

Інститут фізики Національної академії наук України
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерство освіти і науки України

*Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису*

СЕРДЕНКО ТАІСІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 577.355

ДИСЕРТАЦІЯ

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

Спеціальність 03.00.02 – біофізика
(фізико-математичні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня
кандидата фізико-математичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Т.В. Серденко

Науковий керівник: Барабаш Юрій Маркович,
кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник.

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Серденко Т.В. **Фотоіндуковані зміни інтегральних показників структури реакційних центрів бактерій *Rhodobacter sphaeroides* при переносі електрона.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

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.

Мембранні білково-пігментні комплекси фотосинтетичних ізольованих реакційних центрів (РЦ) *Rhodobacter sphaeroides* є макромолекулярними системами, які використовуються для вивчення фізичних механізмів транспорту електронів і протонів в біологічних структурах, ролі молекулярної динаміки та структурної саморегуляції, що супроводжують ці процеси. Експериментальна кінетика циклічного переносу електрона в молекулярних комплексах має мультиекспоненціальний характер з негативними значеннями експоненціальних показників, параметри яких взаємопов'язані, для опису такої кінетики використовується система балансних рівнянь.

Метою роботи є визначення особливостей кінетики циклічного переносу електрона в РЦ з використанням двох моделей електронного переносу і встановлення зв'язку таких особливостей з просторово-часовими рухами в РЦ.

Спектр поглинання РЦ характеризується зсувом амплітуди піку 865 нм при освітленні збуджуючим світлом, що відповідає поглинанню димера бактеріохлорофілу. Для вимірювання абсорбційних спектрів РЦ використовувався двопроменевий програмно-апаратний комплекс. Особливістю даного комплексу є використання зондувального світла низької інтенсивності, модульованого частотою 5 кГц, а також застосування додаткового оптичного каналу для збуджуючого світла різної інтенсивності.

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. 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 двооекспозиційну 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 полягає у обробці експериментальної функції за допомогою вейвлетів – локальних у часі функцій з нормованою на одиницю площею. Спектр неперервного вейвлет-перетворення 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.

Мультиекспоненціальний характер переносу електрона РЦ відповідає двом моделям кінетики переносу електрона при фотозбудженні РЦ. Перша модель – система з двох балансних рівнянь зі змінними в часі параметрами, яка використовується, коли аналізований процес є нестаціонарним, 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. Було проведено аналіз та порівняння результатів обох методів.

Отримано серії експериментальних кривих для різної тривалості експозиції та інтенсивності збуджуючого світла. Експериментальні криві можна розділити на дві частини: яка відповідає процесу окиснення донора (фотоактивація РЦ) та яка відповідає процесу відновлення донора електронів (релаксація РЦ). Кожна частина гарно апроксимується сумою трьох експоненціальних складових з додатними ваговими коефіцієнтами та від'ємними значеннями декрементів.

Згідно дворівневої моделі РЦ знаходяться в основному темноадаптованому стані 0, коли електрон локалізований на донорі. При поглинанні кванта світла, РЦ переходить в збуджений стан, а електрон переміщується на акцептор – стан 1.

Кінетика фотоіндукованого переносу електрона в РЦ може бути описана диференціальними рівняннями балансу і стану. Кінетика переносу електрона в такій моделі задається постійним коефіцієнтом швидкості прямого і змінним коефіцієнтом швидкості зворотного переносу електрона на етапі освітлення РЦ, та коефіцієнтом зворотного переносу з акцептора на донор на етапі релаксації РЦ після припинення фотозбудження.

Було проведено неперервний вейвлет-аналіз логарифмічної похідної кінетики переносу електрона, так як особливості часової залежності логарифмічної похідної більш виражені, ніж особливості самої кінетики. Був використаний вейвлет Morlet. Неперервне вейвлет-перетворення кінетики переносу електрона в РЦ дозволяє виявити особливості кінетики електронного транспорту як при фотозбудженні РЦ (окиснення донора), так і на етапі рекомбінації електрона (відновлення донора РЦ) після припинення дії збуджуючого світла. Наявність таких особливостей зумовлена тим, що у пігмент-білковому комплексі РЦ структура молекул при наявності або 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.

Розв'язок системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами виражається у вигляді суми різних експоненціальних функцій, якщо 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.

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.

Наявність максимумів густини ймовірності станів підсистем РЦ 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.

Спостерігається відповідність особливостей двох моделей переносу електрона для всіх параметрів фотозбудження РЦ. Наявність особливостей

обумовлена тим, що в процесі циклічного переносу електрона відбувається поляризація пігмент-білкового комплексу РЦ. Змінюються локальні електричні поля молекул та бар'єри між різними орієнтаціями диполів. Модель поляризації РЦ можна уявити як складну суперпозицію експоненціальних функцій з різними константами реакції, які представляють чотири стани РЦ. Стан 0 відповідає знаходженню електрона на донорі РЦ, а решта станів – його відсутності.

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 переносу електрону при фотозбудженні РЦ.

Темноадаптований стан РЦ після фотозбудження формувалася 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.

Для моделі переносу електрона РЦ з чотирма станами виконувалась оптимізаційна процедура ідентифікації системи трьох простих диференціальних рівнянь з рівнянням стану, визначались показники швидкостей реакції для кожної експериментальної кривої переносу електрона. Використовуючи коефіцієнти диференціальних рівнянь, знаходили їх розв'язок. Ці коефіцієнти показують часову залежність густини ймовірності знаходження РЦ в різних електронно-конформаційних станах або ймовірність знаходження електрона в різних станах РЦ. Аналізуючи константи швидкості прямого та оберненого переносу електрона, можна зробити припущення, 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.

Аналізуючи кінетику відновлення, можна відмітити: якщо густина ймовірності для певного 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 окислення, в процесі відновлення теж можемо виділити два 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 суттєво відрізняються. Це говорить про те, що система РЦ за короткий час може потрапити в стани, які суттєво 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.

У режимі фотозбудження РЦ максимумами ймовірності станів 1, 2 знаходяться на 0,06 с та 6 с після початку фотозбудження. У режимі релаксації РЦ максимумами 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.

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.

Ключові слова: вейвлет-аналіз, експонеціальні складові кінетики, електронно-конформаційні стани, кінетика переносу електрона, константи швидкості реакції, модель переносу електрона, неперервне вейвлет перетворення, приховані параметри, реакційні центри *Rhodobacter sphaeroides*, система диференціальних рівнянь, структурна саморегуляція.

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 role of molecular dynamics. 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. This technique consists in the application of two

pulses of exciting light with different intervals between them and the analysis of the electron transfer kinetics during the relaxation of the RC after the second pulse using decomposition into exponential components. After maximum photoexcitation (intensity 7,2 mW/cm², duration 100 s), the RC system requires a minimum of 500 s to return to the dark-adapted state, so the interval between measurements is 1500 s after reaching the initial value of absorption.

Any experimental dependence can be both stationary and non-stationary. In the case of stationary nature, its analysis can be performed using a system of differential equations with constant coefficients, and in the case of non-stationary nature – using wavelet analysis. Continuous wavelet transform is the processing of the experimental function using wavelets – local time functions with a normalized area per unit. This method shows the coincidence of the wavelet with the kinetic curve at a particular point in time.

Multiexponential character of RC electron transfer corresponds to two models of electron transfer kinetics during photoexcitation of RC. The first model is a system of two balance equations with time-varying parameters, which is used when the analyzed process is nonstationary, the second model is a system of four balance equations with constant coefficients of electron transfer kinetics, which is used to describe a stationary process. These models describe various possible mechanisms of electron transfer. The analysis and comparison of the results of both methods were performed.

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. The electron transfer kinetics in such a model is given by a constant direct velocity coefficient and a variable electron reverse transfer rate at the RC illumination stage, and a reverse transfer coefficient from the acceptor to the donor at the RC relaxation stage after photoexcitation.

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). It means that the pigment-protein complex of the RC the structure of molecules in the presence or absence of an electron differs significantly. In the process of electronic transport, a polarized medium is created in which a self-consistent field equivalent to a potential electron well arises. There are electron-conformational states separated from the initial state by an energy barrier. Such states can be characterized by the probability density of the electron in each state.

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.

The solution of a system of differential equations with constant coefficients is expressed as the sum of different exponential functions, when the matrix of coefficients does not have multiples of eigenvalues. If the experimental kinetics of the main reaction can be described as the sum of different exponential functions, it

corresponds to the system of differential equations, and each equation characterizes the independent state of the object.

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.

The presence of maximum probabilities of states of RC subsystems allows us to make conclusion about the presence of opposite processes in the kinetics of RC during photoexcitation and relaxation. Such processes may be the result of the structural changes in the RC during photostimulated electron transfer.

There is a correspondence between the features of the two models of electron transfer for all parameters of RC photoexcitation. The process of electron transfer is cyclic, there is a polarization of the pigment-protein complex of the RC. The local electric fields of molecules and the barriers between different dipole orientations change. The RC polarization model can be represented as a complex superposition of exponential functions with different reaction constants representing the four RC states. 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.

The dark-adapted state of the RC after photoexcitation was formed by additional exposure of the RC in the dark for 1500 s after reaching the initial value of absorption. With increasing intensity the recovery of absorption is slower. This

fact indicates the influence of the effects of RC polarization on the processes of electronic internal molecular electron transport.

The model of RC electron transfer with four states was used, performing the optimization procedure of identification of the system of three simple differential equations with the equation of state, the rate constants for each experimental electron transfer curve were determined. Using the coefficients of the differential equations their solution can be found. They showed the time dependence of the probability of finding the RC in different electron-conformational states or the probability of presence of the electron in different states of the RC. Analyzing the rate constants of direct and inverse electron transfer, we can assume that two mechanisms work in the process of electron transfer. One mechanism is aimed at increasing the rate of return of the electron. Another mechanism is aimed at simultaneously reducing the speed of return, but its effect is manifested after turning off the light.

Analyzing the kinetics of relaxation, we can note: if the probability density for a certain state at the time of turning off the light is greatest, then the constants of inverse transitions from this state also have the largest numerical values. In this case, in addition to returning to state 0 from the 1st, 2nd and 3rd states, transitions between states 1, 2, 3 remain possible. By analogy with the oxidation process, in the reduction process we can also distinguish two processes and assume that the first characterizes only electronic transport without changing the structure of the RC, which corresponds to the relaxation of the population of the state that was most populated at the time of turning off the light, and the second reflects the kinetics of structural changes. During oxidation and reduction, we observe the relaxation processes of electronic transport, the decrements of which are very different. This suggests that the RC system in a short time can get into states that are very different from each other in the recovery time, which characterizes the structure of the RC. That is, the processes of transition from one state to another can occur by the nature of anomalous diffusion.

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 states 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.

Key words: continuous wavelet transform, electron-conformational states, electron transport, electron transport model, exponential components of kinetics, hidden parameters, rate constants, *Rhodobacter sphaeroides* reaction centers, structural self-regulation, system of differential equations, wavelet analysis.

Список публікацій здобувача за темою 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).

