

УДК 581.132.04:539.16.04

## О ПРИРОДЕ ИЗОТОПНОГО ЭФФЕКТА ПРИ КАРБОКСИЛИРОВАНИИ РИБФ В ПРОЦЕССЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АССИМИЛЯЦИИ

А.А. ИВЛЕВ, д. б. н.; А.В. БОЧКАРЕВ, к. х. н.

(Кафедра неорганической и аналитической химии)

Проведен расчет и дан анализ достижимого коэффициента разделения изотопов углерода в реакции ферментативного карбоксилирования РИБФ (а). С этой целью, используя квантово-химический ограниченный метод Хартри — Фока (базис RHF/6-311++G\*\*; 3df,3p) в программном комплексе PC GAMESS, были рассчитаны геометрия и частоты колебаний, а с помощью последних — отношения приведенных статистических сумм ( $\beta$ -факторов) для молекулы  $\text{CO}_2$  и переходного комплекса. Полученное значение  $\alpha_s = 1,047$  соответствовало значениям этой реакции в опытах *in vitro*, но оказалось значительно больше обогащений биомассы изотопом  $^{12}\text{C}$ , наблюдаемых *in vivo*. Этот результат позволяет допустить, что в живой клетке возможно возникает эффект противоположного знака в другой реакции, компенсирующий влияние эффекта карбоксилирования РИБФ.

Изучение *in vitro* изотопного эффекта карбоксилирования рибулозобисфосфата (РИБФ) — ключевой реакции фотосинтетической ассимиляции  $\text{CO}_2$  — вызвано необходимостью объяснить наблюдаемое обогащение биомассы фотосинтезирующих организмов изотопом  $^{12}\text{C}$ . В 1961 г. Парк и Эпстайн [21], впервые выделив фермент РИБФ-карбоксилазу из листьев томата в нативной форме, провели реакцию карбоксилирования РИБФ *in vitro* и получили значение (17‰), которое с учетом предполагаемого изотопного эффекта диффузии  $\text{CO}_2$  в клетку (4‰), позволило объяснить наблюдаемое обогащение биомассы растений легким изотопом. Однако последующие опыты *in vitro*, проведенные на карбоксилазах, выделенных из разных растений (рис. 1), дали неожиданно большие величины эффекта, намного превышающие наблюдаемое обогащение и нередко составлявшие 60–80‰ [12, 15, 30], а в некоторых опытах — до 100‰ [30].

Естественно, возник вопрос о причинах столь больших различий. Ответы на него оказались разными. Одни считали [15, 23, 24, 29], что фракционирование изотопов углерода *in vitro* существенно отличается от фракционирования *in vivo* из-за условий протекания реакции, меняющих контролируемую скорость стадию, с которой связана величина изотопного эффекта. Другие полагали [6, 7, 19], что в клетке возникает иной эффект противоположного знака, компенсирующий обогащение биомассы изотопом  $^{12}\text{C}$ . Помощь в получении правильного ответа могла бы дать теоретическая оценка величины изотопного эффекта.

Теоретическая оценка величины изотопного эффекта, определяемого через коэффициент изотопного фракционирования реакции [8], сопряжена с некоторыми трудностями. Они связаны с двумя причинами: 1) недостаточной изученностью механизма ферментативной реакции, обусловленной ее

