

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА

СЕРДЕНКО ТАІСІЯ ВОЛОДИМИРІВНА



УДК 577.355

**ФОТОІНДУКОВАНІ ЗМІНИ ІНТЕГРАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ СТРУКТУРИ
РЕАКЦІЙНИХ ЦЕНТРІВ БАКТЕРІЙ *RHODOBACTER SPHAEROIDES*
ПРИ ПЕРЕНОСІ ЕЛЕКТРОНА**

03.00.02 – біофізика
(фізико-математичні науки)

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Інституті фізики НАН України.

Науковий керівник: кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник
Барабаш Юрій Маркович,
Інститут фізики НАН України, старший науковий
співробітник відділу фізики біологічних систем

Офіційні опоненти: доктор фізико-математичних наук, доцент
Трусова Валерія Михайлівна,
Харківський національний університет
імені В.Н. Каразіна,
завідувачка кафедри медичної фізики та біомедичних
нанотехнологій

кандидат фізико-математичних наук, доцент
Оглобля Олександр Володимирович,
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка,
доцент кафедри біофізики та медичної інформатики

Захист відбудеться “29” квітня 2021 р. о 15⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-4.

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4 та на сторінці спеціалізованої вченої ради Д 64.051.13 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за посиланням http://rbees.karazin.ua/?page_id=2172&lang=ua.

Автореферат розіслано “29” березня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради



Володимир БЕРЕЕСТ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Протягом багатьох років вивчення процесів фотосинтезу було та залишається актуальним питанням. Найважливішим питанням є вивчення процесів переносу електрона, які відбуваються у реакційних центрах (РЦ).

У даній час одним з активно досліджуваних напрямів є процес первинного електронного переносу, який є першою стадією перетворення енергії поглинутого кванта світла у різницю електричних потенціалів, що далі перетворюється у енергію хімічних зв'язків. Теоретичні та експериментальні роботи, присвячені вивченню реакційних центрів пурпурових бактерій, зазвичай акцентують увагу на швидких процесах. Перенос електрона є високоефективним, що забезпечується стабілізацією електрона на кофакторах завдяки взаємодії хромофорів з білковим оточенням. Цей ефект був виявлений при вивченні мутантних РЦ.

Однак, питанню комплексного дослідження процесів повільного переносу електронів, пов'язаних зі структурними змінами в РЦ, а також розробці методів їх кількісного аналізу, досі приділялось мало уваги.

У даній роботі проаналізовано зв'язок між переносом електрона та структурними змінами в РЦ, запропоновано та проаналізовано математичні моделі для кількісного опису цих процесів.

Зв'язок дисертації з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до планів наукової діяльності відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України в межах тем: «Дослідження фізичних принципів структурної організації та динамічної поведінки біологічних макромолекул» (2005–2007, № держреєстрації 0105U001136); «Дослідження фізичних властивостей і структурної динаміки біомакромолекул та наноконструкцій на їх основі» (2008–2012, № держреєстрації 0108U000253); «Дослідження структурних та динамічних властивостей природних та штучних наносистем, що містять біологічні макромолекули та їх комплекси» (№ держреєстрації 0113U000838, 2012–2017).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було визначення особливостей кінетики циклічного переносу електрона та ефектів саморегуляції пігмент-білкових комплексів реакційних центрів пурпурових бактерій при різних режимах фотозбудження, встановлення особливостей структурних змін РЦ в нерівноважних умовах, розроблення методики аналізу прихованих параметрів цих процесів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Методами адсорбційної спектроскопії дослідити кінетику поглинання розчинів РЦ пурпурових бактерій при різних режимах фотозбудження (час експозиції та інтенсивність збуджуючого світла) та релаксації.
2. Розкласти кінетику переносу електрона на суму експоненціальних функцій та визначити їх параметри при різних режимах фотозбудження.
3. Проаналізувати моделі переносу електрона та їх кінетичні параметри. Зробити порівняльний аналіз таких моделей.

4. Встановити приховані параметри кінетики електрон-конформаційних станів РЦ пурпурових бактерій при різних режимах фотозбудження.

Об'єкт дослідження – фотостимульовані ізольовані РЦ пурпурових бактерій *Rhodobacter sphaeroides* у водному розчині з детергентом.

Предмет дослідження – кінетика електрон-конформаційних перебудов фотосинтетичних РЦ при різних режимах фотозбудження.

Методи дослідження: електронна адсорбційна спектроскопія; математичне моделювання та комп'ютерний аналіз експериментальних даних із використанням спеціально розроблених комп'ютерних програм.

Наукова новизна отриманих результатів:

1. Вперше показано, що структура РЦ може бути описана системою чотирьох електрон-конформаційних станів, які відповідають системі чотирьох диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами.
2. Вперше встановлено, що РЦ знаходиться у конформаційно-нерівноважному стані не тільки у процесі фотозбудження, а і у процесі релаксації.
3. Вперше визначено параметри конформаційно-нерівноважного стану у процесі фотозбудження. Розроблено протокол дослідження динаміки структурних змін РЦ за допомогою двох послідовних імпульсів.
4. Вперше показано, що у процесі фотозбудження існують два протилежні механізми, які впливають на кінетику переносу електрона. Один механізм спрямований на збільшення швидкості повернення електрона. Інший механізм спрямований на одночасне зменшення швидкості повернення, але його дія проявляється після вимкнення світла.
5. Показано, що при збільшенні інтенсивності збуджуючого світла відбувається прискорення повернення електрона на донор.

Практичне значення отриманих результатів. Результати роботи та їх ґрунтовний аналіз дають внесок у розуміння електрон-конформаційних змін при переносі електрона у процесі фотосинтезу. Ці ефекти є основою керування фізіологічною активністю пігмент-білкових комплексів РЦ, що може посприяти створенню штучних систем переносу електрона. Розроблені методики обробки експериментальних даних та створені комп'ютерні програми можуть бути використані для аналізу кінетичних кривих різноманітних процесів.

Публікації. Основні результати дисертації опубліковані в 30 наукових працях; з них: 11 статей у міжнародних та вітчизняних фахових наукових журналах та 19 тез доповідей на міжнародних та вітчизняних конференціях.

Особистий внесок здобувача. Автором дисертаційної роботи самостійно проведено аналіз наукової літератури, отримано результати експериментальних досліджень і проведено їхню обробку. Постановка задачі та інтерпретація отриманих даних здійснювалась спільно з науковим керівником та співавторами наукових публікацій. В опублікованих спільно зі співавторами працях особистий внесок здобувача: участь у постановці задач дослідження, аналіз літературних даних, отримання спектрів поглинання РЦ, обробка, аналіз та інтерпретація отриманих експериментальних даних, написання статей і тез.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на таких міжнародних та вітчизняних конференціях: International conference «NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects» (NBP–2011, Kyiv; NBP–2015, Kyiv; NBP–2017, Kharkiv; NBP–2019, Kyiv); International research and practice conference «Nanotechnology and Nanomaterials» (NANO–2013, Bukovel; NANO–2014, Lviv; NANO–2015, Lviv; NANO–2017, Chernivtsi; NANO–2018, Kyiv; NANO–2019, Lviv); IX International Young Scientists Conference «Optics and High Technology Material Science» (SPO–2008, Kyiv; SPO–2012, Kyiv; SPO–2013, Kyiv); Міжнародна конференція студентів і молодих науковців з теоретичної та експериментальної фізики «ЄВРИКА–2010» (2010, Львів); XIII Міжнародна конференція з фізики та технології тонких плівок та наноструктур (*МКФТТІН-ХІІІ*) (2011, Івано-Франківськ); FINELUMEN International Summer School «Advanced Physical Methods for Organic, Inorganic, and Hybrid Materials» (2011, Łochów, Poland); International meeting «Clusters and nanostructured materials» (CNM-3'2012, Uzhgorod); Міжнародна конференція молодих вчених та аспірантів (ІЕФ–2011) (2011, Ужгород).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаної літератури та додатку. Обсяг загального тексту дисертації складає 157 сторінок, з них основного тексту 113 сторінок. Робота ілюстрована 10 таблицями та 44 рисунками. Список використаних джерел містить 135 найменувань та займає 16 сторінок. Додаток займає 8 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету та задачі дослідження, визначено методи, об'єкт і предмет дослідження, а також наукову новизну отриманих результатів та їхню практичну цінність, вказано особистий внесок здобувача та наведено дані щодо апробації та перелік публікацій здобувача.