Публікації у виданнях наукометричних баз SCOPUS

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).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	24
ВСТУП.....	25
РОЗДІЛ 1. РЕАКЦІЙНІ ЦЕНТРИ ПУРПУРНИХ БАКТЕРІЙ <i>RHODOBACTER SPHAEROIDES</i>	31
1.1. Особливості бактеріального фотосинтезу.....	31
1.2. Структура реакційних центрів пурпурних бактерій виду <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	33
1.3. Спектральні властивості реакційних центрів.....	36
1.4. Світлоіндукований електронний перенос електрона в реакційних центрах.....	38
1.5. Зв'язок між переносом електрона та конформаційною динамікою в реакційних центрах.....	39
1.6. Математичне моделювання процесів переносу електрона в реакційних центрах.....	49
Висновки до розділу 1.....	52
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	53
2.1. Виділення реакційних центрів.....	53
2.2. Особливості спектроскопії біологічних макромолекул.....	54
2.3. Програмно-апаратний комплекс.....	64
2.4. Апроксимація експериментальних результатів експоненціальними функціями.....	65
2.5. Вейвлет-аналіз.....	71
Висновки до розділу 2.....	77
РОЗДІЛ 3. ВЕЙВЛЕТ-АНАЛІЗ ТА СИСТЕМИ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНИХ РІВНЯНЬ ЯК МОДЕЛІ ДЛЯ ОПИСУ ЦМКЛІЧНОГО ПЕРЕНОСУ ЕЛЕКТРОНА В РЕАКЦІЙНИХ ЦЕНТРАХ.....	79
3.1. Кінетика РЦ при різних режимах фотозбудження.....	79
3.2. Результати апроксимації експериментальних результатів експоненціальними функціями.....	81

3.3. Аналіз дворівневої системи переносу електрона в РЦ.....	85
3.4. Результати вейвлет-аналізу кінетики процесу релаксації РЦ.....	91
3.5. Чотирирівнева система переносу електрона в РЦ.....	96
3.6. Порівняльний аналіз результатів вейвлет-аналізу та чотирирівневої системи кінетики переносу електрона в РЦ.....	105
Висновки до розділу 3.....	109
РОЗДІЛ 4. ЧОТИРИРІВНЕВА МОДЕЛЬ ПОВІЛЬНОГО ПЕРЕНОСУ ЕЛЕКТРОНА В РЦ.....	110
4.1. Чотирирівнева модель переносу електрона при сталій експозиції та змінній інтенсивності фотоактивації РЦ.....	110
4.2. Чотирирівнева модель переносу електрона при сталій інтенсивності та змінній експозиції фотоактивації РЦ.....	121
4.3. Аналіз кінетики переносу електрона при різних режимах фотозбудження.....	124
4.4. Дослідження кінетики фотостимульованого переносу електрона в РЦ з використанням двох послідовних імпульсів.....	128
Висновки до розділу 4.....	130
ВИСНОВКИ.....	132
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	134
ДОДАТОК А. Список публікацій здобувача за темою дисертації	150

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ПЕ – перенос електрона

НВП – неперервне вейвлет-перетворення

РЦ – реакційний центр

A_i – вагова складова експоненціальної компоненти основної реакції

B_A – первинний акцептор електронів (бактеріохлорофіл)

d_i – показник експоненціальної складової (декремент) основної реакції

dk_{ij} – програмна зміна значення постійної швидкості реакції

H_A – первинний акцептор електронів (бактеріофеофітин)

k_{ij} – константи швидкості кінетичної реакції в рівняннях балансу

LDAO – лаурилдиметиламіноксид (детергент)

P (BChl) – донор електронів (димер бактеріохлорофіла)

T_{exp} – час експозиції реакційного центру

Q_A, Q_B – акцептори електронів (хінони)

X_i – часова залежність густини ймовірності знаходження електрона (заселеності) для конформаційних станів реакційного центру

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. У фотосинтетичних реакційних центрах (РЦ) відбувається найважливіший етап фотосинтезу – трансмембранний перенос електрона та протона, в результаті якого утворюється трансмембранний потенціал. Квантова ефективність перетворення світла на початкових стадіях фотосинтезу досягає 100%. Висока ефективність трансформації світлової енергії без пошкодження молекул, які беруть участь у цьому процесі, без небажаних побічних реакцій досягається шляхом тонкого регулювання властивостей кофакторів переносу внаслідок їх взаємодії з білками оточення.

Вивчення РЦ має не лише фундаментальний характер, а й сприяє вирішенню однієї з найактуальніших сучасних проблем – з'ясування ролі структури білка у ефективному перетворенні енергії. На даному етапі розвитку науки не існує штучних систем, які можуть зрівнятися з РЦ по ефективності. Перші кроки у ланцюгу перетворень сонячної енергії здійснюють фотосинтетичні організми, які переводять енергію поглинутих світлових квантів в енергію хімічних зв'язків органічних молекул, які вони синтезують. Ключову роль у даних процесах відіграють пігмент-білкові комплекси фотосинтетичних реакційних центрів, вбудовані у фотосинтетичні мембрани.

На сьогодні відомо існування декількох типів РЦ, які відрізняються природою та спектральними властивостями первинного донора електрона і природою вторинного донора та акцептора. Вперше такий комплекс був виділений на початку 70-х років минулого століття з пурпурних фотосинтетичних бактерій виду *Rhodobacter Sphaeroides*.

Загальна схема роботи фотосинтезуючого реакційного центру відома, досягнуто значних успіхів в області кристалізації та рентгеноструктурного аналізу фотосинтетичних білків, проте деякі її особливості потребують більш детального вивчення. Особлива увага на даному етапі приділяється дослідженню впливу білка РЦ і його конформаційних змін на ефективність циклічного переносу заряду.

Система первинних процесів фотосинтезу має надзвичайно важливу властивість, яка відрізняє її від інших біологічних систем, вона активується світлом і її можна тестувати за допомогою дельта-подібних (лазерний спалах) чи прямокутних (постійне світло) імпульсів. При дослідженні такої системи ефективними є спектральні методи. Важливим є й те, що з хроматофорів фотосинтезуючих бактерій можна за допомогою біохімічних методів виділити РЦ як окрему частину, яка зберігає здатність до поглинання світла та фотоіндукованого розділення зарядів протягом тривалого часу. Вивчення структури, характеру дії РЦ за допомогою біохімічних та біофізичних методів дало змогу одержати детальну інформацію про функціонування центрів, їхні структурні та динамічні характеристики.

Актуальність теми. Протягом багатьох років вивчення процесів фотосинтезу було та залишається актуальним питанням. Найважливішим питанням є вивчення процесів саморегуляції переносу електрона у РЦ з супутніми структурними змінами, які важко визначаються в експерименті. Це збільшує інтерес до розвитку моделей, математичних методів обробки експериментальних результатів.

У даний 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, це 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 циклічним 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 нанокмплесів 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 (різні значення часу експозиції та інтенсивності збуджувального світла) та релаксації після фотоактивації.
2. Розкласти кінетику переносу електрона на суму експоненціальних функцій та визначити їх параметри при різних режимах фотозбудження.

3. Проаналізувати моделі переносу електрона та ідентифікувати їх кінетичні параметри. Зробити порівняльний аналіз таких моделей.
4. Встановити приховані особливості кінетики електрон-конформаційних станів РЦ пурпурових бактерій при різних режимах фотозбудження.

Об'єкт дослідження – фотостимульовані ізолювані 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 [1-11] та 19 тез доповідей на міжнародних та вітчизняних конференціях [12-30].

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 «ЕВРИКА–2010» (2010, Львів); XIII Міжнародна конференція з фізики та технології тонких плівок та наноструктур (*МКФТТПН-XIII*) (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.

РОЗДІЛ 1. РЕАКЦІЙНІ ЦЕНТРИ ПУРПУРНИХ БАКТЕРІЙ

RHODOBACTER SPHAEROIDES

1.1. Особливості бактеріального фотосинтезу

Фотосинтез – один з найважливіших процесів у живій природі. За рахунок фотосинтезу рослини засвоюють енергію сонячного світла, синтезують органічні сполуки, які використовуються у якості продуктів харчування тваринами, і наповнюють атмосферу киснем, забезпечуючи умови для зберігання та розвитку життя на землі. Фотосинтетичні системи – високоорганізовані системи, яким властива саморегуляція. Важливими особливостями роботи фотосинтетичного апарату є висока ефективність перетворення енергії сонячного світла, уміння фотосинтетичних систем адаптуватись до мінливих умов зовнішнього середовища та захищати себе від різних несприятливих впливів.

Фотосинтез – процес утворення органічної речовини з вуглекислого газу і води під дією світла за участі фотосинтетичних пігментів (хлорофіл у рослин, бактеріохлорофіл та бактеріородопсин у бактерій). У наш час під фотосинтезом частіше розуміють фотоавтотрофну функцію – сукупність процесів поглинання, перетворення та використання енергії квантів світла в різних ендергонічних реакціях, в тому числі перетворення вуглекислого газу в органічні речовини.

Фотосинтез властивий не лише зеленим рослинам, а й нижчим еукаріотичним формам: водорості, евгленові, перединей та діатомей. Здатність до фотосинтезу мають і деякі прокаріоти: ціанобактерії (синьо-зелені водорості), зелені сірчані бактерії, які живуть в гірських озерах, та пурпурні сірчані бактерії, які населяють сірчані джерела. Таким чином, еволюція фотосинтезу включає перехід від анаеробних бактеріальних організмів, які в якості донора використовують різні сполуки сірки, азоту, найпростіші органічні сполуки, до ціанобактерій, водоростей та вищих рослин, які перейшли до використання H_2O у якості джерела електронів [132, 133].

Фотосинтезуючі організми можна розділити на два класи: ті, які утворюють кисень, і ті, які його не утворюють. Донори електрона у різних фотосинтезуючих організмів різні. Зелені частини вищих рослин та ціанобактерії належать до продуцентів кисню. Для відновлення двоокису вуглецю вони використовують воду в якості донора водню, при цьому виділяється молекулярний кисень.

Фотосинтезуючі бактерії (крім ціанобактерій) не утворюють кисень. Багато фотосинтезуючих бактерій є облигатними анаеробами, тобто взагалі не переносять кисню. У якості донорів електрона деякі фото синтезуючі бактерії використовують неорганічні сполуки [31].

Світло у якості первинного джерела енергії можуть використовувати три головні групи бактерій – зелені та пурпурні сірчані бактерії (*Chlorobiaceae* та *Chromatiaceae*) і пурпурні несірчані бактерії (*Rhodospirillaceae*). Бактерії, здатні до фотосинтезу, мають клітинну стінку, під якою розміщена клітинна мембрана, яка утворює ламелярні мембранні структури або везикули всередині клітини. Ці структури несуть фотосинтетичний апарат, який відрізняється від відповідного апарату хлоропластів рослин. Біохімія фотосинтетичних процесів у бактерій та рослин також різна. Препарати фотосинтетичних мембран можна отримати із зруйнованих клітин у вигляді частинок хроматофорів, але, як правило, інтактні клітини (крім зелених сірчанних бактерій) не містять таких дискретних структур. Зелені сірчані бактерії, наприклад *Chlorobium*, відрізняються від інших фотосинтетичних бактерій тим, що вони позбавлені внутрішніх мембран. Вони мають хлоросоми, приєднані до плазматичної мембрани. Хлоросоми виконують роль функціонально організованих світлозбираючих антен для РЦ, які локалізовані в плазматичній мембрані.