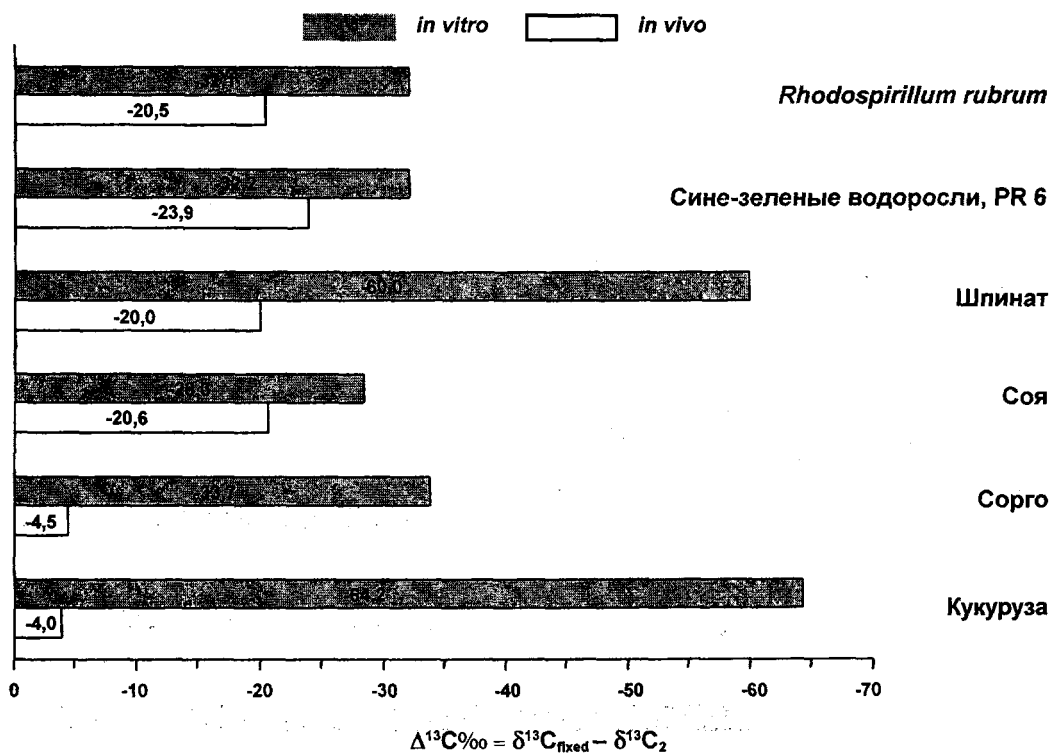


Рис. 1. Сопоставление изотопных эффектов углерода при ферментативном карбоксилировании РиБФ на карбоксилазах, выделенных из различных фотосинтезирующих организмов с реальным обогащением биомассы этих организмов изотопом <sup>12</sup>C (по данным работы [5])

многостадийностью; 2) приближенностью расчета самого кинетического изотопного эффекта на контролирующей скорости эффектзадающей стадии («intrinsic isotope effect»).

В связи с вышесказанным значительный интерес представляет оценка максимально достижимых значений величин эффективных коэффициентов изотопного фракционирования  $\alpha_c$  в реакциях ферментативного карбоксилирования РиБФ. Она должна быть близкой к величине кинетического изотопного эффекта на контролирующей скорости стадии. Ее расчет мог бы помочь установлению причины изотопных различий in vitro и in vivo и, таким образом, дать новую информацию о механизме фотосинтетической ассимиляции.

Анализ имеющихся величин коэффициентов изотопного фракционирования выявил большой разброс значений  $\alpha_c$ , обусловленный упомянутыми причинами. В самом деле, в ферментативной реакции, которая обычно состоит из нескольких элементарных стадий, изотопный эффект проявляется лишь тогда, когда на стадии, контролирующей скорость реакции, возникает конкуренция изотопных молекул. Чем больше вклад в общую скорость реакции стадий, где эффекта нет, тем слабее проявляется вклад эффектзадающей стадии. Условия протекания реакции в организмах различаются, и это меняет вклад разных стадий в общую скорость реакции, чем и обусловлены колебания величин изотопных эффектов.

Другая причина, как отмечалось, связана с приближенностью оценки кинетического изотопного эффекта, основанной на теории абсолютных скоростей реакций [2]. Последняя в основном связана с неполнотой сведений о структуре и силовых постоянных переходного комплекса и порождает субъективизм в оценке этих параметров и в конечном счете приводит к неточностям в оценке коэффициента кинетического изотопного эффекта на контролирующей скорости стадии  $\alpha_i$ .

Косвенную оценку  $\alpha_i$  в реакции карбоксилирования РиБФ дали Роеске и О'Лири [24]. Учитывая многостадийность ферментативных реакций, они представили изотопный эффект при ферментативном карбоксилировании РиБФ ( $\alpha_{ef}$ ), как состоящий из эффекта на эффектзадающей стадии, где происходит конкуренция изотопных молекул ( $\alpha_i$ ), и вклада стадий, не чувствительных к изотопному замещению.

$$\alpha_{ef} = (\alpha_i + p)/(1 + p), \quad (1)$$

где  $p$  — фактор, учитывающий влияние стадий, не чувствительных к изотопному замещению по  $^{13}\text{C}$ .

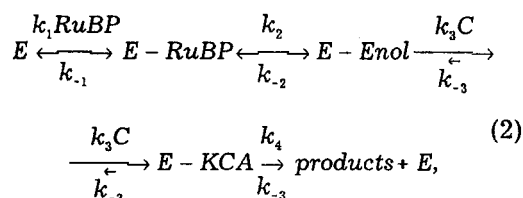
Коэффициент  $\alpha_{ef}$  связан с величиной наблюдаемой изотопной дискриминации  $\Delta^{13}\text{C}$  соотношением  $\alpha_{ef} = (1 + \Delta^{13}\text{C} \cdot 10^3)$ . Приняв величину  $\Delta^{13}\text{C}$ , определяемую экспериментально, равной 29‰ [7], а величину  $p$ , по ряду соотношений, равной 0,6, авторы получили величину  $\alpha_i = 1,040$ . Однако такая оценка субъективна, поскольку соображения авторов при выборе  $p$  были субъективны. Кроме того, она основывается на априорном представлении, что наблюдаемая обогащенность биомассы изотопом  $^{12}\text{C}$  обусловлена только ассимиляцией, что не является бесспорным фактом.