У **першому розділі** представлено огляд літератури за темою дисертації. Охарактеризовано структуру реакційних центрів (РЦ) пурпурових бактерій, їх спектральні властивості, описано процес світлоіндукованого переносу заряду, проаналізовано його залежність від різних параметрів та умов.

Структура реакційних центрів добре вивчена. РЦ забезпечує первинний процес перетворення енергії квантів світла в хімічну енергію при фотосинтезі. Білок РЦ гідрофобний, без детергенту він нерозчинний у воді. РЦ складається з чотирьох молекул бактеріохлорофіла (Бхл), двох молекул бактеріофеофітина (Бфф), однієї чи двох молекул убіхінону (Q), атома заліза (Fe). Димер бактеріохлорофіла є первинним донором електрона, первинними та вторинними акцепторами є хінони, проміжними акцепторами – бактеріофеофітини.

Послідовність прямих реакцій переносу електрона було встановлено за допомогою спектральних методів. При освітленні РЦ відбуваються зворотні зміни спектра поглинання, що характеризують окислений стан пігменту та відновлення кофакторів. На кожному з кофакторів ланцюга переносу стабілізація електрона

викликана структурно-динамічними перебудовами молекулярного комплексу РЦ. Енергія електрона зменшується при переході між пігментами, що робить процес незворотнім.

Визначено фактори та умови, що впливають на ефективність переносу електрона, а також розглянуто існуючі математичні моделі переносу електрона. Особливу увагу приділено питанню можливих шляхів електрон-конформаційних змін в РЦ. Визначено аспекти дослідження переносу електрона та структурних змін в РЦ, яким у публікаціях інших авторів не було приділено достатньо уваги. На основі проведеного аналізу літературних даних зроблено висновки про необхідність подальшого детального вивчення зв'язку між переносом електрона та структурними змінами в РЦ, ефектів їх саморегуляції.

У другому розділі описано експериментальні методи та прилади, використані у роботі: описано процес виділення РЦ, проаналізовано особливості спектроскопії фотоактивних об'єктів, будову експериментальної установки та особливості протоколу експериментальних вимірювань. Також описано метод розкладу кінетичних кривих електронного транспорту на експоненціальні компоненти, алгоритм оптимізації та меню програми. Описано протокол подвійної експозиції РЦ. Наведено відомості про метод неперервного вейвлет-перетворення.

У роботі використовувались РЦ пурпурових бактерій *Rhodobacter sphaeroides* дикого типу, виділені на кафедрі біофізики Московського державного університету імені М.В. Ломоносова за допомогою детергента 0,05% ЛДАО (лаурилдиметиламіноксид). У якості буферу для стабілізації рН (8,1) використовувався 10 ммоль натрій-фосфатний розчин з додаванням 0,1% холату натрія.

Спектр поглинання РЦ характеризується зсувом амплітуди піку 865 нм при освітленні збуджуючим світлом, що відповідає поглинанню димера бактеріохлорофілу. Закон Бугера-Ламберта-Бера у його класичному вигляді можна використовувати для середовищ малої оптичної густини. Інтенсивність світла після взаємодії з фотоактивними молекулами з аномально великим часом життя у стані з фоторозділеним електроном розподіляється вздовж оптичного шляху з суттєвим відхиленням від закону Бугера-Ламберта-Бера. Збуджуюче світло має бути направлене на зразок з двох протилежних сторін, що потрібно враховувати при побудові оптичної схеми експериментальної установки.

Для вимірювання абсорбційних спектрів РЦ використовувався двопроменевий програмно-апаратний комплекс, створений на базі ПК IBM з вбудованою платою E-1050 системи збору цифрової та аналогової інформації. Особливістю даного комплексу є використання зондувального світла низької інтенсивності, модульованого частотою 5 кГц, а також застосування додаткового оптичного каналу для збуджуючого світла різної інтенсивності. Комплекс складається з оптичного блоку та блоку попередньої обробки сигналів з цифровою індикацією результатів вимірювань, що дозволяє проводити дослідження в автономному режимі під керуванням ПК без особистої участі оператора. На рис. 1 наведено блок-схему експериментальної установки.

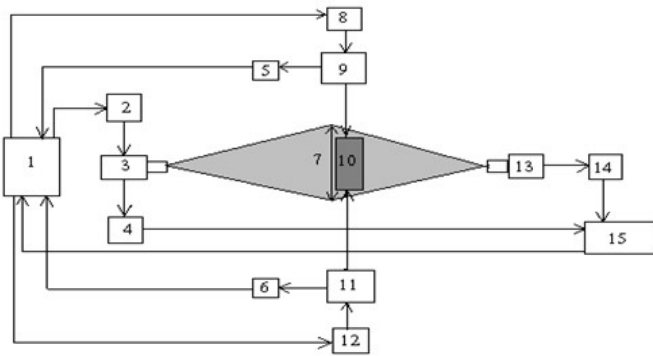


Рис. 1. Блок-схема програмно-апаратного комплексу: 1 – ПК; 2 – канал формування $I_{оп.}$; 3 – система з світлодіодами; 4 – канал вимірювання $I_{тест}$; 5, 6 – канали вимірювання $I_{збудж}$; 7 – фокусуюча лінза; 8, 12 – канали формування $I_{збудж}$; 9, 11 – набори світлодіодів; 10 – кювета; 13 – фотоприймач з підсилювачем; 14 – детектор з підсилювачем; 15 – канал попередньої обробки.

Для первинного аналізу експериментальних результатів було розроблено програмне забезпечення для їх апроксимації у вигляді суми експоненціальних компонент. Експериментальні криві можна апроксимувати сумою трьох експоненціальних складових:

$$\frac{dx(t)}{dt} = \sum_i A_i e^{-d_i t}; \sum_i A_i = 1; i = 1, 2, 3. \quad (1)$$

Похибка порівняння експериментальної та апроксимованої кривих не перевищує 5%.

Так як досягнення початкового стану поглинання після припинення фотозбудження РЦ не гарантує повернення у початковий стан його структури, було розроблено двоекспозиційну методику. Ця методика полягає у застосуванні двох імпульсів збуджуючого світла з різними інтервалами між ними та аналізом кінетики переносу електрона під час релаксації РЦ після другого імпульсу за допомогою розкладу на експоненти. При максимальному фотозбудженні (інтенсивність $7,2 \text{ мВт/см}^2$, тривалість – 100 с) система РЦ потребує мінімум 500 с для повернення у темноадаптований стан, тому інтервал між вимірюваннями становить 1500 с після досягнення початкового значення поглинання.

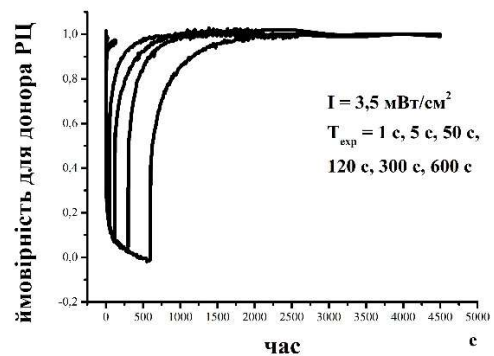
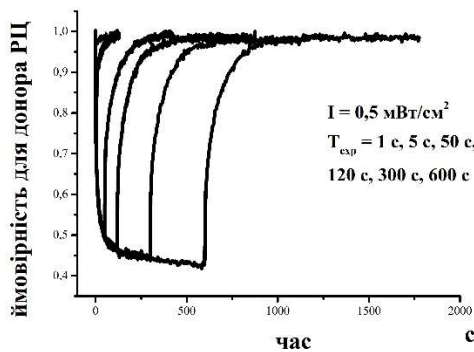
Будь-яка експериментальна залежність може мати як стаціонарний, так і нестаціонарний характер. У випадку стаціонарного характеру її аналіз може бути виконаний за допомогою системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами, а у випадку нестаціонарного характеру – за допомогою вейвлет-аналізу. Неперервне вейвлет-перетворення (НВП) полягає у обробці експериментальної функції $s(t)$ за допомогою вейвлетів $\psi(t)$ – локальних у часі функцій з нормованою на одиницю площею. НВП має вигляд:

$$W(a, b) = \frac{1}{\sqrt{|a|}} \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \psi\left(\frac{t-b}{a}\right) dt. \quad (2)$$

Спектр НВП обчислюється при згортанні вейвлета із експериментальною залежністю. Відбувається переміщення вейвлета вздовж всієї функції у часі. Величина згортки показує збіг вейвлета з кінетичною кривою у конкретний момент часу. Ширину вейвлета a можна змінювати, b – параметр зсуву по часу.