Бактеріальний фотосинтез відрізняється від фотосинтезу рослин. По-перше, бактерії єдині серед фотосинтезуючих організмів не здатні використовувати воду у якості кінцевого відновника. Вони використовують інші відновники – органічні молекули або неорганічні сполуки сірки, тому,

відповідно, бактерії не виділяють кисень. По-друге, фіксація та метаболізм вуглецю у бактерій відбувається не в циклі Кальвіна-Бенсона, а іншим шляхом. По-третє, апарат первинного поглинання світла і перенесення електронів у них відрізняється від рослинних клітин, так у них протікає тільки одна світлова реакція, але вона подібна до реакції у фотосистемі I рослин [112, 129].

Механізм поглинання світла у бактерій дуже схожий з відповідним механізмом у рослин, хоча фотосинтетичні одиниці у них менші. Так само як у хлоропластів, світло поглинається пігментами антен, енергія збудження швидко передається на реакційний центр і використовується у якості рушійної сили в транспорті електронів.

Головним фотоактивним пігментом є бактеріохлорофіл (B_A), у більшості випадків бактеріохлорофіл *a*, а в деяких випадках, наприклад, у бактерій *Rhodopseudomonas sphaeroides* – бактеріохлорофіл *b*.

Антенa, яка збирає світло, передає енергію збудження на бактеріохлорофіл реакційного центру. Бактеріальний РЦ містить три поліпептиди (з молекулярною масою 28000, 32000 та 35000), які асоційовані з чотирма молекулами бактеріохлорофілу, дві молекули бакретіофеофетина, одну молекулу убіхінона і негемове залізо. У невеликій кількості в РЦ присутні каротиноїди, які входять до складу світлозбираючого комплексу антени.

У додатку Б наведено групи фотосинтезуючих бактерій із зазначенням їхніх світлозбираючих пігментів і молекул, які відіграють роль реакційних центрів [31].

1.2. Структура реакційних центрів пурпурних бактерій виду

Rhodobacter Sphaeroides

Вперше про РЦ згадано Емерсоном та Арнольдом у 1932 році. У 1952 році Дюйзенс навів спектральний доказ його існування у бактерій [32]. На початку 70-х років минулого століття РЦ були виділені з пурпурних

фотосинтетичних бактерій виду *Rhodobacter (Rb.) Sphaeroides* [33, 34]. Першою білковою мембраною, структуру якої було визначено з роздільною здатністю 2.9 Å, а пізніше з роздільною здатністю 2.3 Å, був реакційний центр *Rhodobacter viridis*, за що J. Deisenhofer, R. Huber, H. Michel у 1988 році одержали Нобелівську премію з хімії [35, 36]. Пізніше було вивчено кристал реакційного центру *Rhodobacter sphaeroides* з роздільною здатністю 2.8 Å [37-39]. Максимальна роздільна здатність, з якою було досліджено структуру РЦ виду *Rhodobacter sphaeroides* – 1.87 Å у нейтральному стані та 2.07 Å у стані з розділеними зарядами [40]. Подальше детальне вивчення РЦ дало змогу отримати інформацію про принципи функціонування РЦ, їхні структурні та динамічні характеристики [41-45].

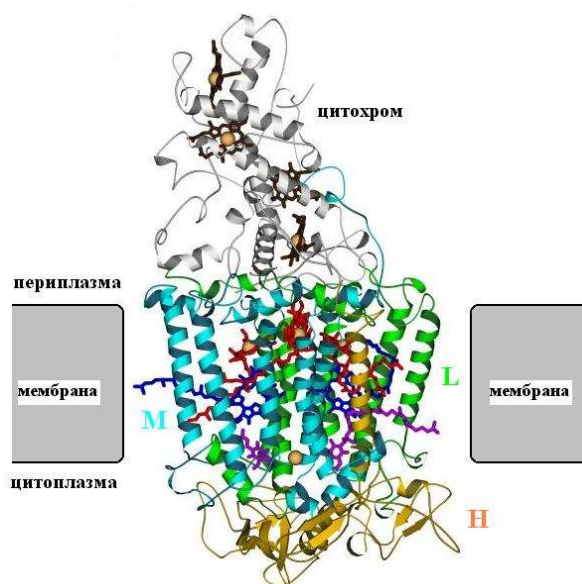


Рис. 1.1. Фотосинтетичний реакційний центр. Мембрана показана схематично. Трансмембранні субодиниці виділені кольорами: L – зеленим, M – блакитним, H – жовтим (має лише одну трансмембранну спіраль), цитохром – сірим. Субодиниці L і M зв’язують фотосинтетичні пігменти – хлорофіли (червоні з жовтими іонами магнію у центрі), феофітини (темно-сині) і два хінони (виділені фіолетовим кольором). Цитохром, що знаходиться поза мембраною, містить чотири гема (чорно-сірі, з оранжевими йонами заліза всередині). Рис. взято з [38] з деякими змінами.

Rhodobacter Sphaeroides, пурпурні несірчані бактерії, є найкраще вивченими фотосинтетичними організмами, їх фотосинтетичний апарат став еталонною моделлю у вивченні первинних процесів фотосинтезу. РЦ є ключовим білком у механізмі фотосинтезу, при прямому збудженні світлом або при трансфері енергії від антени створюється синглетний стан первинного донора електронів. Це призводить до запуску подальших процесів електронного транспорту, пов'язаних з накачуванням протонів через трансдукційну мембрану. Результуючий електрохімічний потенціал протонів призводить до синтезу АТФ, сприяє перетворенню електромагнітної енергії у хімічну [46-47].

Розглянемо РЦ на прикладі добре вивчених препаратів *Rhodobacter sphaeroides*, штам R-26. Він містить три білкові субодиниці з молекулярною масою 19, 22 та $28 \cdot 10^3$ (*L* – легка, *M* – середня, *H* – важка відповідно). РЦ складається з чотирьох молекул бактеріохлорофіла (B_A), двох молекул бакретіофеофетина (H_A), однієї чи двох молекул убіхінону (*Q*), атома заліза (*Fe*) та молекули каротиноїду (рис. 1.1). Білок РЦ гідрофобний, без детергенту він нерозчинний у воді. Детергент переводить РЦ у водний розчин, поверхня білка, яку він покриває, стає гідрофільною. Слабка розчинність реакційних центрів створює труднощі у визначенні амінокислотної послідовності традиційними методами, проте у 80-х роках за допомогою ДНК-техніки була розшифрована послідовність аміно-кислотних залишків для трьох субодиниць [48-50].

L та *M* субодиниці комплексу містять по п'ять трансмембранних α -спіралей (*A*, *B*, *C*, *D*, *E*), які розміщуються псевдо-симетрично один відносно одного відносно осі двосторонньої симетрії, з якими нековалентно пов'язані кофактори РЦ. Незважаючи на приблизну симетричність двох віток, швидкість процесу переносу електрона вздовж гілки *A*, як мінімум, у 20 разів більша, ніж вздовж вітки *B* [51-53]. До кінця залишається незрозуміло, звідки з'являється така різниця. Можливо, це пов'язано з невеликими відхиленнями обох білкових субодиниць відносно їх осі симетрії. У роботі [54] методами

фемтосекундної нестационарної абсорбційної спектроскопії було встановлено, що розділення зарядів вздовж гілки *B* відбувається лише у спектрально вузькому вікні довжин хвиль збудження. За допомогою сучасних технологій було створено комплекси мутованих РЦ, в яких рух електрона вздовж гілки *B* відбувається з високою ефективністю [55-59].

1.3. Спектральні властивості реакційних центрів

Природа первинного фотохімічного акту була з'ясована в роботах Л. Н. М. Дюйзенса, який помітив невеликі оборотні зміни поглинання (ΔA) при освітленні хроматофорів *Rhodospirillum rubrum*. Ці зміни характеризувались вицвітанням смуги поглинання при 870 нм та зсувом в синю область смуги при 800 нм. Подібні незначні (до 2%) зміни поглинання були отримані і при хімічному окисненні РЦ. Це вказує на те, що під дією світла окислюється невелика частка активного B_A РЦ, яка складає всього 2% від загального вмісту B_A і є реакційноздатним пігментом P_{870} . Фотоокислення P_{870} відбувається з квантовою ефективністю, яка досягає 100%. На рис. 1.2. А наведено спектр поглинання препаратів РЦ безкаротиноїдного штаму бактерій *R. Sphaeroides*, R-26, на якому позначені максимуми поглинання, що належать пігментам B_A та H_A . При поглинанні світла відбувається вицвітання смуг при 870 нм, 600 нм і зсув у синю область смуги 800 нм, які належать P_{870} . З'являється нова смуга поглинання на 1250 нм.

На рис. 1.2. Б наведено диференціальні спектри поглинання (фотозбуджений стан мінус темноадаптований стан) при утворення P^+ з додатними максимумами на 435 нм та 1250 нм та від'ємними максимумами, що відповідають вицвітанням смуг поглинання при 600 нм та 870 нм, а також зсуву та вицвітанням смуги при 800 нм. Всі ці зміни характерні для утворення катіон-радикала димера фото активного B_A^+ . Вицвітання смуг при 545 нм та 760 нм свідчить про перетворення Бфф, а додатній максимум при 670 нм – про появу аніон-радикала H_A^* . Збільшення поглинання є характерним також і для аніон-радикала B_A . Вицвітання смуги при 275 нм зумовлене утворенням

відновленого убіхінону і утворенням убісеміхінону. Після виключення світла ці спектральні зміни зникають, це викликано рекомбінацією між P^+ та Q^- .