Другую попытку оценить достижимые значения изотопных эффектов в реакции ферментативного карбоксилирования РиБФ ( $\alpha_i$ ) предприняли Ивлев и Князев [5], воспользовавшись кинетической схемой реакции, пред-

ложенной Рубиным и Гавриленко [9]. Согласно этой схеме, при ассимиляции вначале на одном из активных центров фермента происходит связывание молекулы  $\text{CO}_2$ . Затем на другом активном центре фермента связывается молекула РиБФ, после чего между ними происходит взаимодействие. В результате образуется неустойчивое промежуточное соединение 2-карбоксихи-3-кето-арабинол, деструкция которого приводит к образованию двух молекул ФГК. Контролирующей скоростью стадий, на которой возникает изотопный эффект, считалось превращение  $\text{CO}_2$  в карбоксильную группу с разрыхлением и деструкцией одной из 71-связей молекулы, при котором молекула из линейной превращалась в угловую. В пользу этого свидетельствовали высокая стабильность молекулы  $\text{CO}_2$ , наличие у нее большого числа возможных резонансных структур, а также то, что энергия, затрачиваемая на разрушение ее связей и образование угловой молекулы, значительно (на 7 ккал [14]) превышает энергию, которая выделяется при образовании новой карбоксильной группы. Полученные значения эффекта составили 80-100‰ и перекрыли весь диапазон значений достижимых эффектов, наблюдаемых в опытах *in vitro*. Однако, как выяснилось позднее, кинетическая схема реакции, которой придерживались авторы, оказалась иной.

Дальнейшие исследования [10, 11, 18, 22, 25] установили другую последовательность элементарных стадий (см. рис. 2). Было доказано, что карбоксилирование РиБФ включает 9 стадий. Вначале с ферментом связывается РиБФ и лишь на пятой стадии (см. рис. 1) под воздействием иона  $\text{Mg}^{+2}$  и ферментсвязанного РиБФ происходит фиксация  $\text{CO}_2$  на активном центре фермента. Одна из  $\pi$ -связей  $\text{C}=\text{O}$  разрыхляется, на углеродном атоме появляется положительный заряд. Сама молекула из линейной превращается

в угловую. Кроме того, возникает связь С-С между углеродом CO<sub>2</sub> и одним из углеродных атомов РибФ, находящимся на конце кратной связи. Соответствующая схема модельной конгруэнтной реакции имеет вид:



где С — концентрация молекул CO<sub>2</sub>.

Если считать стадию 3 связывания CO<sub>2</sub> с ферментом частично обратимой, можно записать следующее выражение для эффективного коэффициента изотопного фракционирования

$$\alpha_{ef} = \alpha_i ({}^{13}k_3 + k_4) / ({}^{12}k_3 + k_4), \quad (3)$$

где  $\alpha_i = {}^{12}K_3 / {}^{13}K_3$  — кинетический коэффициент изотопного фракционирования на стадии 3 чувствительной к изотопному замещению («intrinsic isotope effect»),  $k_4$  — константа скорости, которая характеризует стадию, не чувствительную к изотопному замещению.

Из анализа выражения (2) легко обнаружить два предельных случая. Первый, когда обратимостью стадии 3 можно пренебречь. Выражение (3) в этом случае можно представить как

$$\alpha_{ef} = \alpha_i = {}^{12}k_3 / {}^{13}k_3, \quad (4)$$

т.е. изотопный эффект ферментативной реакции равен кинетическому изотопному эффекту стадии, где происходит необратимая деструкция связи

( $\alpha_i$ ) Второй предельный случай соответствует установлению равновесия на стадии 3. Коэффициент изотопного фракционирования в этом случае равен отношению изотопных констант равновесия на этой стадии.

$$\alpha_{ef} = \alpha_{тиз} = {}^{13}K_3 / {}^{12}K_3, \quad (5)$$

где  $K_3$  — упомянутая константа равновесия.