Третій розділ присвячено аналізу мультиекспоненціального характеру переносу електрона РЦ, який відповідає двом моделям кінетики переносу електрона при фотозбудженні РЦ. Одна модель – система з двох балансних рівнянь зі змінними в часі параметрами, яка використовується, коли аналізований процес є нестационарним, друга модель – система із чотирьох балансних рівнянь з постійними коефіцієнтами кінетики переносу електрона, яка використовується для опису стаціонарного процесу. Ці моделі описують різні можливі механізми переносу електрона. Тому було проведено аналіз та порівняння результатів обох методів.

За допомогою пристрою (рис. 1) отримано серії експериментальних кривих (рис. 2) для різної тривалості експозиції (1 с; 5 с; 50 с; 120 с; 300 с; 600 с) та інтенсивності збуджуючого світла ($0,5 \text{ мВт/см}^2$; $1,5 \text{ мВт/см}^2$; $3,5 \text{ мВт/см}^2$).

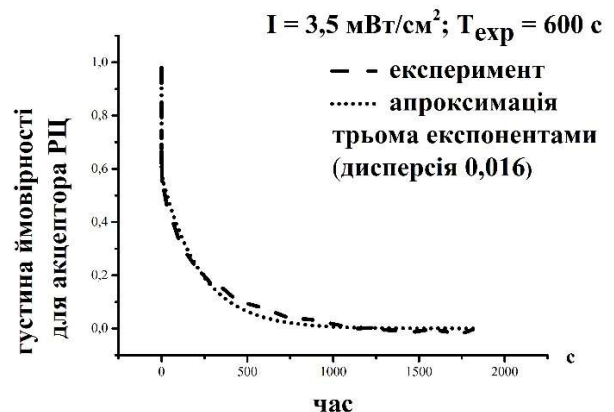
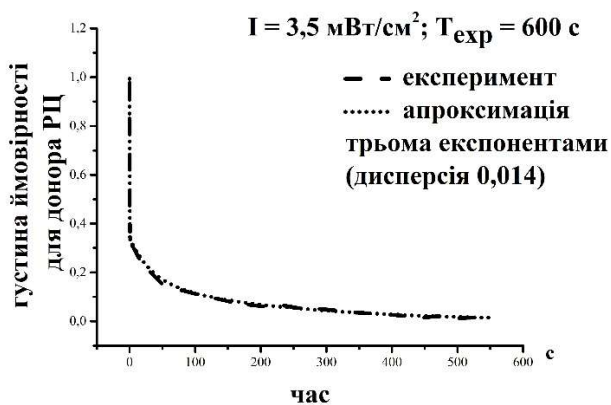


а)

б)

Рис. 2 (а, б). Кінетика густини ймовірності перебування електрона на донорі РЦ при різних режимах фотозбудження РЦ.

Експериментальні криві можна розділити на дві частини: процес окислення донора (фотоактивація РЦ) та відновлення донора електронів (релаксація РЦ). Кожна частина гарно апроксимується сумою трьох експоненціальних складових з додатними ваговими коефіцієнтами та від'ємними значеннями декрементів. Порівняння експериментальної та апроксимованої кривих наведено на рисунку 3.



а)

б)

Рис. 3. Апроксимація кінетики ймовірності знаходження електрона сумою трьох експоненціальних складових: а) на донорі при фотозбудженні РЦ; б) на акцепторі після освітлення РЦ.

Згідно дворівневої моделі РЦ знаходяться в основному темноадаптованому стані 0, коли електрон локалізований на донорі Р. При поглинанні кванта світла, РЦ переходить в збуджений стан, а електрон переміщується на акцептор Q_B – стан 1. На рис. 4 наведено діаграму для опису такої моделі.

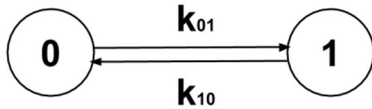


Рис. 4. Дворівнева кінетична схема переносу електрона в РЦ.

Кінетика фотоіндукованого переносу електрона в РЦ може бути описана диференціальними рівняннями балансу і стану:

$$\frac{dp(t)}{dt} = -k_{01}(I) \cdot p(t) + k_{10}(I, t) \cdot (1 - p(t)); \quad (3)$$

$$p(t) + q(t) = 1, \quad (4)$$

де I – інтенсивність фотозбудження РЦ, $p(t)$, $q(t)$ – ймовірності знаходження електрона на донорі, акцепторі з початковою умовою: $p(0) = 1$, $q(t) = 0$.

Кінетика переносу електрона в такій моделі задається постійним коефіцієнтом швидкості прямого ($k_{01}(I)$) і змінним коефіцієнтом швидкості зворотного ($k_{10}(I, t)$) переносу електрона на етапі освітлення РЦ, і коефіцієнтом зворотного переносу з акцептора на донор ($k_{10}^T(t)$) на етапі релаксації РЦ після припинення фотозбудження. Останні коефіцієнти можуть залежати від часу.

Кінетика відновлення донора РЦ після вимкнення світла ($I_0 = 0$):

$$\frac{dq(t)}{dt} = -k_{10}^T(t) \cdot q(t); \quad (5)$$

$$\frac{1}{q(t)} \cdot \frac{dq(t)}{dt} = -k_{10}^T(t). \quad (6)$$

Вираз $\frac{1}{q(t)} \cdot \frac{dq(t)}{dt}$ – логарифмічна похідна ймовірності $q(t)$ знаходження електрона на акцепторі (рис. 3). Залежність $k_{10}^T(t)$ пов'язана зі структурними змінами РЦ і має більш виражені особливості, ніж експериментальна кінетика переносу електрона. У цій залежності можна виділити три характерні ділянки з різною поведінкою залежності ймовірності знаходження електрона $q(t)$. На останній ділянці значення коефіцієнта зворотного переносу електрона майже не змінюється. Це свідчить про те, що на цій ділянці кінетика переносу електрона має моноекспоненціальний характер.

Було проведено неперервний вейвлет-аналіз логарифмічної похідної кінетики переносу електрона, так як особливості часової залежності логарифмічної похідної більш виражені, ніж особливості самої кінетики. Неперервне вейвлет-перетворення має властивості масштабування і виявляє особливості сигналу, їх частотну та часову локалізацію.

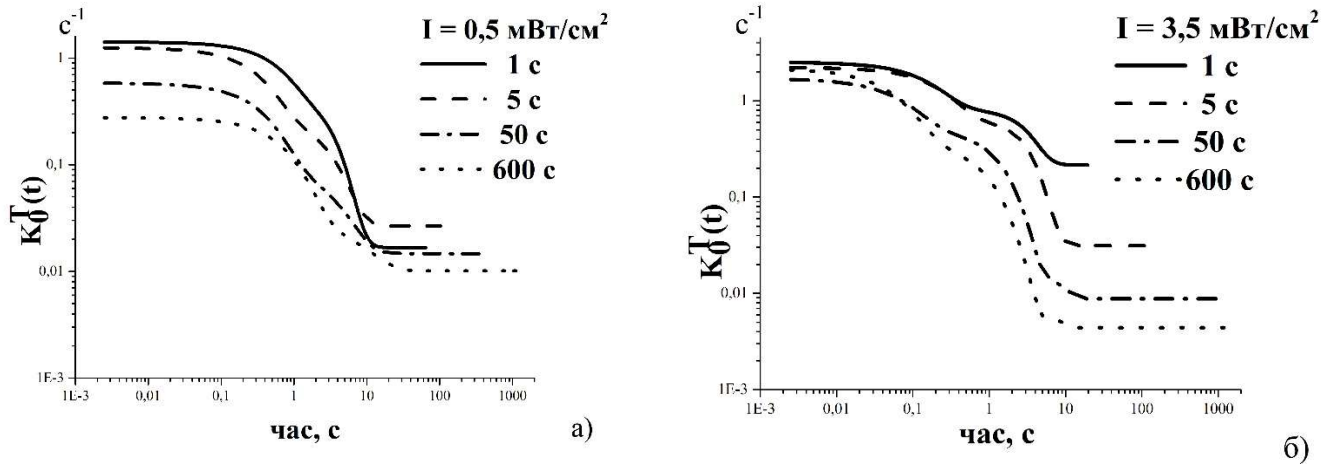


Рис. 5. Константи швидкості $k_{10}^T(t)$ переносу електрона з акцептора (Q) на донор (P) до (а) та після (б) вимкнення світла для різних параметрів фотозбудження РЦ.