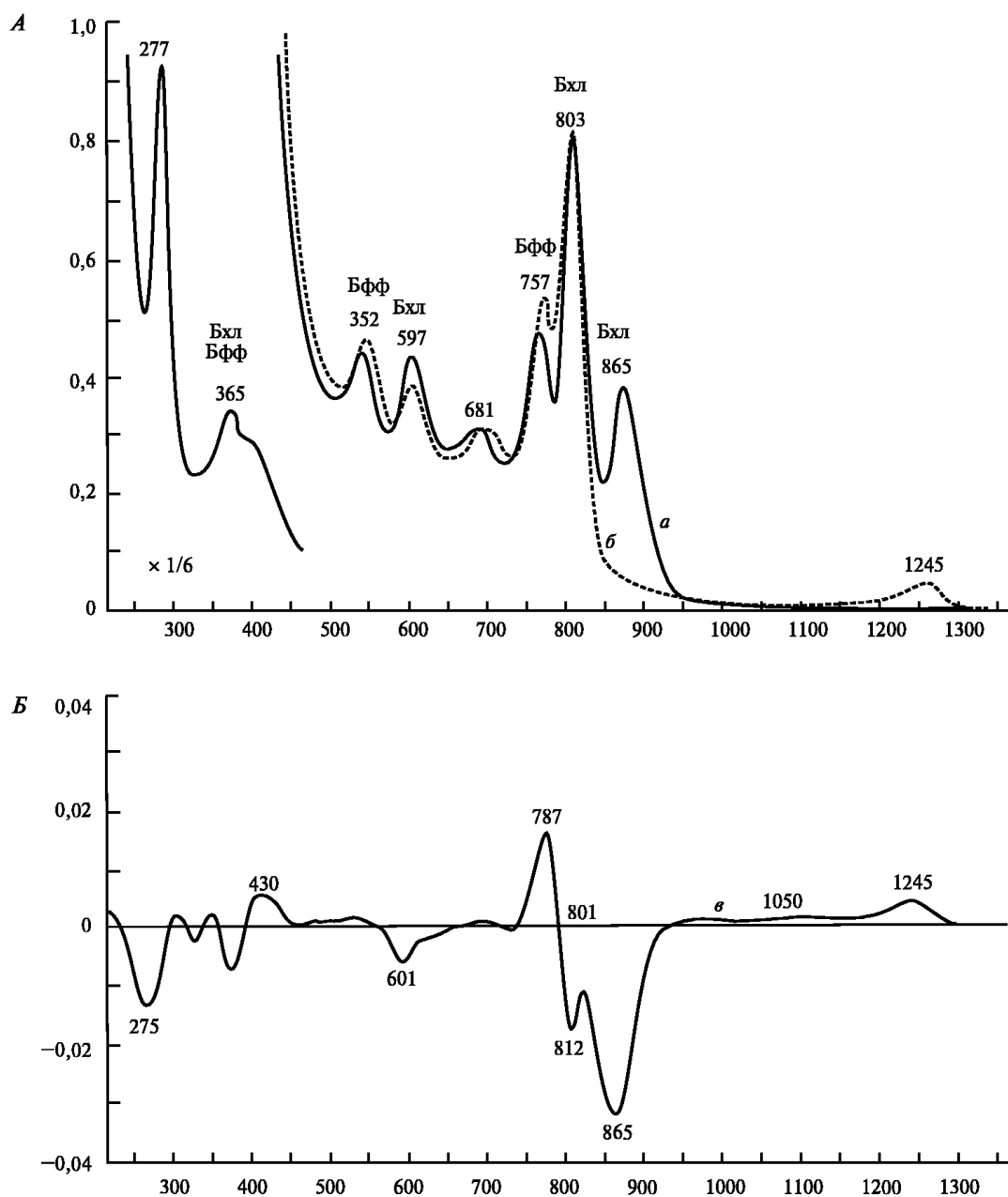


Рис. 1.2. Спектр поглинання РЦ (А) та диференціальний спектр поглинання (Б): *a* – спектр РЦ в темноадаптованому стані, *б* – спектр фотозбуджених РЦ, *в* – різниця між *a* і *б*. (Смути спектра поглинання (А) в діапазоні довжин хвиль коротше 450 нм мають дуже велику амплітуду, тому на малюнку показані з шестикратним зменшенням) [60].

1.4. Світлоіндукований електронний транспорт в реакційних центрах

Кінетика електронного транспорту в РЦ пурпурних бактерій була детально розшифрована за допомогою методів наносекундної та пікосекундної абсорбційної та флуоресцентної спектроскопії. Збудження РЦ лазерним імпульсом індукує характерні адсорбційні зміни, часи наростання та зникнення яких відповідає переносу електрона між окремими компонентами РЦ [135]. На рис. 1.3 показано енергетичну схему переносу електрона через кофактори та характерні часи для таких переходів.

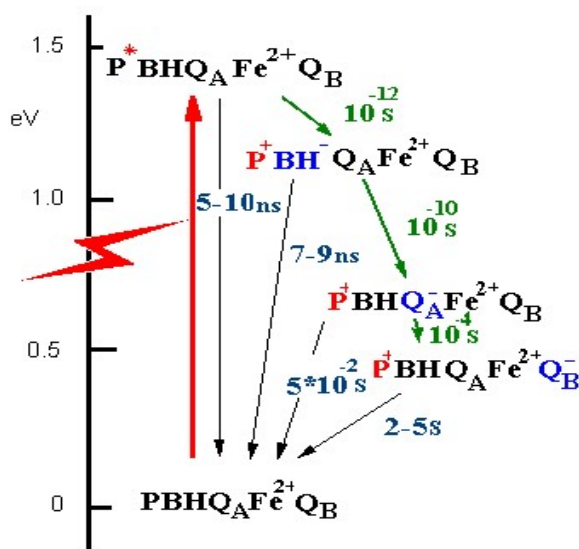


Рис. 1.3. Енергетична схема фоторозділення і переносу заряду у РЦ виду *Rb. Sphaeroides*. Константи характерних швидкостей переносу електрона на кофакторах дані при кімнатній температурі [61].

Поглинання світла фотохімічно активним пігментом P переводить його на синглетний збуджений рівень $^1P^*$, з якого відбувається відривання електрона. Цей процес завершується менш ніж за 10 пс і супроводжується вицвітанням смуги P (870 нм), вицвітанням смуг H_A (545 нм, 760 нм) і появою смуги H_A (670 нм). У результаті збудження світловим імпульсом в РЦ утворюється стан, який включає радикальну пару P^+ та H_A^* – з розділеними зарядами та локалізацією електрона на H_A . Застосування субпікосекундних

(0,7 пс) спалахів показало, що час наростання змін поглинання H_A при 545 нм та 670 нм складає близько 4 пс.

На швидкість рекомбінації електрона впливає ряд чинників: хімічний склад РЦ, структура та динаміка пігментів, білкове оточення, окислювально-відновлювальні умови, рН середовища, температура, характер освітлення [62, 63, 131, 134].

Передача електрона з одного редокс-кофактора на інший здійснюється шляхом квантового тунельного переходу [64].

1.5. Зв'язок між переносом електрона та конформаційною динамікою РЦ

Розглянемо теорії, які описують електронний транспорт [65-68].

Білки характеризуються складною конформаційною динамікою. Великий діапазон внутрішніх рухів, яких вони зазнають за фізіологічних температур, пов'язаний з широким енергетичним профілем, який містить надзвичайно велику кількість мінімумів, які відповідають різним конформаційним підстанам [69-71]. Здатність білка до виконання структурних флуктуацій серед різних конформаційних підстанів виявляється тісно пов'язана з його функціями [72-73].

Фотосинтетичний РЦ пурпурних бактерій є парадигматичною системою у вивченні зв'язку між процесами електронного транспорту та конформаційною динамікою білків [130]. Дуже багато експериментальних даних свідчить про те, що електричне поле, яке створюється світлоіндукованим розділенням зарядів в РЦ, викликає суттєві конформаційні зміни, які, в свою чергу, впливають на кінетику електронного транспорту [74-77]. Основна стратегія, щоб розібратись у зв'язку між електронним транспортом та білковими рухами, полягає у модуляції конформаційної швидкості релаксації та у взаємоперетворенні конформаційних підстанів шляхом зміни температури. Фундаментальні дані були отримані шляхом порівняння кінетики електронного транспорту в заморожених при криогенних

температурах РЦ у темряві та при освітленні [78]. Ці дослідження показали, що при низьких температурах РЦ можуть затримуватись у темноадаптованій та світлоадаптованій конформаціях, які суттєво відрізняються стабільністю стану первинного розділення зарядів $P^+Q_A^-$. Кожна конформація характеризується великим розподілом підстанів, що впливає з сильно розподіленої, неекспоненційної кінетики рекомбінації $P^+Q_A^-$ при криогенних температурах [79]. Згідно динамічної моделі, запропонованої у [80], при фізіологічних температурах білок РЦ після світлоіндукованого переходу у стан $P^+Q_A^-$ швидко релаксує з темноадаптованої до світлоадаптованої конформації шляхом сольватації зміненого розподілу зарядів.

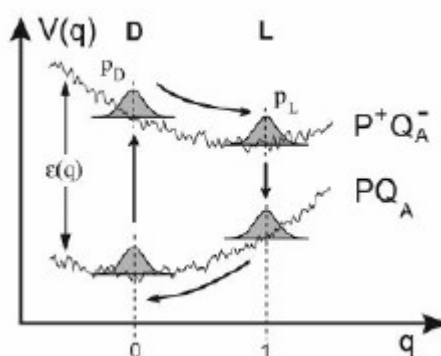


Рис. 1.4. Схематичне представлення енергетичних рівнів РЦ у нейтральному стані (PQ_A) та стані з розділеними зарядами ($P^+Q_A^-$). Енергетична щілина ε , яка контролює швидкість електронного транспорту, варіюється як функція конформаційних координат q [80].

Як показано на рис. 1.4, процес релаксації супроводжується зменшенням енергетичної щілини між $P^+Q_A^-$ та нейтральним станом PQ_A , яке відображається у зменшенні швидкості електронного транспорту, тобто у стабілізації стану з розділеними зарядами. При кімнатній температурі білок РЦ швидко набуває розподілу конформаційних підстанів та усереднення відповідної швидкості розподілу по часовій шкалі розділення зарядів, що призводить до майже експоненційної кінетики рекомбінації $P^+Q_A^-$.

При вивченні процесів фотозбудження та рекомбінації електрона слід розглядати електрон-структурні стани всієї системи, враховуючи, що вони можуть відрізнятися не тільки суттєвою перебудовою структури та прилеглого розчин-мембранного оточення, але й хімічним складом (обмін протонами, лігандами з розчином). Враховуючи природу електрон-структурних станів, можна очікувати, що переходи між ними можуть носити стрибковий (електронні переходи між кофакторами), так і дифузійний характер (перебудови структурних елементів) чи бути їх комбінацією.

Міжмолекулярний транспорт електрона є окислювально-відновною реакцією. На відміну від простих реакцій у розчині, такі реакції за участю білків мають певні особливості. Безпосередній контакт між білковими глобулами ще не гарантує контакту відповідних донорно-акцепторних груп, адже хімічні групи, які змінюють ступінь окислення при окислювально-відновній реакції, зазвичай містяться в середині білкової глобули. Так само, якщо донор та акцептор електрона знаходяться всередині однієї білкової глобули на відстані близько 10 Å, як у білку РЦ то через обмежену рухливість цих груп безпосередній контакт між ними неможливий. Білкове середовище є діелектриком, але не є перешкодою для електронного транспорту, воно виконує певну регулюючу функцію.

У 1967 році Деволт та Чанс у роботі з окислення гема в цитохромі *c* фотоокисленим димером бактеріохлорофіла в білку РЦ фотосинтетичних бактерій показали, що швидкість даної реакції має кінцеву (ненульову) низькотемпературну границю [81]. Цей результат підтвердив неправильність напівпровідникової теорії. При температурах, близьких до абсолютного нуля, швидкість реакції електронного транспорту не перетворюється в нуль, а виходить на кінцеву границю. Це свідчить про те, що електронний транспорт відбувається у процесі тунелювання [64]. У роботах [82-84] показано, що кілька конформацій білків при тунелюванні крізь водні шари призводять до тимчасових резонансних станів, які збільшують швидкість тунелювання. Шлях тунелювання змінюється з часом під дією теплових структурних змін у

білку [85-86]. Роботи [87-89] описують ефекти квантової динаміки у реакції переносу електрона.