Второй случай не представляет интереса ввиду доказанности существенной обогащенности фиксируемого углерода «легким» изотопом, что противоречит равновесному распределению между CO<sub>2</sub> и карбоксильной группой. В этом случае [4] фиксируемый углерод должен был бы обогащаться изотопом <sup>13</sup>С, а не <sup>12</sup>С ( $\beta_{CO_2} < \beta_{COOH}$ ).

Таким образом, для оценки достижимых величин  $\alpha_{ef}$  с учетом результата проведенного анализа, необходимо оценить величину  $\alpha_i$ . Она рассчитывается через термодинамические функции (р-факторы, приведенные суммы по состояниям) молекулы CO<sub>2</sub> ( $\beta_{CO_2}$ ) и переходного комплекса ( $\beta^\circ$ ) (термодинамическое приближение):

$$\alpha_i = {}^{12}k_3 / {}^{13}k_3 = \frac{{}^{12}\beta_{CO_2}}{{}^{13}\beta^\circ}, \quad (6)$$

где

$$\begin{aligned}
 \beta_{CO_2} &= \\
 &= \prod^{3N-6} \left\{ \frac{u_{i,2}^\circ \exp(1/2u_{i,1}^\circ)}{u_{i,1}^\circ \exp(1/2u_{i,2}^\circ)} \cdot \frac{1 - \exp(-u_{i,1}^\circ)}{1 - \exp(-u_{i,2}^\circ)} \right\}, \quad (7)
 \end{aligned}$$

а

$$\begin{aligned}
 \beta^\circ &= \frac{v_{L,1}^\circ}{v_{L,2}^\circ} \times \\
 &\times \prod^{3N-7} \left\{ \frac{u_{i,1}^\circ \exp(1/2u_{i,2}^\circ)}{u_{i,2}^\circ \exp(1/2u_{i,1}^\circ)} \cdot \frac{1 - \exp(-u_{i,2}^\circ)}{1 - \exp(-u_{i,1}^\circ)} \right\}, \quad (8)
 \end{aligned}$$

а  $u_{i,1(2)}^\circ = \frac{h\nu_{i,1(2)}^\circ}{kT}$  и  $u_{i,1(2)}^\circ = \frac{h\nu_{i,1(2)}^\circ}{kT}$  приведенные частоты для реагирующей молекулы CO<sub>2</sub> и переходного комплекса соответственно.

Тогда с учетом (6) выражение для  $\alpha_i$  можно записать

$$\alpha_i = \frac{v_{L,1}^{\otimes}}{v_{L,2}^{\otimes}} \times \quad (9)$$

$$\times \prod_{i=1}^{3N^{\otimes}-7} \left\{ \frac{u_{i,1}^{\otimes} \exp(1/2u_{i,2}^{\otimes})}{u_{i,2}^{\otimes} \exp(1/2u_{i,1}^{\otimes})} \cdot \frac{1 - \exp(-u_{i,2}^{\otimes})}{1 - \exp(-u_{i,1}^{\otimes})} \right\} \times$$

$$\times \prod_{i=1}^{3N^{\otimes}-6} \left\{ \frac{\exp(1/2u_{i,1}^{\otimes})}{\exp(1/2u_{i,2}^{\otimes})} \cdot \frac{1 - \exp(-u_{i,1}^{\otimes})}{1 - \exp(-u_{i,2}^{\otimes})} \right\}.$$

Для частного случая, когда рассматривается деструкция связи и структура переходного комплекса совпадает со структурой реагирующей молекулы выражение (9) после сокращения одинаковых частот преобразуется к виду:

$$\alpha_i = \frac{v_{L,1}^{\otimes} u_{i,2} \exp(1/2u_{i,1})}{v_{L,2}^{\otimes} u_{i,1} \exp(1/2u_{i,2})} \times \quad (10)$$

$$\times \frac{1 - \exp(-u_{i,1})}{1 - \exp(-u_{i,2})}$$

Более грубое приближение получается, если принять, что аperiодическая мнимая частота в переходном комплексе и соответствующая ей реальная частота в реагирующей молекуле приблизительно равны и тогда первые два множителя сократятся, а выражение (10) примет вид

$$\alpha_i = \frac{\exp(1/2u_{i,1})}{\exp(1/2u_{i,2})} \cdot \frac{1 - \exp(-u_{i,1})}{1 - \exp(-u_{i,2})} \quad (11)$$

или

$$\alpha_i = \frac{sh \frac{1}{2} u_{i,1}}{sh \frac{1}{2} u_{i,2}}. \quad (12)$$

Расчет (3-фактора  $CO_2$  не представляет сложности. Неопределенным является расчет  $P^{\otimes}$ -фактора переходного комплекса. В этом определяющую роль играет выбор переходного комплекса. Тапиа и др. [25] представили его как результат взаимодействия енольной формы ферментсвязанного РибФ