Був використаний вейвлет Morlet, який має комплексну форму та виражається у вигляді «мексиканського капелюха», помноженого на експоненту:

$$\psi_{Morlet}(t, a, b) = \frac{1}{\pi\sqrt{a}} \cdot \left[\exp\left(-i\varepsilon \left(\frac{t-b}{a}\right)\right) - \exp\left(-\frac{\varepsilon^2}{2}\right) \cdot \exp\left(-\left(\frac{t-b}{a}\right)^2 \cdot \varepsilon\right) \right]. \quad (7)$$

НВП кінетики переносу електрона в РЦ дозволяє виявити виражені особливості (рис. 7) як при фотозбудженні РЦ (окислення донора), так і на етапі рекомбінації електрона (відновлення донора РЦ) після виключення збуджуючого світла. Наявність таких особливостей зумовлена тим, що у пігмент-білковому комплексі РЦ структура молекул при наявності (відсутності) електрона суттєво відрізняється. У процесі електронного транспорту створюється поляризоване середовище, в якому виникає самоузгоджене поле, еквівалентне потенціальній ямі для електрона. Виникають електрон-конформаційні стани, відділені від початкового стану енергетичним бар'єром. Такі стани можна охарактеризувати густиною ймовірності знаходження електрона у кожному стані.

Для стаціонарного процесу переносу електрона РЦ можливо використовувати систему чотирьох диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами. У цьому випадку стан 0 відповідає перебуванню електрона на донорі, стани 1, 2 та 3 – перебуванню електрона на акцепторі РЦ (рис. 6).

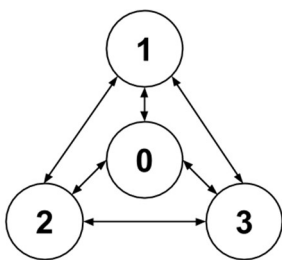


Рис. 6. Кінетична схема електронного транспорту в РЦ *Rhodobacter sphaeroides*. Стрілки відображають електронно-конформаційну взаємодію комплексу РЦ. Кінетичні константи (їх 12) диференціальних рівнянь пов'язані зі стрілками і відображають перенесення заряду між станами РЦ.

Розв'язок системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами виражається у вигляді суми різних експоненціальних функцій, коли матриця коефіцієнтів не має кратних власних значень. Якщо експериментальну кінетику основної реакції можна описати у вигляді суми різних експоненціальних функцій, то вона може відповідати деякій системі диференціальних рівнянь, кожне з яких характеризує незалежний стан об'єкта.

У дисертаційній роботі використовувався градієнтний метод розв'язання оптимізаційної задачі, який полягав у визначенні таких значень коефіцієнтів системи диференціальних рівнянь, при яких кінетика ймовірності перебування електрона на донорі (стан 0) РЦ співпадає з експериментальною кінетикою поглинання РЦ. При розв'язанні оптимізаційної задачі ця кінетика використовувалась у якості цільової функції. Така задача є оберненою та погано обумовленою. Для прямої задачі, коли відомі значення кінетичних констант системи диференціальних рівнянь, між константами диференціальних рівнянь та розв'язком системи існує взаємно однозначна відповідність, при цьому система рівнянь має єдиний розв'язок. Диференціальні рівняння переносу електрона РЦ з рівнянням стану мають вигляд:

$$\frac{dX_0}{dt} = -(k_{01} + k_{02} + k_{03}) \cdot X_0 + k_{10} \cdot X_1 + k_{20} \cdot X_2 + k_{30} \cdot X_3; \quad (8)$$

$$\frac{dX_1}{dt} = k_{01} \cdot X_0 - (k_{10} + k_{12} + k_{13}) \cdot X_1 + k_{21} \cdot X_2 + k_{31} \cdot X_3; \quad (9)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{02} \cdot X_0 + k_{12} \cdot X_1 - (k_{20} + k_{22} + k_{23}) \cdot X_2 + k_{32} \cdot X_3; \quad (10)$$

$$X_0 + X_1 + X_2 + X_3 = 1. \quad (11)$$

Загальний розв'язок системи має вигляд:

$$X_i(t) = C_{i,1} \cdot \exp(-d_1 t) + C_{i,2} \cdot \exp(-d_2 t) + C_{i,3} \cdot \exp(-d_3 t) \quad (12)$$

де $X_i(t)$ – позначає ймовірності знаходження РЦ у різних станах, які задані ймовірностями локалізації електрона, $i = 1, 2, 3$; $C_{i,1}$, $C_{i,2}$, $C_{i,3}$ – константи, які визначались значеннями власних векторів матриці констант диференціальних рівнянь та початковими умовами підсистем для процесів збудження та релаксації РЦ; k_{ij} – кінетичні константи швидкості диференціальних рівнянь балансу, які задають швидкість переносу електрона між станами РЦ.

Початкові умови при розрахунку густини ймовірності для електрона у процесі фотозбудження РЦ мають вигляд: $X_0(0) = 1$, $X_1(0) = 0$, $X_2(0) = 0$, $X_3(0) = 0$. Початкові умови для процесу релаксації РЦ дорівнюють значенням густини ймовірності у кінцевий момент процесу фотозбудження.

Наявність максимумів ймовірності станів підсистем РЦ (рис. 7) дозволяє говорити про присутність протилежних процесів у кінетиці підстанів при їх фотозбудженні та релаксації. Такі процеси можуть бути зумовлені структурними змінами в РЦ при фотостимульованому переносі електрона.

На рис. 7 наведено вейвлет-спектри логарифмічної похідної експериментальної кінетики густини ймовірності знаходження електрона на донорі та розрахункову кінетику густини ймовірності знаходження електрона у різних станах РЦ. Вони мають виражені особливості як на етапі фотозбудження, так і на етапі рекомбінації електрона. Спостерігається відповідність особливостей двох моделей переносу електрона, для всіх параметрів фотозбудження РЦ. Це говорить про кореляцію моделей. Наявність особливостей обумовлено тим, що в процесі циклічного переносу електрона відбувається поляризація пігмент-білкового комплексу РЦ, утворюються орієнтація пов'язаних електричних зарядів. Змінюються локальні електричні поля молекул та бар'єри між різними орієнтаціями диполів. Модель поляризації РЦ перестає бути дебаївською. Модель поляризації РЦ можна уявити як складну суперпозицію експоненціальних функцій з різними константами реакції, які представляють чотири стани РЦ (рис. 6). Стан 0 відповідає знаходженню електрона на донорі РЦ, а решта станів – його відсутності.