Перенесення електрона з однієї молекули або іона на іншу молекулу або іон є однією з найпоширеніших елементарних реакцій. Більшість таких реакцій, протікає в рідких розчинах. У реакції перенесення електрона обов'язково беруть участь два фрагменти – донор електрона D і акцептор електрона A. Розрізняють два різні типи реакцій перенесення електрона. Якщо донорний і акцепторний фрагменти об'єднані в одну молекулу і знаходяться один поблизу одного, то говорять про внутрішньо-сферну реакцію перенесення електрона. Такі реакції часто спостерігаються у збудженому стані молекул, які отримуються при поглинанні ними кванта світла. Зовнішньо-сферною називається реакція перенесення електрона в парі часток, кожна з яких може існувати окремо.

Реакція перенесення електрона, якщо вона енергетично вигідна, повинна протікати дуже швидко і практично безактиваційно. У експерименті це означає, що швидкість реакції визначається частотою зіткнень молекул донора і акцептора, тобто реакція є дифузійно-контрольованою. Це не підтверджується експериментом. Експериментальні результати можна підсумувати таким чином:

1. Навіть екзоергічні реакції перенесення електрона є активаційними, тобто навіть якщо вільна енергія реакції $\Delta G_{if} < 0$, енергія активації $E_a > 0$.

2. Виконується правило Поляни-Семенова для енергії активації : $\Delta E_a = \alpha G_{if} + \text{const}$. У застосуванні до реакцій перенесення електрона це правило уточняється Бренстедом: $\alpha = 1/2$.

3. Енергія активації залежить від діелектричної проникності (полярності) розчинника. Із зростанням високочастотної діелектричної проникності ϵ_∞ енергія активації росте, із зростанням низькочастотної діелектричної проникності ϵ_0 енергія активації падає.

Описані вище експериментальні закономірності для реакції перенесення електрона не знаходили досить ясного і послідовного пояснення. У ході

вивчення реакції переносу електрона між іонами з'ясувалося, що енергія активації росте при зменшенні радіусу іона. Повинна реалізуватися і протилежна залежність. Головне завдання теорії переносу електрона – пояснити природу енергетичного бар'єру реакції.

Модель Маркуса, запропонована в 1956 році, пояснює описані вище експериментальні факти за допомогою наступних постулатів:

- Близня координативна сфера реагуючих часток не зазнає змін в ході процесу перенесення електрона. Таким чином, внутрішні ядерні координати реагуючих часток взагалі не розглядаються, їх зміна вважається настільки малою, що нею можна знехтувати (принцип Франка-Кондона).
- Рівновага між початковими речовинами в розчині і комплексом, що складається з реагуючої пари донор/акцептор, вважається таким, що встановився. Це припущення означає, що ми виключаємо з розгляду дифузійну стадію утворення реакційної пари в клітині розчинника. Розділення продуктів реакції, тобто їх вихід з клітини розчинника вважається швидким. Таким чином, розглядається тільки кінетичний режим протікання реакції в парі.
- Джерелом виникнення енергії активації є орієнтаційна поляризація середовища – тобто молекул розчинника. Передбачається лінійний відгук середовища, тобто міра орієнтаційної поляризації середовища в кожній точці пропорційна напруженості електричного поля в цій точці ($\sim \epsilon E$).

Згідно теорії Маркуса швидкість прямого переносу електрона між двома молекулами залежить від трьох факторів: перекриття електронних густин (хвильових функцій) двох молекул; різниці редокс-потенціалів молекул; величини енергії реорганізації—енергії, необхідної для перебудови середовища молекули при втраті чи приєднанні електрона.

В рамках цих постулатів дипольні молекули середовища, що оточують заряджену або дипольну реагуючу частку, орієнтовані. Кожна з молекул може

бути охарактеризована залежністю енергії від кута, який характеризує її орієнтацію. Ця залежність в наближенні лінійної поляризації середовища є параболічною, тобто молекули середовища знаходяться в гармонійному потенціалі.

Первинна пара донор/акцептор знаходиться в своєму рівноважному поляризованому оточенні, яке схематично показане на рис. 1.5.

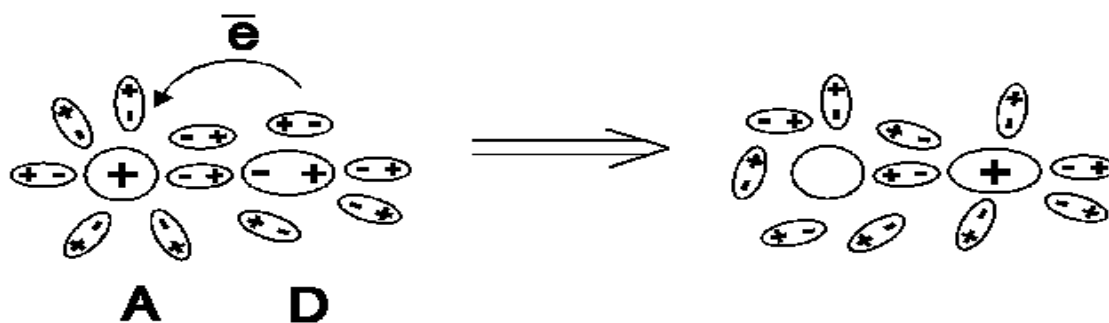


Рис.1.5. Схематичне зображення поляризації середовища

Продуктам реакції, тобто тій самій парі, але з перенесеним електроном, відповідає інша рівноважно-орієнтована поляризація середовища. Головна ідея моделі полягає в наступному. Сукупність молекул середовища поблизу реагуючої пари часток знаходиться у безперервному випадковому русі. Для того, щоб сталася реакція перенесення електрона, необхідно, щоб в ході такого руху поляризація середовища, що відповідає початковому стану, випадковим чином порушилася і зрушилася у напрямі поляризації, що відповідає продуктам реакції. Ця ідея відповідає моделі Крамерса з реакцією, що повністю визначається координатою розчинника. Розглянемо перетин поверхні вільної енергії по координаті середовища (рис. 1.6).

Профіль вільної енергії на цьому рисунку виникає внаслідок квазіперетину двох гармонічних потенціалів, що відповідають орієнтаційній впорядкованості молекул середовища навколо первинного комплексу і навколо продуктів реакції. Якщо система досягає точки перетину потенціалів, відбувається миттєве перенесення електрона.

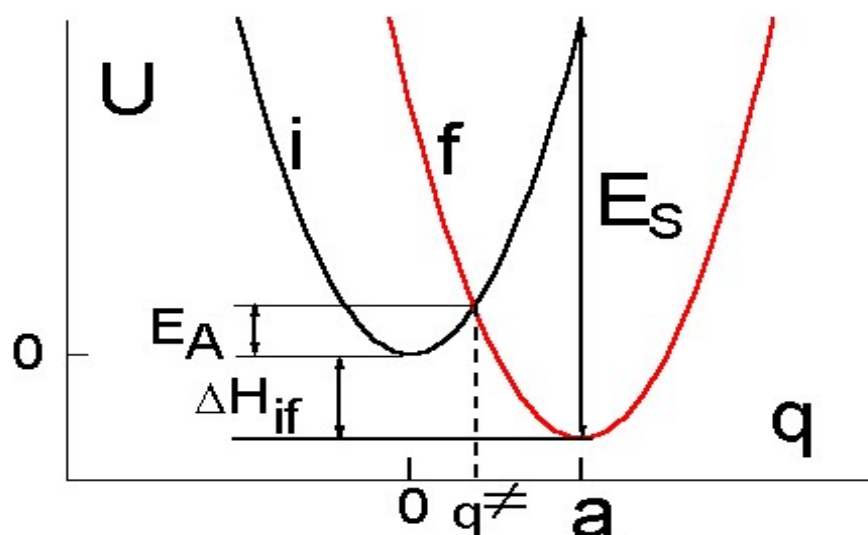


Рис. 1.6. Схема перетину поверхні вільної енергії по координаті середовища.

Початковому стану відповідає гармонічний потенціал з рівноважним значенням координати реакції $q=0$, а кінцевому $q=a$. Вони зсунуті один відносно одного на величину теплового ефекту реакції ΔH_{if} .

$E_s = \frac{1}{2} \hbar \omega (q_0 - q_a)^2$ – енергія реорганізації середовища, $E_A = \frac{(\Delta H_{if} + E_s)^2}{4E_s}$ – енергія активації. Її фізичний зміст – енергія, яку треба витратити, щоб середовище було «підлаштоване» під продукти реакції, але електрон залишився в початковому стані.

Запропонована модель перевірялась експериментально, найбільш зручними для її перевірки виявились фотохімічні реакції переносу електрона. Це пов'язано з тим, що вони дозволяють досить швидко вивчати хімічні перетворення. У збудженому стані, який отримується при поглинанні молекулою фотону, суттєво міняються властивості донора та акцептора, тобто здатність молекули приймати і віддавати електрон.

Емпірична залежність швидкості хімічних реакцій: $k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$ – формула Ареніуса для константи швидкості реакції, де E_a – енергія активації, що характеризує енергетичний бар'єр, який повинна подолати система для здійснення реакції. Залежність k від $\left(\frac{E_a}{RT}\right)$ слідує з розподілу Больцмана за

енергіями, експонента вказує на частку молекул, які мають достатню для реакції енергію активації. Константи k визначають швидкість реакції.

Розглянемо модель взаємодії електронів та атомних ядер – електрони в потенціальному ящику з нескінченно високими рухомими стінками (таким ящиком моделюється сукупність атомних ядер молекули). Електрони поміщаються у ящику, $2n$ електронів займають n рівнів. Можливі значення енергії електронів всередині ящика вираховуються через уявлення про стоячі хвилі де Бройля з вузлами на стінках. Якщо ширина ящика L , то стоячі хвилі мають довжини хвиль: $\lambda = \frac{2L}{n}$, $n = 1, 2, 3 \dots$ Швидкість електрона в ящику знаходимо через співвідношення де Бройля: $v = \frac{h}{m_e \lambda} = \frac{nh}{2m_e L}$. Усередині ящика енергія електрона дорівнює його кінетичній енергії: $E = \frac{m_e v^2}{2} = \frac{n^2 h^2}{8m_e L^3}$. Електрон діє на стінки з силою: $f = \left| \frac{dE}{dL} \right| = \frac{n^2 h^2}{4m_e L^3}$.

У рівновазі ці сили компенсовані зовнішніми взаємодіями. Зміна рівноваги відбувається або внаслідок збудження електрона в системі, або за рахунок додавання електрона, в результаті чого підвищується тиск. Під дією цього тиску стінки ящика переміщуються в нове рівноважне положення $L + \Delta L$. Робота зміщення ядер $f \Delta L$ відбувається за рахунок зменшення енергії електрона.

Енергія електронного збудження трансформується в роботу переміщення атомних ядер, тобто в конформаційну енергію, що призводить до прискорення реакції.