с  $b^+$ поляризованным углеродным атомом  $CO_2$ . Ферментсвязанную форму РибФ моделировали молекулой 2,3,4-тригидрокси-2-пентеном. Квантово-химическим методом *ab initio* авторы рассчитали энергетический профиль реакции и определили мнимую частоту, соответствующую переходу через седловину потенциальной поверхности в точке, где возникает переходный комплекс. При этом сама реакция рассматривалась как электрофильная атака поляризованного  $CO_2$  на С-2 атом диенола. Мнимая частота переходного комплекса оказалась равной 395 г. Воспользовавшись результатами расчета и соотношением, связывающим мнимые частоты изотопных форм (как корень квадратный из приведенных масс [8]), Черкез и Фаркуар [27] получили для мнимой частоты изотопной формы значение 382 г. Затем с помощью выражения (12) оценили коэффициент  $\alpha$ ,

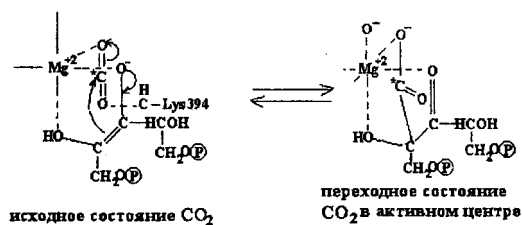
$$\alpha_i = {}^{12}k_3 / {}^{13}k_3 = \frac{sh(u_{12}^{\otimes} / 2)}{sh(u_{13}^{\otimes} / 2)} = 1,0254,$$

величину которого использовали для обоснования более низких, чем считалось, значений изотопных эффектов *in vitro* и близости этих значений к эффектам *in vivo*, что означало признание ключевой роли изотопного эффекта фотосинтетической ассимиляции в наблюдаемом обогащении биомассы.

Однако полученный результат и следующие из него выводы вызывают сомнения по следующим причинам. Во-первых, выражение (12), которое использовали авторы не может быть применено, поскольку оно получено для случая, когда структуры переходного комплекса и молекулы  $CO_2$  совпадают и частоты изотопных форм переходного комплекса и молекулы  $CO_2$  в выражении (12) сокращаются. В рассматриваемом случае это не так. Во-вторых, в выражение (12) входят реальные изотопные частоты колебания

молекулы  $\text{CO}_2$ , которая соответствует мнимой частоте аperiодического колебания вдоль координаты реакции. Авторы вместо них использовали мнимые изотопные частоты. В-третьих, приближение (12) в этом случае вообще нельзя использовать, так как в переходном комплексе, помимо мнимых частот, появляются реальные частоты колебаний, не совпадающие с частотами  $\text{CO}_2$ , которые также вносят свой вклад в (3-фактор переходного комплекса). Следует также заметить, что оценки, полученные путем таких приближенных расчетов, можно использовать лишь как грубое приближение величин изотопных эффектов и выяснения трендов в их поведении, но не как эталонные, основываясь на которых можно делать принципиальные выводы.

Ввиду изложенного нами предпринята новая попытка теоретической оценки достижимого коэффициента разделения изотопов углерода в реакции карбоксилирования РибФ, которую аппроксимировали величиной  $s_{\text{H}}$ . При этом использовали кинетическую схему реакции, предложенную в работе [25]. Ее анализ показывает, что изотопный эффект по ассимилируемому углеродному атому возникает на стадии 4 (рис. 2), когда линейная молекула  $\text{CO}_2$  под действием активного центра фермента и ферментсвязанного РибФ превращается в промежуточное переходное состояние, в котором одна р-связь разрушается, а взамен появляется связь С-С.



