward photoreactions of bacteriorhodopsin and visual rhodopsin are presented. The question of the probable convergent evolution of rhodopsin types I and II is discussed.

Keywords: retinal-containing proteins, visual rhodopsin, bacteriorhodopsin, convergent evolution, photochemistry, femtosecond spectroscopy, quantum chemical calculations