Для більшості фізико-хімічних процесів, в тому числі і в біологічних системах, характерними є переходи через потенціальні бар'єри, які відбуваються при русі молекулярних частинок та їх фрагментів. При цьому відбувається розпад та перегрупування молекулярної системи, що супроводжується переходом частинок з однієї потенціальної ями в іншу. З точки зору класичної механіки процес переходу через потенціальний бар'єр можливий лише при енергії системи вище енергії активації (висота бар'єра).

Температурна залежність швидкості такої реакції описується формулою Ареніуса:

$$k = A \exp\left(-\frac{\varepsilon}{k_B T}\right),$$

де ε – висота потенціального бар'єру, множник A за величиною близький до частоти зіткнень з бар'єром. При температурах, близьких до абсолютного нуля, цей вираз дуже малий. Вихід швидкості реакції на плато при низьких температурах свідчить на користь тунельного механізму міжмолекулярного транспорту електрона в білку. Ймовірність тунельного ефекту (прозорість бар'єру) або ймовірність тунелювання частинки під бар'єром за одне зіткнення з ним визначається формулою Гамова:

$$T = \exp\left(-2\frac{\sqrt{2m\varepsilon}l}{\hbar}\right),$$

де m – маса частинки, l – ширина бар'єра, ε – різниця між висотою бар'єра та повною енергією частинки.

При кінцевій температурі внесок у швидкість реакції дає як тунельна, так і активаційна складові:

$$k_r = A \exp\left(-\frac{\varepsilon_a}{k_B T}\right) + B \exp\left(-2\frac{\sqrt{2m}l}{\hbar}\right).$$

Тут B – частотний фактор (величина порядку частоти зіткнення частинки, яка тунелює, з бар'єром), ε_a – енергія активації, $\varepsilon_a \neq \varepsilon$. Таким чином, електронний транспорт з донора на акцептор в білковому середовищі навіть при кімнатних температурах носить тунельний характер. Енергія активації тунелювання електронів пов'язана з рухом атомних ядер. Зміна зарядового (електронного) стану молекули пов'язана зі зміною функції потенціальної енергії для руху

(коливання) ядер. Найбільш помітним при цьому є зміна положень рівноваги між атомами. Тобто при зміні електронного стану молекулярної системи змінюються і характеристики коливального руху ядер. Це називається електронно-коливальними взаємодіями, а увесь процес зміни електронного стану молекули, який супроводжується перебудовою ядерної коливальної підсистеми, – електронно-коливальним переходом.

З точки зору класичної механіки амплітуда руху ядер прямує до нуля при наближенні температури до абсолютного нуля. Квантова механіка дає інший, більш точний результат. Енергія частинки в потенціальній ямі не може бути менше визначеної величини, яка називається енергією нульових коливань. Ядра можуть з певною ймовірністю проникати в класично заборонені зони і досягати при цьому точки перетину рівня енергії з іншою потенційною кривою. Таким чином, низькотемпературне плато виникає тоді, коли процес електронного транспорту або окислювально-відновна реакція йдуть по тунельному механізму як по електронним, так і по ядерним степеням вільності. При більш високих температурах процес відбувається тунельним чином до електронному ступеню вільності, а ядерна конфігурація перебудовується класично, шляхом подолання активаційного бар'єру за рахунок теплових флуктуацій.

Розглянемо роль конформаційної динаміки білкової глобули в організації процесів електронного транспорту [90-95]. Під конформаційною динамікою, або рухливістю, розуміють відносне зміщення білкових груп з амплітудами, які помітно перевищують амплітуди валентних коливань атомів. В білках маємо конформаційні рухи з амплітудами близько 1 Å. Ці рухи характеризуються часами релаксації від сотень до мільйонів пікосекунд. Часи релаксації конформаційних рухів на відміну від валентних коливань різко збільшуються при зниженні температури. Так як білкова глобула має маленький вільний об'єм, середня відстань між атомами не перевищує 0,1 Å, то конформаційні рухи відбуваються невеликими випадковими кроками.

Загальна амплітуда руху груп становить від долей до декількох ангстрем. Такий характер руху називається обмеженою дифузією.

Спонтанні теплові рухи білкових груп по конформаційним ступеням вільності сприяють виходу системи в реакційно-здатну конфігурацію. Наприклад, для реакції тунельного електронного транспорту важливим є гарне перекриття електронних орбіталей між учасниками процесу. Після процесу електронного транспорту з'являються нові заряджені центри, змінюється баланс електростатичних сил в молекулі білка. Це призводить до зміни рівноважних положень молекулярних груп, тобто до конформаційного переходу. Як наслідок змінюється мікрооточення окремих груп, що призводить до зміни реакційної здатності (наприклад, це відбувається з первинним та вторинним акцепторами в РЦ). Таким чином стає можливою регуляція в ланцюгу послідовних реакцій.

1.6. Математичне моделювання первинних процесів електронного транспорту в РЦ

Математичні моделі електронного транспорту складаються на основі даних про функціонування електрон-транспортного ланцюга, вони описують окислювально-відновні перетворення в системі. Результати теоретичного вивчення властивостей математичної моделі дозволяють описати залежність стаціонарних концентрацій та перехідних кривих редокс-перетворень переносників при включенні та виключенні збуджуючого світла від значень констант перенесення. Порівняння цих результатів та експериментальних даних дає можливість перевірити справедливості вихідних даних про характер функціональної організації електрон-транспортного ланцюга та визначити значення констант електронного транспорту та відповідність між ними та окремими ділянками ланцюга.

Ідентифікація моделей включає вибір структури моделі і визначення її параметрів, які найкраще відповідають експериментальним даним кінетики електронного транспорту. Для цього необхідно побудувати моделі фрагментів

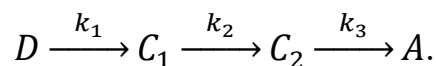
електрон-транспортного ланцюга, окремих ділянок, для яких існують достовірні кінетичні дані.

Для ідентифікації параметрів використовуються кінетичні криві фотоіндукованих змін поглинання, які відображають редокс-перетворення P та хінонних акцепторів. Умови однозначності ідентифікації параметрів сформульовані лише для лінійних систем, тобто для ізольованих бактеріальних РЦ. У випадку більш складних нелінійних систем слід залучати додаткові критерії залежності кінетичних характеристик від режиму освітленості, дії інгібіторів. Ідентифікація проводиться шляхом мінімізації суми виражених квадратів відхилення теоретичних значень змінних від експериментальних.

Розглянемо існуючі математичні моделі, які описують електронний транспорт в РЦ.

У фотосинтетичних РЦ переніс електрона відбувається як рухливими переносниками, так і переносниками, які організовані у молекулярні комплекси. В першому випадку процеси електронного транспорту можна описати бімолекулярними рівняннями другого порядку на основі закону діючих мас. У другому – математичний опис ґрунтується на рівняннях для ймовірності переходів між різними станами молекулярного комплексу.

Розглянемо загальний вигляд рівнянь перенесення. Наприклад, реакція електронного транспорту між двома рухливими переносниками C_1 та C_2 , які взаємодіють із зовнішніми донором D та акцептором A :



Кінетичні рівняння мають вигляд:

$$\frac{dC_1^1}{dt} = k_1 D^1 C_1^0 - k_2 C_1^1 C_2^0; \frac{dC_2^1}{dt} = k_2 C_1^1 C_2^0 - k_3 C_2^1 A^0,$$

де D^1, C_1^1, C_2^1 – концентрації відновлених, а D^0, C_1^0, C_2^0 – окислених форм елементів ланцюга, k_1, k_2, k_3 – бімолекулярні константи швидкостей відповідних реакцій.

Детально ця модель розглянута у [96, 97]. Ідентифікація цієї моделі показала, що значення констант швидкості електронного транспорту в реакції рекомбінації $P^+ \leftarrow Q_A^-$ в темноті та на світлі не однакові, а відрізняються одна від одної принаймні на порядок. Цей результат підтверджує існування різних конформаційних станів РЦ в темноті та при освітленні. Причина такої великої різниці в значеннях констант не може бути викликана лише зміною кулонівських взаємодій та перекриванням електронних хвильових функцій при зміні редокс-станів переносників, вона пов'язана з процесом реорганізації білка РЦ.

У [98] розглянута проста трьохсайтова (P^*, V, H) динамічна модель, яка описує спільну динаміку електрона та ядерної підсистеми. Ця модель дозволяє виявити зв'язок між осциляціями та первинними етапами електронного транспорту в РЦ. Виходячи з оборотного рівняння Шредінгера, було введено взаємодію з коливальними модами, продемонстровано необоротне перенесення у трьохсайтовій моделі, ввівши тертя в класичне рівняння руху. У результаті взаємодії електрона з коливальними модами, електронний транспорт набуває осцилюючих характеристик, близьких до спектрів поглинання.

Як показано в роботі [98], реакції $P^* \rightarrow P^+V^-$ та $P^+V^- \rightarrow P^+H^-$ відбуваються за час, менше, ніж релаксація коливальних мод станів P^*, V^-, H^- , тобто їх не можна описати в термінах переходів між термодинамічно рівноважними станами. Автори роботи роблять висновок про неспроможність експоненціального опису реакцій електронного транспорту.

Проблемою опису хімічних реакцій з точки зору квантової механіки є необоротний процес деяких реакцій [99-101]. У роботі [102] використовувався подібний до [98] підхід, але не враховувалась взаємодія електрона з коливальними модами. Була отримана оборотна еволюція електронного

збудження в фотосинтетичній системі. У роботі [103] розглянуто взаємодію між різними коливальними модами з метою описати необорний електронний транспорт в рамках трьохсайтової моделі. Результати, отримані в цій роботі, не виявили осциляцій спектроскопічних величин системи.

Висновки до розділу 1

Огляд літератури, присвячений фотоіндукованому електронному транспорту в бактеріальних РЦ, дозволяє зробити наступні висновки.

1. Бактеріальні РЦ мають простіший, ніж у вищих рослин, фотосинтетичний апарат, здатні до поглинання світла, світлоіндукованого розділенню зарядів, квантовий вихід процесів фотосинтезу є високим, тому бактеріальні РЦ є хорошим об'єктом дослідження.
2. Під дією світла у РЦ відбувається розділення заряду. Тривале фотозбудження призводить до формування нового структурного стану РЦ. Структурні зміни в РЦ впливають на швидкість переносу електрона.
3. Однією з найбільш актуальних задач сучасної біофізики є визначення механізмів регуляції процесу фоторозділення при бактеріальному фотосинтезі, адже до кінця ці механізми не з'ясовані.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКА ТА ТЕХНІКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

2.1. Виділення РЦ

У роботі використовувались РЦ, виділені на кафедрі біофізики Московського державного університету імені М.В. Ломоносова. Детально процедуру описано у роботі [104]. Зупинимось на основних моментах.

Пурпурові бактерії *Rhodobacter sphaeroides* дикого типу вирощувались на рідкому культурному середовищі Ормеруда у анаеробних умовах у люміностації при температурі близько 30 °С протягом 3 діб. У якості джерела вуглецю використовували малат амонію чи малат натрію. Середовище Ормеруда доводилось до значення рН 6,8 за допомогою 10% розчину NaOH і стерилізувалось протягом 40–60 хвилин при тиску 0,5 атмосфер. Перед посівом додавали дріжджовий автолізат (0,5 мл концентрованого розчину на 10 мл середовища).