Для расчета (3-фактора переходного комплекса вначале рассчитали геомет-

рию и частоты колебаний. Расчет проводили по ограниченному методу Хартри — Фока (базис RHF/6-311++G\*\*;  
3df,3p) с использованием программного комплекса PC GAMESS [17, 20]. В комплексе программ вначале проводится квантово-химический расчет силовых постоянных, которые вместе с геометрическими параметрами используются затем для расчета частот колебаний известными методами [1, 3]. При этом считалось, что на атоме углерода возникает положительный заряд, а на атоме кислорода — отрицательный. Для моделирования этих превращений  $\text{CO}_2$  в качестве сильного нуклеофила был выбран ион  $\text{OH}^-$ . Под его воздействием молекула  $\text{CO}_2$  переходит в карбоксилат-ион. При параметризации связи, образующейся между  $\text{CO}_2$  и нуклеофилом, не очень существенно, какой именно атом образует связь с углеродом (С или О). Реакция не имеет потенциального барьера и по мере сближения реагирующих частиц вплоть до момента образования продукта энергия системы падает. Расчет проводили для 14 точек, равномерно расположенных на пути реакции, при значениях  $r(\text{C}-\text{OH})$  от 1,3 до 4А. В каждой точке жестко фиксировалось расстояние  $r(\text{C}-\text{OH})$ , затем проводилась оптимизация остальных геометрических параметров. В качестве переходного комплекса выбрали конфигурацию с расстоянием  $r(\text{C}-\text{OH}) = 1,90 \text{ \AA}$ , при котором мнимая частота имела максимальное значение. Для «легкой» формы  $\nu_{\text{L}}^{\#}(12) = 430,6\text{i} \text{ см}^{-1}$ , для «тяжелой» формы  $\nu_{\text{L}}^{\#}(13) = 423,3\text{i} \text{ см}^{-1}$ . Все частоты для изотопных форм переходного комплекса представлены в таблице. По ним с помощью выражения (8) был рассчитан (3-фактор переходного комплекса, который оказался равным 1,2207. Заметим, что данное значение по величине приближается к значениям, которые были получены ранее с помощью другой кинетической схемы [5]. Объясняется это тем, что в обоих случаях лимитирующей