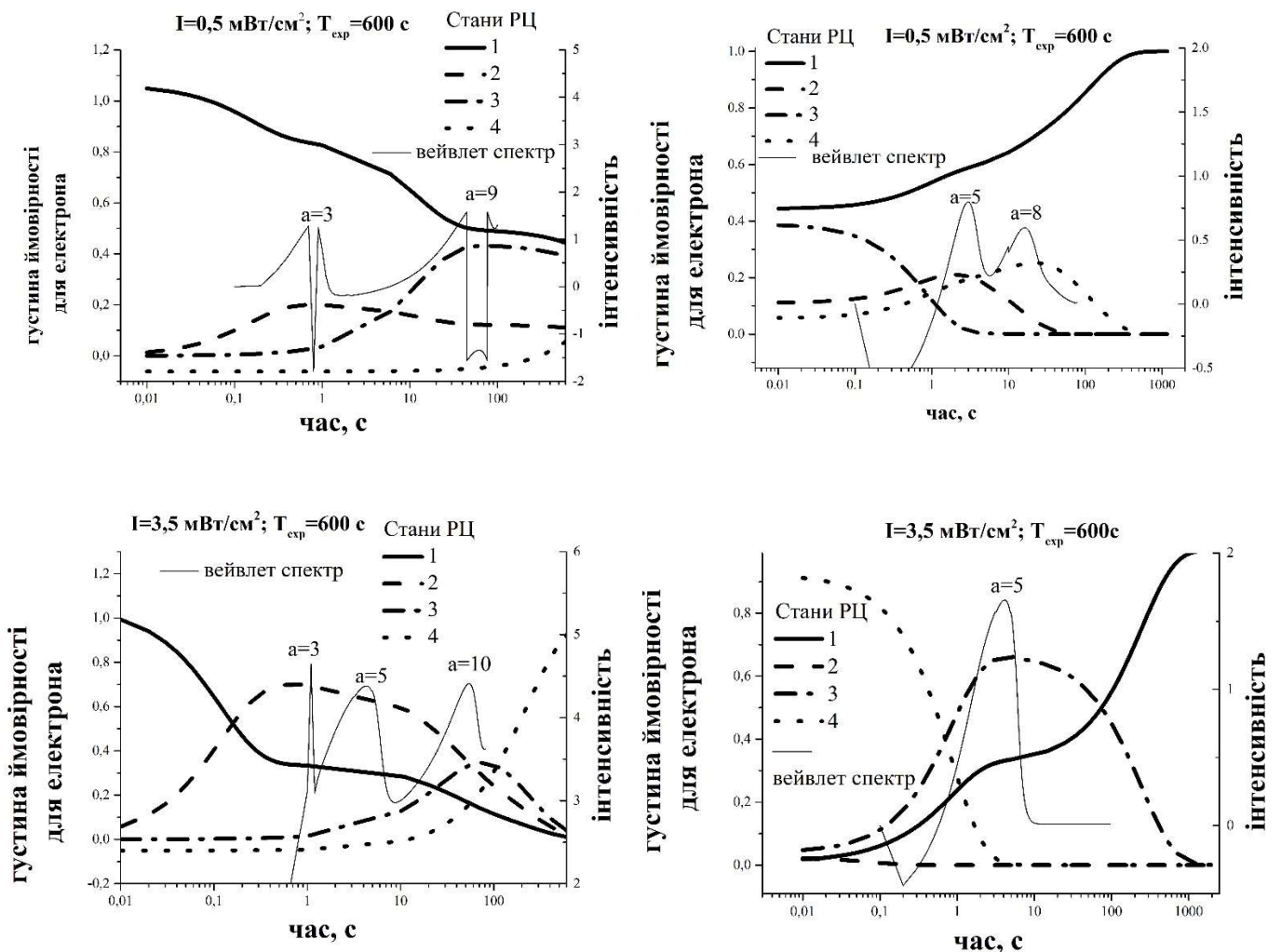


Рис. 7. Кінетика густини ймовірності знаходження електрона у 4-х станах РЦ, отримана в результаті розв'язку системи диференціальних рівнянь, та вейвлет-спектр логарифмічної похідної експериментальної кінетики заселеності донора.

Особливості кінетики ймовірності для станів 1, 2 РЦ лежать у околі 1 с, 3 с та 60 с і є маркерами вейвлет-спектру та динаміки структурних змін в РЦ. Вони характеризують просторово-часові рухи молекул та зумовлені ефектами саморегуляції основної реакції (переносу електрону) при фотозбудженні РЦ.

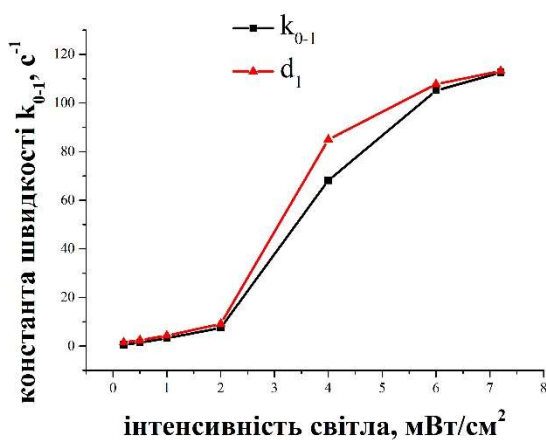
У четвертому розділі проведено аналіз редокс-конформаційних станів білкового комплексу РЦ для різних інтенсивностей збуджуючого світла (0,2 мВт/см²; 0,5 мВт/см²; 1,0 мВт/см²; 2,0 мВт/см²; 4,0 мВт/см²; 6,0 мВт/см²; 7,2 мВт/см², при часі освітлення – 100 с). Характеристики станів важко виміряти експериментально, вони є прихованими параметрами РЦ. Відносна кінетика поглинання (перенос електрона) та швидкість переходу РЦ з одного стану в інший визначались за кінетикою лінії 865 нм спектра оптичного поглинання. Темноадаптований стан РЦ після фотозбудження формувався за допомогою додаткової витримки РЦ у темряві протягом 1500 с після досягнення початкового значення поглинання. При збільшенні інтенсивності відновлення поглинання відбувається повільніше. Це свідчить про вплив ефектів поляризації РЦ на процеси електронного внутрішнього молекулярного транспорту електрона.

Усі експериментальні криві нормованої кінетики переносу електрону РЦ гарно апроксимуються сумою трьох різних експоненціальних залежностей з від'ємними показниками як на етапі фотозбудження, так і на етапі відновлення РЦ. В дисертаційній роботі використовувалась модель переносу електрону РЦ з чотирма станами, виконуючи оптимізаційну процедуру ідентифікації системи трьох простих диференціальних рівнянь з рівнянням стану, визначались показники швидкостей реакції для кожної експериментальної кривої переносу електрона.

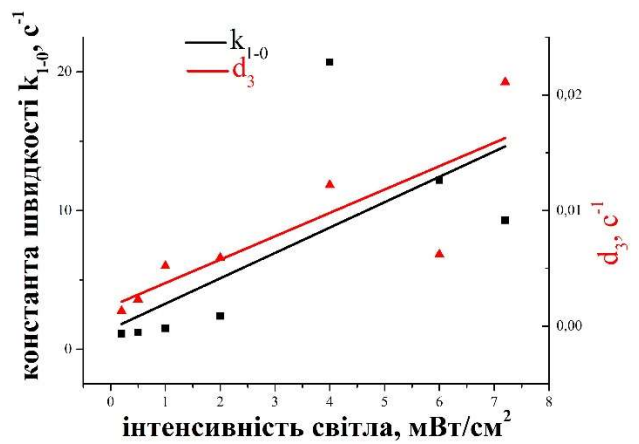
Знаючи коефіцієнти диференціальних рівнянь, знаходили їх розв'язок. Вони показували часову залежність ймовірності знаходження РЦ в різних електронно-конформаційних станах або ймовірність знаходження електрона в різних станах РЦ. Існує велика дисперсія в величинах показника швидкості реакції. На етапі фотозбудження РЦ константи швидкості k_{01} і k_{10} , які характеризують перехід електрона по станах 0-1-0, пропорційні інтенсивності світла збудження РЦ. Така залежність k_{10} від інтенсивності світла збудження дозволяє припустити, що у процесі переносу електрона працюють два механізми. Один механізм спрямований на збільшення швидкості повернення електрона. Інший механізм спрямований на одночасне зменшення швидкості повернення, але його дія проявляється після вимкнення світла.