Для одержання хроматофорів клітини *Rhodobacter sphaeroides* дикого типу відділяли від культурного середовища центрифугуванням при 6000 g (20 хвилин). Потім їх суспендували у 0,01 моль натрій-фосфатному буфері (рН 7,2) і руйнували на ультразвуковому дезінтеграторі УЗДН-1 (частота 22 кГц, 3 хвилини при 4 °С). Незруйновані клітини і великі часточки відділяли центрифугуванням при 10000 g протягом 15 хвилин. Фракцію хроматофорів з надосадкової рідини осаджували центрифугуванням при 144000 g протягом 90 хвилин при 4 °С.

Для виділення РЦ з фотосинтетичних мембран до хроматофорів (оптична густина при 850 нм прирівнювалась до 40 одиниць в 1 см кюветі) додавали 0,5% детергенту лауридиметиламіноксиду (ЛДАО). Після 30 хвилин інкубації при 20 °С проводили центрифугуванням при 144000 g протягом 60 хвилин при 4 °С. Висолювання проводили сульфатом амонію (22%). Плаваючий осад, який містить РЦ, розчиняли у 0,01 моль натрій-фосфатному буфері (рН 7,2), що містить 0,05% ЛДАО, і діалізували проти того

ж буферу для видалення сульфату амонію протягом 24 годин при 4 °С. Кінцеве очищення препарату проводилось хроматографуванням на колонці з гранульованого оксіапатиту.

Отримані РЦ були суспендовані в 10 ммоль натрій-фосфатному буфері (рН 7,0), який містив 0,05% ЛДАО. Далі цвітер-іонний детергент ЛДАО, який солюбілізує гідрофобні мембранні комплекси РЦ в розчині, шляхом діалізу заміщували на аніонний детергент холат натрію. Такі препарати більш стійкі проти деструкції при зберіганні. В експериментах у більшості випадків використовувались РЦ в 10 ммоль натрій-фосфатному буфері з 0,1% холату натрію, рН 8,1. Контрольні експерименти не виявили суттєвих відмінностей між зразками з різними детергентами.

2.2. Особливості спектроскопії біологічних макромолекул

Відомо, що структурні зміни біологічних макромолекул можуть впливати на активність реакційних центрів макромолекул, регулюючи різноманітні процеси, що протікають у клітині. Часовий масштаб таких змін дуже великий, охоплюючи інтервал часу від 10^{-15} с до тисяч секунд. Сучасні експериментальні методи дослідження молекулярної організації протеїнів: спектроскопія ядерного магнітного резонансу (ЯМР), флуоресценція, рентгенівська кристалографія, інфрачервона спектроскопія та інші. За допомогою флуоресценції вивчають структуру кристалів і процеси екситонів в них, енергетичні рівні молекул, їх структуру і взаємодію, процеси міграції енергії збудження та інші. Інфрачервона спектроскопія дозволяє отримувати спектри речовини у всіх її агрегатних станах. На основі інфрачервоних спектрів можна проводити якісний та кількісний аналіз речовини. В методиках ЯМР є можливість визначати хімічну будову речовини, конформації молекул, ефекти взаємного впливу, внутрішньо молекулярні перетворення. Рентгенівська кристалографія дозволяє показати деталі кристалічної структури, наявність домішок.

Поглинання світла найширшим чином використовується в різних галузях науки і техніки. Так, на ньому засновано багато особливо високочутливих методів кількісного і якісного хімічного аналізу, зокрема абсорбційний спектральний аналіз, спектрофотометрія, колориметрія та ін. Вигляд спектру поглинання вдається пов'язати з хімічною структурою речовини, встановити в молекулах наявність певних зв'язків, досліджувати характер руху електронів в металах, з'ясувати зонну структуру напівпровідників та інші.

Спектральний аналіз – фізичний метод якісного і кількісного визначення атомного і молекулярного складу речовини, заснований на дослідженні його спектрів. Фізична основа спектрального аналізу – спектроскопія атомів і молекул, його класифікують по цілях аналізу і типах спектрів. Атомний спектральний аналіз визначає елементний склад зразка по атомних (іонних) спектрах випромінювання і поглинання, молекулярний спектроскопія атомів – молекулярний склад речовин по молекулярних спектрах поглинання, люмінесценції і комбінаційного розсіяння світла [31].

Електромагнітне випромінювання з довжиною хвилі λ направляють на зразок і визначають параметр випромінювання, що виходить від зразка. Одним з найпростіших таких параметрів є частина потоку випромінювання, що поглинута або розсіяна зразком (на цьому принципі засновані спектроскопічні методи, деякі методи ЯМР-спектроскопії, а також різноманітні вимірювання пружного розсіяння). Крім цього, можна досліджувати випромінювання зразка, що характеризується частотою, що відрізняється від частоти падаючого світла (флуоресценція, фосфоресценція, спектроскопія комбінаційного розсіяння і не пружного розсіяння світла). Крім інтенсивності випромінювання досліджують також її розподіл по частотах. В більш складних методах вимірюють, крім того, поляризацію випромінювання.

Світло – це швидко осцилююче електромагнітне поле, а молекули можна уявити у вигляді розподілу зарядів і спінів, які володіють певними електричними і магнітними властивостями. Під дією світла цей розподіл може

змінюватись. В типовому спектроскопічному експерименті світло падає на зразок або неперервне, або імпульсами. До переліку завдань спектроскопії входить з'ясування питань про те, як швидко молекула реагує на електромагнітне збурення і чому зміни в стані молекули викликає лише світло з цілком визначеними значеннями довжин хвиль; крім того, спектроскопічні дослідження ставлять за мету з'ясувати, які зміни зазнає випромінювання при взаємодії з зразком.

Розглянемо шар зразка, що перпендикулярний напрямку розповсюдження світла. Товщину шару $d\ell$ виберемо досить малою, так щоб інтенсивність світла в межах даного шару можна було б вважати сталою. Тоді частина поглинутого світла ($-dI/I$) буде пропорційна числу поглинутих молекул: $-dI/I = C \varepsilon' d\ell$, де ε' – коефіцієнт пропорційності, що називається коефіцієнтом молярної екстинкції. У випадку не взаємодіючих молекул величина ε' не залежить від їх концентрації, однак, являючись функцією довжини хвилі, змінюється зі зміною частоти світла. Інтегруючи наше рівняння (інтеграл в лівій частині береться в межах від початкової інтенсивності I_0 до кінцевої I , а в правій – від нуля до ℓ), знайдемо

$$\ln(I_0/I) = C \varepsilon' \ell.$$

Переходячи до логарифма з основою 10, отримаємо закон Бугера - Ламберта - Бера в його загальноприйнятій формі: $A(\lambda) \equiv \lg(I_0/I) = C \varepsilon(\lambda) \ell$, де $\varepsilon = \varepsilon'/2,303$. Величина A називається оптичною густиною зразка.

Вимірювання спектру поглинання зазвичай має за мету визначення величини ε або A . Максимальне значення $\varepsilon_{\max}$ і довжини хвиль при яких вони спостерігаються ($\lambda_{\max}$), табулюються. Значення $\varepsilon_{\max}$ для різних хромофорів варіюють від $1 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ до більше ніж $10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Найбільш точно величину A вдається виміряти в тому випадку, якщо вона лежить в інтервалі від 0,1 до 2. При $A < 0,1$ зразок поглинає лише мізерну частину падаючого світла, якщо ж A перевищує 2, це означає, що на детектор падає дуже мало світла.

У випадку макромолекул часто буває незручно використовувати молярну екстинкцію. Це пов'язано або з тим, що її значення дуже велике, або з тим, що ми не знаємо молекулярну масу полімеру. Тому на практиці зазвичай користуються величиною екстинкції, що припадає на один моль моновимірних ланок. Оскільки нас цікавить спектр макромолекул, а не розчинника, на практиці, як правило, вимірюють різницю поглинання розчину макромолекул і чистого розчинника.

Усі фотобіологічні процеси починаються із взаємодії світлової хвилі з речовиною, при цьому світлова хвиля може або розсіятись (змінюється напрям її поширення), або відбувається поглинання кванта світла, що призводить до виникнення електронно-збуджених станів. Поглинання енергії відбувається з найбільшою ймовірністю тоді, коли кількість поглинутої енергії відповідає різниці енергій квантових станів. Таким чином, світло з довжиною хвилі λ поглинається тільки тоді, коли $\lambda = \frac{hc}{E_2 - E_1}$, де E_1 – енергетичний рівень молекули до поглинання, E_2 – енергетичний рівень, який досягається у результаті поглинання ($E = \frac{hc}{\lambda} = h\nu$). Залежність ймовірності поглинання від довжини хвилі називається спектром поглинання. Задача адсорбційної спектроскопії полягає у накопиченні та аналізі спектрів поглинання.

На перших етапах фотобіологічних реакцій проявляється їхня найбільша подібність. На наступних стадіях відбувається розділення процесів за специфікою. Електронно-збуджені стани виникають або внаслідок безпосереднього поглинання кванта світла молекулою (пряме збудження), або в результаті міграції енергії від сусідніх молекул (опосередковане збудження). Міграція енергії збільшує площу поперечного перерізу біологічно активного поглинання (елементарного акту фотобіологічної реакції), наприклад, при фотосинтезі, коли багато молекул, які збирають світло, працюють на одну молекулу реакційного центру. В інших випадках міграція енергії відіграє захисну функцію. Наприклад, транспорт енергії від нуклеотидів ДНК до тирозину білків у хроматині знижує ефективність шкідливої дії ультрафіолету

на генетичному шляху зменшення поперечного перерізу біологічно активного поглинання.

Збуджені молекули, які виникли тим чи іншим шляхом, реалізують свою активність фотохімічним шляхом за участю синглетних та триплетних станів. Але, як правило, основою фотобіології є саме фотохімічні реакції. Для їх здійснення достатньо одного кванта світла (одноквантовий процес). Первинні фотохімічні реакції, які потребують двох квантів зустрічаються рідко.

Первинні фотохімічні реакції різноманітні. На стадії утворення первинних фотопродуктів виникає одна з трьох ситуацій: або у хромофорі відбуваються внутрішньомолекулярні хімічні перебудови, а сусідні молекули залишаються хімічно незмінними (наприклад, *цис-транс*-ізомеризація 11-*цис*- і 13-*цис*-ретиная в родопсині і бактеріоропсині відповідно); або після швидких та оборотних перетворень хромофор не змінюється, а хімічні перебудови відбуваються у сусідній частині молекули (така фотокаталітична функція хромофора властива хлорофілу при фотосинтезі і фарбнику при фотодинамічному ефекті); або одночасно змінюються і хромофор, і сусідня молекула. Це може бути біологічна молекула того ж або іншого типу, а також неорганічні молекули (вода, кисень).

У результаті первинної фотохімічної реакції, як правило, утворюється вільний радикал. Відомо три види лабільних вільнорадикальних продуктів: катіон-радикал, аніон-радикал і нейтральний радикал.