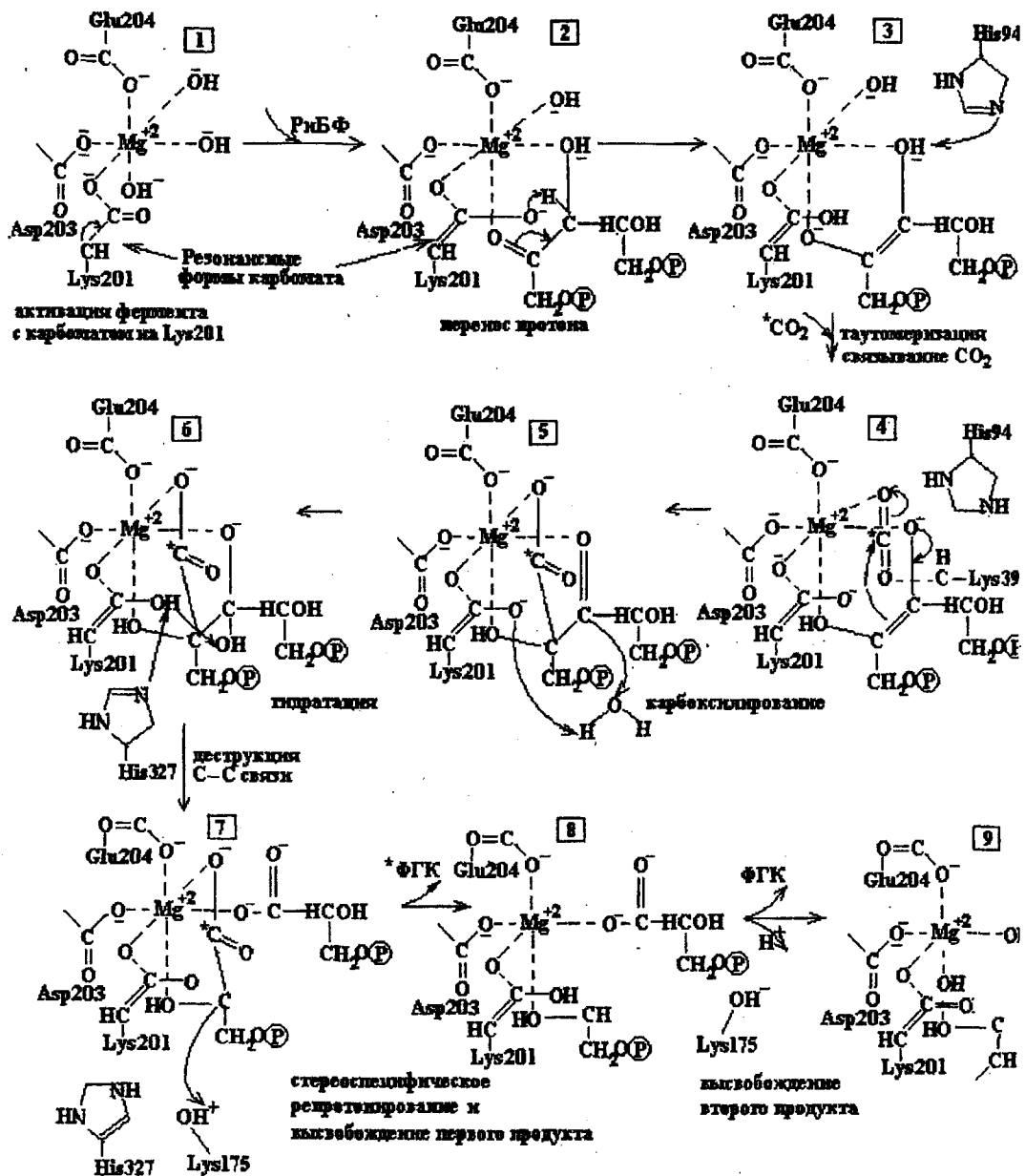


Рис. 2. Предполагаемая последовательность элементарных стадий реакции ферментативного карбоксилирования РнБФ согласно механизму, предложенному в работе [17]

скорость стадий являлась стадия превращения линейной молекулы  $\text{CO}_2$  в нелинейную карбоксильную группу с разрушением  $\pi$ -связи.

Расчет изотопных частот  $\text{CO}_2$ , как отмечалось, не представляет сложности, поскольку и геометрия, и спектр частот этой молекулы хорошо изучен,

Изотопные частоты молекулы CO<sub>2</sub> и переходного комплекса, образующегося при ферментативном карбоксилировании РибФ, полученные квантово-химическим методом Хартри — Фока (базис RHF/6-311++G\*\*<sub>2</sub>; 3df,3p) с использованием программного комплекса PC GAMESS

CO <sub>2</sub> Частоты колебаний, ν см <sup>-1</sup>		«Переходный комплекс» Частоты колебаний, ν см <sup>-1</sup>	
<sup>12</sup> CO <sub>2</sub>	<sup>13</sup> CO <sub>2</sub>	( <sup>12</sup> C <sub>п.к.</sub> )	( <sup>13</sup> C <sub>п.к.</sub> )
778,09(E)	755,94(E)	430,63i	423,34i
1513,34	1513,34	364,00	363,99
2555,04	2482,32	411,37	410,29
		692,65	684,24
		842,87	817,02
		913,95	913,86
		1394,97	1391,12
		2128,97	2191,12
		4159,38	4159,37

$$\beta = 1,1836$$

$$\beta = 1,2207$$

Примечание. \* Частота дважды вырожденная. Пояснения к таблице в тексте.

а метод расчета хорошо разработан, но, работая в рамках одной модели и с целью лучшей сопоставимости результатов, частоты молекулы CO<sub>2</sub> мы также рассчитали описанным способом (таблица). (3-фактор CO<sub>2</sub> оказался равным 1,1836 и очень хорошо соответствовал значению, полученному ранее Тодом с коллегами [26] (3 = 1,1858).

В итоге величина эффективного коэффициента фракционирования изотопов углерода при карбоксилировании РибФ получилась равной

$$\alpha_{ef} = \alpha_{киз} \frac{k_{12}}{k_{13}} = \frac{\nu_{L1}^{\#}}{\nu_{L2}^{\#}} \times \frac{\beta^{\#}}{\beta_{CO_2}} = 1,047,$$

что значительно больше значения, данного в работе [23].

Таким образом, проведенные нами расчеты подтверждают высокие значения коэффициентов изотопного фракционирования, наблюдаемые in vitro. Это позволяет сделать вывод, что в опытах in vitro значения изотопных эффектов действительно намного превышают то обогащение, которое на-

блюдается в биомассе фотосинтезирующих организмов и подтверждается рис. 1 и данными исследований многих авторов [12, 13, 16, 28-31], полученных на разных объектах (соя, томат, сорго, кукуруза, водоросли и микроорганизмы). Полученный результат дает основание полагать, что в клетках этих организмов, вероятно, существует изотопный эффект противоположного знака, компенсирующий эффект ассимиляции. Это предположение подтверждается и другими независимыми данными [19].