Значення k_{01} симбатно найбільшому декременту d_1 експоненціальної складової кінетики переносу електрона (рис. 8 а). Вони характеризують чисто електронний процес переносу електрона. Значення k_{10} симбатно найменшому декременту (d_3) експоненціальної складової кінетики переносу електрона (рис. 8 б). Вони пов'язані зі змінами в структурі РЦ. Аналізуючи кінетику відновлення, можна відмітити: якщо заселеність стану, на момент вимкнення світла найбільша, то і константи обернених переходів з цього стану, теж мають найбільші чисельні значення. При цьому, крім повернення в стан 0 з 1-го, 2-го та 3-го станів, можливими залишаються переходи між станами 1, 2, 3. По аналогії з процесом окиснення, в процесі відновлення теж можемо виділити 2 процеси і припустити, що перший характеризує

лише електронний транспорт без зміни структури РЦ, що відповідає релаксації заселеності того стану, що був найбільш заселений в момент вимкнення світла. А другий відображає кінетику структурних змін. При окисленні та відновленні ми спостерігаємо процеси релаксації електронного транспорту, декременти яких сильно відрізняються. Це говорить про те, що система РЦ за короткий час може потрапити в стани, які сильно відрізняються один від одного за часом відновлення, який характеризує структуру РЦ. Тобто процеси переходу з одного стану в інший можуть відбуватися за характером аномальної дифузії. Така дифузія структури може відбуватись, коли перехід відбувається за моделлю дисперсійних стрибків шляхом тунелювання між пастками, що розділені невеликим енергетичним бар'єром.



а)



б)

Рис. 8. Залежність констант та декрементів від інтенсивності збуджуючого світла.

Розупорядкована система, до якої належить білок РЦ, характеризується поляризацією з широким спектром з різними часами релаксації, типовими для явища обмеженої дифузії. У такому випадку вигляд функції розподілу часів релаксації РЦ має важливе значення для розрахунку різноманітних параметрів. З цієї точки зору залежності констант швидкостей реакції (рис. 8), часових параметрів максимумів ймовірності станів РЦ (рис. 9) від інтенсивності збуджуючого світла характеризують властивості РЦ. У режимі фотозбудження РЦ максимуми ймовірності станів 1, 2 знаходяться на 0,06 с та 6 с після початку фотозбудження. У режимі релаксації РЦ максимуми ймовірності станів фіксуються через 3 с, 47 с, зменшення ймовірності стану 3 до нуля відбувається через 3 с, стану 1 – через 140 с після закінчення фотозбудження при загальному часі релаксації РЦ понад 1000 с.

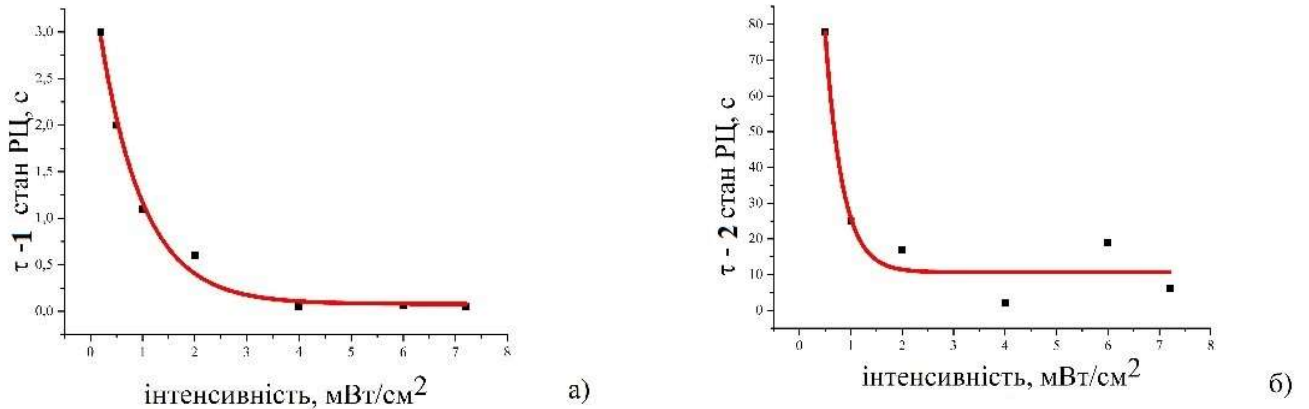


Рис. 9. Залежність часу τ досягнення максимуму ймовірності від інтенсивності збуджуючого світла: а) та б) на етапі збудження для станів 1 та 2.

На рис. 10 наведено кінетику фотостимульованого переносу заряду в РЦ з використанням двох послідовних імпульсів світла зі змінним інтервалом між ними. Показано немонотонну залежність параметрів експоненціальних складових кінетики від величини інтервалу між імпульсами. Дана методика дозволяє визначати часові параметри електрон-конформаційних взаємодій РЦ. Результати співпадають з попередніми обрахунками. Максимуми густини ймовірності для станів 1 та 2 у процесі релаксації РЦ на 3 с, 47 с, 140 с співпадають за порядком величини з інтервалом 4–100 с між імпульсами фотозбудження РЦ, при якому параметри експоненціальних складових процесу релаксації РЦ мають екстремальні значення. Це підтверджує припущення, що поява особливостей у кінетиці густини ймовірності станів РЦ при фотостимульованому переносі заряду пов'язана зі змінами у їх структурі.

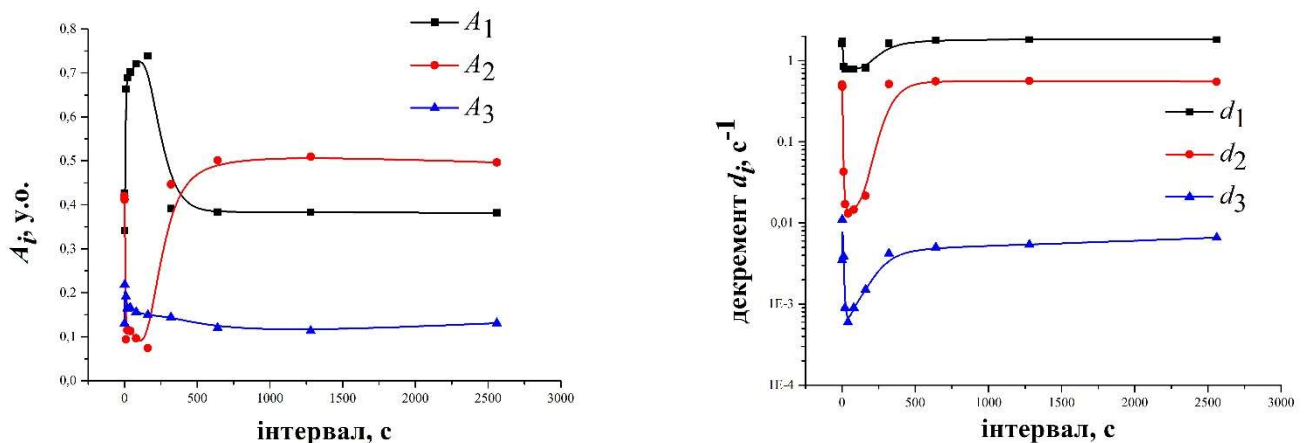


Рис. 10. Метод двох експозицій при фотозбудженні РЦ. Зміна параметрів експоненціальних компонент фотоіндукованого переносу електрона: а) зміна значень ваг (A_i) та б) декрементів (d_i) експоненціальних складових релаксації донора РЦ після другого збуджуючого імпульсу в залежності від значення інтервалу між першим та другим імпульсами фотостимуляції РЦ. Інтенсивність імпульсів становить 7 мВт/см^2 , тривалість – 100 с.

Кінетика ймовірності станів РЦ у процесі фотозбудження та релаксації має виражені екстремуми, що зумовлені ефектами структурної саморегуляції основної реакції (переносу електрона) у результаті просторових рухів макромолекули РЦ. Такі екстремуми є маркерами структурних змін в РЦ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі розв'язано важливу біофізичну задачу, яка полягає у ідентифікації прихованих параметрів переносу електрона в РЦ при його фотозбудженні. Показано зв'язок цих параметрів зі структурними змінами у пігмент-білковому комплексі РЦ.

Отримані результати дозволяють сформулювати такі узагальнюючі висновки:

1. Кінетика переносу електрона у процесі фотозбудження та релаксації добре апроксимується сумою трьох різних експоненціальних функцій з від'ємними показниками степеня.
2. Перенос електрона в РЦ може бути описаний за допомогою двох моделей: дворівнева модель переносу електрона зі змінними в часі параметрами та чотирирівнева модель з постійними коефіцієнтами. Отримані при цьому особливості кінетики переносу електрона співпадають.
3. Залежності швидкості переносу електрона для процесу окиснення у дворівневій системі, найбільший декремент та k_{01} для чотирирівневої системи від інтенсивності світла симбатні. Ці параметри характеризують виключно перенос електрона без врахування структурних змін. Параметри k_{10} та d_3 у цих моделях характеризують процес релаксації РЦ.
4. У процесі окиснення виявлено два ефекти: прискорення відновлення донора при освітленні та сповільнення відновлення після вимкнення збуджуючого світла.
5. РЦ знаходиться у нерівноважному стані при фотозбудженні та на першому етапі процесу релаксації (перші 10 с). Двоекспозиційний протокол показує, що досягнення темноадаптованого стану РЦ відбувається через 500–1000 с (залежно від умов фотозбудження) після повернення до темного рівня поглинання.

Перелік опублікованих праць за темою дисертації

Наукові праці, у яких опубліковано основні результати дисертації:

Публікації у фахових виданнях України

1. **Комаревська Т. В.**, Кшнякіна С. І., Заболотний М. А. Структурні зміни макромолекул фотосинтетичних реакційних центрів Rb. Spharoides. *Наукові записки НаУКМА. Фізико-математичні науки*. 2007. Т. 61. С. 54–57. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).
2. Барабаш Ю. М., Заболотний М. А., Куліш М. П., Гуляс О. В., Дмитренко О. П., **Комаревська Т. В.**, Мартинчук Е. Л. Повільні фотоіндуковані зміни об'єму

- комплексів бактеріальних реакційних центрів. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: фізико-математичні науки.* 2007. №4. С. 290–295. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).
3. Барабаш Ю. М., Заболотний М. А., **Серденко Т. В.**, Кшнякіна С.І. Застосування вейвлет-перетворень до вивчення кінетики електронного транспорту в бактеріальних реакційних центрів. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: фізико-математичні науки.* 2009. №2. С. 219–228. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).
 4. **Серденко Т. В.** Кінетика електронного транспорту в реакційних центрах *Rhodobacter sphaeroides*. *Наукові записки НаУКМА. Фізико-математичні науки.* 2009. Т. 87. С. 51–60.
 5. Barabash Yu. M., Zabolotny M. A., **Serdenko T. V.** The Wavelet Method for the Analysis of Electron-Transfer Kinetics in Bacterial Reaction Centres. *Nanosystems, Nanomaterials, Nanotechnologies.* 2010. Т. 8, № 1. С. 113–128. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).
 6. **Серденко Т. В.**, Барабаш Ю. М., Нокс П. П., Сейфулліна Н. Х., Заболотний М. А. Кінетична модель донорно-акцепторної взаємодії у фотосинтетичних реакційних центрах бактерій. *Nanosystems, Nanomaterials, Nanotechnologies.* 2013. Т.11, № 4. С. 711–727. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).
 7. Барабаш Ю. М., **Серденко Т. В.**, Нокс П. П., Бондаренко О. Ю. Аналіз фотоіндукованих оборотних змін в бактеріальних реакційних центрах при нерівноважних умовах. *Біофізичний вісник.* 2018. Т. 40. С. 40–51. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).
 8. Барабаш Ю. М., **Серденко Т. В.**, Нокс П. П., Голуб О. А. Коп'ютерна методика аналізу структурно-динамічних центрів *Rhodobacter sphaeroides* на основі системи диференціальних рівнянь. *Біофізичний вісник.* 2019. Т. 41. С. 63–73. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).

9. **Serdenko T. V.**, Barabash Y. M., Knox P. P., Seifullina K. N. The kinetic model for slow photoinduced electron transport in the reaction centers of purple bacteria. *Nanoscale Research Letters*. 2016. Vol. 11. P. 286–286. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).
10. Barabash Y. M., **Serdenko T. V.**, Knox P. P., Golub A. A. Use of a system of differential equations to analyze the functioning of a catalytic bio macromolecule under non equilibrium conditions. *Heliyon*. 2019. V. 5. P. e02108. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).

Публікації у зарубіжних спеціалізованих виданнях

11. Barabash Y. M., **Serdenko T. V.**, Knox P. P., Bondarenko O. Yu. Analysis are of the hidden properties of the macromolecular system as an example of the reaction centers of bacteria *Rhodobacter sphaeroides*. *Open journal of analytical and bioanalytical chemistry*. 2019. V. 3. P. 057–064. (Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).

Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

12. **Serdenko T.**, Barabash Y., Zabolotny M., Sokolov N. Wavelet analysis of electron transport in bacterial reaction centers (RC). *International young scientists conference optics and high technology material science (SPO–2008)* : abstract 9th International conference, 23–26 Oct. 2008. Kyiv. P. 228–230. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
13. Барабаш Ю. М., Заболотний М. А., **Серденко Т. В.** Фотосинтетичний реакційний центр пурпурних бактерій як елемент наноелектроніки. *Міжнародна конференція студентів і молодих науковців з теоретичної та експериментальної фізики (ЕВРИКА-2010)* : абстракт міжнародної конференції, 19–21 травня 2010. Львів. С. G14. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
14. Barabash Y., Zabolotny M., **Serdenko T.** The processes of electron transfer in photosynthetic reaction centers as a standard in nanoelectronics. *XIII Міжнародна конференція з фізики і технології тонких плівок і наноструктур (МКФТТПН-XIII)* : абстракт міжнародної конференції, 16–21 травня 2011. Івано-Франківськ. С. 243. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь

у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).

15. Barabash Y. M., **Serdenko T. V.**, Kharkyanen V. N. The model of electron transport in reaction center of *Rhodobacter sphaeroides*. *NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects (NBP-2011)* : abstract 2nd International Conference, 6–9 Oct. 2011. Kyiv, 2011. P. 44. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
16. Andreev E. A., Barabash Y. M., Zabolotny M. A., **Serdenko T. V.** Geometric differences of the reaction center of purple bacteria in the dark and light-excited states. *NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects (NBP-2011)* : abstract 2nd International Conference, 6–9 Oct. 2011. Kyiv, 2011. P. 42. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
17. Барабаш Ю. М., Заболотний М. А., **Серденко Т. В.** Аналіз спектра поглинання фотосинтетичних реакційних центрів пурпурних бактерій при різних режимах фотозбудження. *Міжнародна конференція молодих вчених та аспірантів (ІЕФ–2011)* : абстракт міжнародної конференції, 24–27 травня 2011. Ужгород. С. 53. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
18. Barabash Y.M., Kharkyanen V. M., **Serdenko T. V.** Two-level model of electron transport in reaction center of *Rhodobacter sphaeroides*. *International meeting Clusters and nanostructured materials (CNM–3'2012)* : abstract International meeting, 14–17 Oct. 2012. Uzhgorod. P. 70. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
19. Barabash Y., Martynchuk V., **Serdenko T.**, Zabolotny M. Hardware and software complex for biomacromolecules optical absorption kinetics analysis. *International young scientists conference optics and high technology material science (SPO–2012)* : abstract 13th International conference, 25–28 Oct. 2012. Kyiv. P. 86. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
20. **Serdenko T.**, Barabash Y., Zabolotny M. Two-level model of electron transport in purple bacteria reaction center. *International young scientists conference optics and high technology material science (SPO–2012)* : abstract 13th International conference, 25–28 Oct. 2012. Kyiv. P. 45. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).