#### Библиографический список

1. Вильсон Е., Дешиус Дж., Кросс А. Теория колебательных спектров молекул. М.: ИИЛ 1960. — 2. Глестон С., Лейдлер К., Эйринг Г. Теория абсолютных скоростей реакций. М.: ИИЛ. 1948. — 3. Грибов Л.А. Введение в теорию и расчет колебательных спектров многоатомных молекул. Л.: ЛГУ. — 4. Ивлев А.А., Галимов Э.М., Королёва М.Л. Термодинамические изотопные эффекты органических соединений. VI. Уксусная кислота, ацетальдегид, метиламин, метиловый спирт // Журнал физической химии, 1974. Т. 48. С. 225-227. — 5. Ивлев А.А., Князев Д.А. // Известия ТСХА, 1983. Вып. 4. С. 105-114. — 6. Ивлев А.А. О потоках «лёгкого» и «тяжёлого» углерода при сопряжении фотосинтеза и фотодыхания // Физиология растений, 1993. Т. 40. С. 872-880. — 7. Ивлев А.А., Калинин Л.Г. Экспериментальные свидетельства существования изотопного эффекта фотодыхания // Физиология растений, 2001. Т. 48. С. 467-480. — 8. Меландер Л. Сондерс У. Скорости реакций изотопных молекул. М: Мир, 1983. — 9. Рубин А.Б., Гавриленко В.Ф. Биохимия и физиология фотосинтеза. М.: МГУ, 1971. — 10. Andrews T. J., Lorimer G.H. // The Biochemistry of Plants, 1987. V. 10. PP. 131-218. — 11. Cleland W.W., Andrews J., Gutteridge S. et al. // Chem. Rev., 1998. V. 98. P. 549-561. — 12. Christeller I.T., Laing W.A., Troughton J.H. // Plant Physiol. 1976. V. 57. P. 580-586. — 13. Deleens E., Lerman J.C. Nato A., Moy-



- se A. // Proc. 3-rd Int. Congr. on Photosynthesis. Amsterdam: Elav., 1974. P. 1267-1276. — **14.** Edwards G., Walker D. C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>: mechanisms, and cellular and environmental regulation of photosynthesis. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London, Boston, Melbourne, 1983. — **15.** Estep M.L.F., Tabita F.R., Parker P.L., Baalen CH. V. // Plant Physiol., 1978. V. 61. P. 680-687. — **16.** Fogel M.L. // Diss. Abstr. Int. Sec. B., 1977. V. 38. P. 1994-1996. — **17.** Granovsky A.A. PC GAMESS version 7.0 / <http://classic.chemmsusu/gamess/index.html> — **18.** Mauser H., King W.A., Gready J.E., Andrews T.J. // J. Am. Chem. Soc., 2001. V. 123. P. 15414-15422. — **19.** Ivlev A.A., Igamberdiev A.Y., Dubinsky A.Yu. // Biophysics, 2004. V.49. Suppl. 1. P. 3-16. — **20.** Nemukhin A.V., Grigorenko, B.L., Granovsky A.A. // Moscow University Chemistry Bulletin, 2004, Vol. 45. No. 2. — **21.** Park R., Epstein S. // Plant. Physiol., 1961. V. 36. P. 133-139. — **22.** Pierce J., Andrews T.J., Lorimer J.H. // J. Biol. Chem., 1986. V. 261. P. 10248-10256. — **23.** Roeske C.A., O'Leary M.H. // Biochemistry, 1984. V. 23. P. 6275-6284. — **24.** Roeske C.A., O'Leary M.H. // Biochemistry, 1985. V. 24. P. 1603-1607. — **25.** Tapia O., Andres J., Safont V.S. // Journal of Molecular Structure, 1995. V. 342. P. 131-140. — **26.** Thode H., Shima M., Rees C.J. // Canadian J. Chem., 1965. V. 43. N 3. P. 582-593. — **27.** Tcherkez G., Farquhar G.D. // Functional plant Biology, 2005. V. 32. P. 277-291. — **28.** Whelan T.W., Sackett W.M., Benedict C.R. // Biochem. Biophys. Res. Comm., 1976. V. 41. P. 1205-1207. — **29.** Whelan T.W., Sackett W.M., Benedict C.R. // Plant Physiol., 1973. V. 51. P. 1051-1054. — **30.** Winkler F.J., Kexel H., Kranz C., Schmidt H.-L. The 4-th Int. Conf. On Stable Isotopes. Book of Abstr. Julich., 1981.11.2. Life sciences. — **31.** Wong H.G., Benedict C.R., Kohel R.J. // Plant Physiol., 1979. V. 63. P. 852-856.

Рецензент — д. б. н. Л.А. Паничкин

#### SUMMARY

The ab initio calculation of the carbon isotope fractionation coefficient (A<sub>c</sub>) in RuBP carboxylation reaction was carried out and the estimate of maximal value of it was made. To get this objective RHF/6-311++G\*\* (3df,3p) basis in PC GAMESS program was applied. The geometry and the vibrational frequencies were calculated. By means of the obtained data the partition functions ((3-factors) for CO<sub>2</sub> and for the transitional state were calculated. The value of A<sub>c</sub>, equal to 1,047 appeared to be in the range of the values characteristic of in vitro experiments but much more than those observed in vivo. The result makes it possible to assume the emergence of the isotope effect in some reactions of a living cell that compensate the effect of RuBP carboxylation.