21. **Serdenko T. V.**, Barabash Y. M., Zabolotny M. A. Structural changes in the reaction centers films. *International young scientists conference optics and high technology material science (SPO–2013)* : abstract 14th International conference, 24–27 Oct. 2013. Kyiv. P. 163. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
22. **Serdenko T. V.**, Andreyev E. O., Barabash Yu. M., Berezetska N. M. Energy parameters of the kinetics of photoinduced electron transfer in the reaction centers of purple bacteria. *Nanotechnology and Nanomaterials (NANO–2013)* : abstract International research and practice conference, 29 Aug. – 1 Sep. 2013. Bukovel. P. 410. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
23. **Serdenko T. V.**, Barabash Y. M., Zabolotny M. A. Holographic interferometry of electron transport in the RC of purple bacteria with the phase portrait for two detergents. *Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2014)* : abstract International research and practice conference, 27-30 Aug. 2014. Lviv. P. 567. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
24. **Serdenko T. V.**, Barabash Y. M. Two-level system of electron transport and conformational changes in the reaction centers of purple bacteria. *Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2015)* : abstract International research and practice conference, 26-29 Aug. 2015. Lviv. P. 430. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
25. **Serdenko T. V.**, Kochubey S.M., Barabash Y. M. Analysis of chlorophyll fluorescence in wheat leaves by exponential deconvolution. *NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects (NBP-2015)* : abstract 4th International Conference, 1–4 Oct. 2015. Kyiv, 2015. P. 51. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
26. **Serdenko T. V.**, Barabash Y. M., Knox P. P. Analysis of the catalytic biomacromolecule under nonequilibrium conditions by system of differential equations. *NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects (NBP-2017)* : abstract 5th International Conference, 2–5 Oct. 2017. Kharkiv, 2017. P. 92. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
27. Barabash Y. M., **Serdenko T. V.**, Knox P. P. Use of a system of differential equations to analyze the functioning of a catalytic biomacromolecule under nonequilibrium conditions. *Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2017)* :

- abstract International research and practice conference, 23-26 Aug. 2017. Chernivtsi. P. 589. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
28. Barabash Y. M., **Serdenko T. V.**, Knox P. P., Golub A. A. The method of analysis of the structural-dynamic properties of a natural objects using the example of *Rhodobacter sphaeroides* reaction centers. *Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2018)* : abstract International research and practice conference, 27-30 Aug. 2018. Kyiv. P. 40–41. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
29. Barabash Y. M., **Serdenko T. V.**, Knox P. P., Golub A. A. The method to analyze the functioning of the catalytic biomacromolecules under nonequilibrium conditions. *Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2019)* : abstract International research and practice conference, 27-30 Aug. 2019. Lviv. P. 344. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).
30. Barabash Y. M., **Serdenko T. V.**, Knox P. P., Golub A. A. The method of analysis of the structural-dynamic properties of a natural objects using the example of *Rhodobacter sphaeroides* reaction centers. *NANOBIOPHYSICS: Fundamental and Applied Aspects (NBP-2019)* : abstract 6th International Conference, 1–4 Oct. 2019. Kyiv, 2019. P. 82. (Очна форма участі. Особистий внесок здобувача: участь у формулюванні задач дослідження, аналіз літературних даних, обробка, аналіз та інтерпретація результатів, написання тези).

АНОТАЦІЯ

Серденко Т.В. Фотоіндуковані зміни інтегральних показників структури реакційних центрів бактерій *Rhodobacter sphaeroides* при переносі електрона. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. Інститут фізики Національної академії наук України, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України. – Харків, 2021.

Дисертаційну роботу присвячено вивченню особливостей кінетики циклічного переносу електрона в реакційних центрах пурпурових бактерій за допомогою двох моделей: дворівневої моделі зі змінними в часі параметрами та чотирирівневої – з постійними. Виконано неперервне вейвлет-перетворення кінетичних кривих та порівняння результатів обох методів. Розрахована кінетика густини ймовірності знаходження електрона у певному стані та вейвлет-спектр логарифмічної похідної експериментальної кінетики мають екстремуми, часові параметри яких співпадають при різних режимах фотозбудження. Встановлено, що особливості кінетики переносу електрона як на етапі фотозбудження, так і на етапі релаксації

визначаються змінами структури реакційного центра у вигляді ефектів структурної саморегуляції.

Ключові слова: вейвлет-аналіз, електрон-конформаційні перебудови, константи швидкості реакції, перенос електрона, реакційні центри, система балансних рівнянь.

ABSTRACT

Serdenko T.V. **Photoinduced changes in the integral parameters of the structure of the reaction centers of *Rhodobacter sphaeroides* bacteria during electron transport.** – Manuscript.

Thesis for the scientific degree of candidate of science in physics and mathematics, specialty 03.00.02 – Biophysics. – Institute of Physics of NAS of Ukraine; V. N. Karazin Kharkiv National University of MES of Ukraine. – Kharkiv, 2021.

The membrane protein-pigment complexes of photosynthetic isolated reaction centers (RC) *Rhodobacter sphaeroides* are macromolecular systems for studying the physical mechanisms of electron and proton transport in biological structures. The experimental kinetics of cyclic electron transfer in molecular complexes has a multiexponential character with negative values of decrements, for their description a system of balance equations is used. Objectives of the work is to determine the features of the kinetics of cyclic electron transfer in the RC using two models of electron transfer and the connection of such features with space-time motions in the RC.

The RCs of purple bacteria *Rhodobacter sphaeroides* of wild type isolated at the Department of Biophysics of the Lomonosov Moscow State University were used for experiments. Detergent is 0,05% LDAO (lauryldimethylamine oxide). As a buffer for pH stabilization (8,1) 10 mmole sodium phosphate solution with the addition of 0,1% sodium cholate was used.

Special software was developed for the approximation of experimental results in the form of the sum of exponential components for their initial analysis. Experimental curves can be approximated by the sum of three exponential components. The error of comparison of the experimental and approximate curves does not exceed 5%.

Since the achievement of the initial state of absorption after photoexcitation of the RC does not guarantee the return of its structure to the initial state, a two-exposure technique was developed.

A series of experimental curves for different duration of exposure and excitation light intensity were obtained. The experimental curves can be divided into two parts: which corresponds to the process of oxidation of the donor (photoactivation of the RC) and which corresponds to the process of reduction of the electron donor (relaxation of the RC). Each part is approximated by the sum of three exponential components with positive weights parameters and negative decrement values.

According to the two-level model, RCs are in the basic dark-adapted state 0, when the electron is localized on the donor. After absorption of a quantum of light the RC goes into the excited state, and the electron moves to the acceptor – state 1.

The kinetics of photoinduced electron transfer in the RC can be described by differential equations of balance and state.

A continuous wavelet analysis of the logarithmic derivative of electron transfer kinetics was performed. The features of the time dependence of the logarithmic derivative are more expressed than the features of the kinetics itself. The Morlet wavelet was used. The continuous wavelet analysis of electron transfer kinetics in the RC allows to reveal the hidden parameters of the kinetics of electronic transport both in the photoexcitation of the RC (oxidation of the donor) and at the stage of electron recombination (recovery of the RC donor).

For the stationary process of RC electron transfer it is possible to use a system of four differential equations with constant coefficients. In this case state 0 corresponds to the presence of the electron on the donor, states 1, 2 and 3 – the presence of the electron on the RC acceptor.

A gradient method for solving the optimization problem was used. Values of the coefficients of the system of differential equations at which the kinetics of the probability of an electron on the donor (state 0) of the RC coincides with the experimental absorption kinetics of the RC were determined. This kinetics was used for solution of the optimization problem. For a direct problem, when the values of the kinetic constants of the system of differential equations are known, there is a mutually unique correspondence between the constants of the differential equations and the solution of the system, and the system of equations has a unique solution.

State 0 corresponds to the presence of an electron on the RC donor, and the other states mean its absence. Features of the probability kinetics for states 1, 2 corresponds to the 1 s, 3 s, and 60 s and are markers of the wavelet spectrum and dynamics of structural changes in RC. They characterize the motions of molecules as the result of self-regulation in the process of electron transfer during RC photoexcitation.

In the mode of photoexcitation of the RC, the maximum probabilities of states 1, 2 are at 0,06 s and 6 s after the start of photoexcitation. In the RC relaxation mode, the maxima of the state's probability are fixed after 3 s, 47 s, the probability decrease of state 3 to zero occurs after 3 s, state 1 – after 140 s after the end of photoexcitation with a total RC relaxation time of more than 1000 s.

The kinetics of the probability of RC states in the process of photoexcitation and relaxation has pronounced extremes due to the effects of structural self-regulation of the main reaction (electron transfer) as a result of spatial motions of the RC macromolecule. Such extremes are markers of structural changes in the RC.

Keywords: electron transport, electron-conformational changes, rate constants, reaction centers, system of balance equations, wavelet analysis.