Квантовий вихід фотохімічної реакції (ϕ) визначається співвідношенням констант швидкостей (ймовірностей) фотохімічного (K_{ph}), люмінесцентного (K_l) та термодисипативного (K_t) шляхів дезактивації електронно-збудженого стану:

$$\phi = \frac{K_{ph}}{K_{ph} + K_l + K_t}.$$

З точки зору термодинаміки усі фотохімічні реакції поділяються на дві категорії: ендергонічні та екзергонічні реакції. Продукти ендергонічних реакцій мають більші запаси вільної енергії, ніж вихідна речовина; в них запасється частина енергії квантів світла (парціальні фотохімічні реакції і фотосинтез, бактеріородопсиновий синтез АТФ). У екзергонічних реакціях енергія світла не запасється в продуктах реакції, вона є необхідною для подолання активаційного бар'єру. Більшість фотохімічних реакцій є екзергонічними.

Заключним етапом фотобіологічної реакції є кінцевий макроефект (синтез органічної речовини, рух біооб'єкта, зміна спадкових властивостей організму, смерть клітини тощо). Макроефект може досягатись відразу після поглинання ефективної дози світла або після певного проміжку часу (лаг-фаза).

При поширенні електромагнітних хвиль у середовищі спостерігається зменшення їх інтенсивності у зв'язку із взаємодією електричного та магнітного полів хвилі з атомами та молекулами речовини: розсіяння, люмінесценція, фотохімічний розклад речовини тощо. Якщо проходження світла через деяке середовище не викликає необоротних процесів, тобто фотохімічні реакції не відбуваються, і речовина достатньо однорідна, то зміна інтенсивності світла (поглинання) відбувається за рахунок перетворення енергії електромагнітного поля хвилі в інші види енергії (частіше в енергію хаотичного теплового руху атомів та молекул речовини).

Закони поглинання світла базуються на загальних положеннях молекулярної оптики та квантової механіки. Взаємодія світлової хвилі та речовини зводиться до збудження коливань електронів у складі атомів та молекул під дією змінної сили зі сторони електромагнітного поля. Основний закон поглинання світла в однорідному матеріалі може бути виведений незалежно від модельного представлення про взаємодію світла та речовини на основі енергетичних міркувань: нехай паралельний пучок монохроматичного випромінювання з частотою ν та початковою інтенсивністю I_0 нормально

падає на плоский шар ізотропної однорідної речовини товщиною l . Початкова та кінцева інтенсивності повинні бути виміряні з урахуванням відображення світла від границь шару речовини. Так як величина частини енергії, яка відобразилась, не залежить від товщини шару, то при досить товстих шарах відображенням у порівнянні з поглинанням можна знехтувати.

Вважатимемо, що молекули хромофорів розподілені у розчині рівномірно, а світло, направлене на зразок, монохроматичне. У розчині під дією світла фотохімічні перетворення хромофорів не відбуваються. Інтенсивність світлового пучка, який падає на зразок не висока, що виключає можливість потрапляння декількох фотонів на одну молекулу за час життя її збудженого стану. Якщо у зразку відбувається поглинання світла, то у результаті його інтенсивність зменшується до величини I_l . Співвідношення цих величин визначає пропускання $T = \frac{I}{I_0}$. Тоді пропускання $1 - T = \frac{I_0 - I}{I_0} = \frac{I_{\Pi}}{I_0}$, де I_{Π} – кількість світла, яке поглинається за одиницю часу.

Збільшення концентрації речовини чи товщини кювети призводить до збільшення поглинання світла та зменшенню пропускання, які не є пропорційними ні концентрації, ні товщині кювети і тому не є зручними для кількісного опису поглинання розчинів. Логарифм величини, оберненої коефіцієнту пропускання, – оптична густина: $D = \lg \frac{I_0}{I} = \lg \frac{1}{T}$.

Знайдемо залежність T від концентрації та товщини розчину. Розділимо увесь шар речовини на елементарні шари товщиною dx , так, що зміна інтенсивності світлової хвилі dI_x за рахунок поглинання в такому малому шарі невелика у порівнянні з інтенсивністю I_x . В 1729 році П'єр Бугер встановив, що відносна зміна інтенсивності світла $\frac{dI_x}{I_x}$ в кожному такому шарі dx не залежить від інтенсивності та пропорційна товщині цього шару: $\frac{dI_x}{I_x} = -k_v dx$, де k_v – коефіцієнт поглинання ($[m^{-1}]$). Для розрахунку повного поглинання світла в шарі речовини кінцевої товщини потрібно проінтегрувати обидві частини отриманого виразу. Після подальшого перетворення отримаємо вираз:

$I_l = I_0 e^{-k_\nu l}$ – закон Бугера. Коефіцієнт поглинання k_ν характеризує таку товщину шару речовини, яка послаблює інтенсивність монохроматичного світла в e разів. Залежність коефіцієнта поглинання від частоти визначає спектр поглинання даної речовини.

Бер у 1852 році встановив, що поглинання світла тонким шаром однорідного середовища пропорційне кількості молекул в ньому, тобто концентрації: $k_\nu = \chi_\nu c$, де χ_ν – коефіцієнт пропорційності, який залежить від частоти та властивостей молекул розчиненої речовини, c – концентрація. Закон Бера не виконується при великих концентраціях, часто коефіцієнт пропорційності залежить від природи розчинника.

У 1760 році Ламберт незалежно від Бугера отримав закон поглинання світла. Якщо концентрація молекул, які поглинають світло, n , то згідно до теорії мішеней, кожна молекула характеризується ефективним перетином s (см^2) – поперечний перетин поглинання, при попаданні в яке відбувається поглинання фотона.

Нехай у кюветі з перерізом S (см^2) і товщиною z (см) знаходиться розбавлений розчин з концентрацією n молекул в 1 см^3 (см^{-3}), всього у кюветі знаходиться nSz молекул. Нехай на кювету падає світло інтенсивністю I_0 . За рахунок процесів взаємодії світла з середовищем, інтенсивність світла на виході з кювети зміниться до величини I . Основний закон, що описує поглинання світла, є закон Бугера—Ламберта—Бера:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon cz},$$

де c – концентрація (моль/л); ε – молекулярний коефіцієнт поглинання, що не залежить від концентрації і характеризує молекулу поглинаючої речовини.

Розглянемо кінетику процесу проходження світла крізь розчин макромолекул згідно з класичним представленням. Нехай у кюветі з перерізом S (см^2) і товщиною z (см) знаходиться розбавлений розчин з концентрацією n молекул в 1 см^3 (см^{-3}), всього у кюветі знаходиться nSz молекул. Нехай на

кювету падає світло інтенсивністю I_0 ($\text{см}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$). За рахунок процесів взаємодії світла з середовищем, інтенсивність світла на виході з кювети зміниться до величини I . Основний закон, що описує поглинання світла, є закон Бугера—Ламберта—Бера:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon cz},$$

де c – концентрація (моль/л); ε – молекулярний коефіцієнт поглинання, що не залежить від концентрації і характеризує молекулу поглинаючої речовини.

Закон Бугера-Ламберта-Бера у його класичному вигляді можна використовувати для середовищ малої оптичної товщини, рівній εz . При зростанні оптичної товщини підсилюється поглинання світла середовищем на усіх частотах. При розрахунках зміни інтенсивності світла в такому середовищі вводять константу, яка враховує екрануючу дію поглинаючої речовини. Для молекули РЦ при поглинанні світла властиве тривале перебування електрона у збудженому стані, тому для коректного розрахунку кінетичних параметрів фотозбудження РЦ необхідно знати, як змінюється інтенсивність збуджуючого світла при проходженні крізь розчин РЦ.

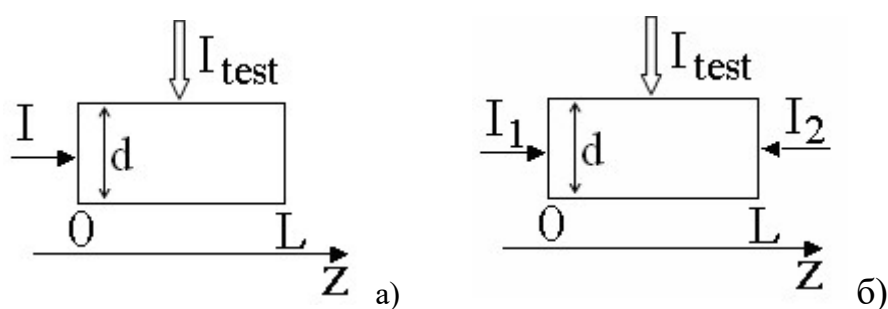


Рис. 2.1. Схема проходження збуджуючого і тестуючого світла крізь зразок довжиною L і шириною d [61].

При великих інтенсивностях світла молекулярний коефіцієнт поглинання починає залежати від інтенсивності і зв'язок між I та I_0 стає нелінійним. Детально проходження світла крізь середовище молекул з

аномально великим часом життя у стані з внутрішньо молекулярним переносом електрона проаналізовано у роботах [61, 105].

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. Інтенсивність світла у зразку є відмінною від інтенсивності збуджуючого світла. Збуджуюче світло має бути направлене на зразок з двох протилежних сторін (рис. 2.1). Це є умовою побудови оптичної схеми експериментальної установки. У такому випадку збуджуюче світло розподіляється рівномірно вздовж оптичного шляху.

Розрахунки показують, що світло, напрямлене з двох протилежних сторін на середовище фотоактивних макромолекул з великим часом життя у стані з внутрішньомолекулярним переносом електрону, не змінюється вздовж оптичного шляху, тобто є сталим; а значення інтенсивності світла у кюветі відмінне від значення інтенсивності падаючого світла. У випадку, коли довжина кювети є меншою, ніж оцінюючий параметр $\tilde{z}$ (у нашому випадку $\tilde{z} = 6\text{ мм}$), сумарне значення інтенсивності у зразку більше, ніж величина інтенсивності падаючого світла.

Величина інтенсивності світла у даному середовищі буде рівною (і залишатись сталою) інтенсивності падаючого світла, коли довжина зразка рівна значенню параметра $\tilde{z}$. При $\tilde{z} < L < 4\tilde{z}$ сумарна інтенсивність світла у зразку буде меншою, ніж інтенсивність падаючого світла.

Таким чином, 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. Інтенсивність світла у зразку є відмінною від інтенсивності збуджуючого світла. Для забезпечення рівномірного розподілу збуджуючого світла, збуджуюче світло має бути направлене на зразок з двох протилежних сторін. Це є умовою побудови оптичної схеми

експериментальної установки. У такому випадку збуджуюче світло розподіляється рівномірно вздовж оптичного шляху [106, 107].

2.3. Програмно-апаратний комплекс

При фотоокисненні первинного донора (димера бактеріохлорофіла) РЦ переходять у довготривалий стан з розділеними зарядами, тобто з електроном, який перенесений на вторинний хінонний акцептор. Темнова релаксація такого стану відбувається за секунди і більше. Кінетика таких процесів реєструється зміною у спектрі поглинання смуги близько 865 нм. Для вимірювання абсорбційних змін використовувався спеціально розроблений з такою метою двопробеневий програмно-апаратний комплекс [108], схема якого представлена на рис. 2.2.

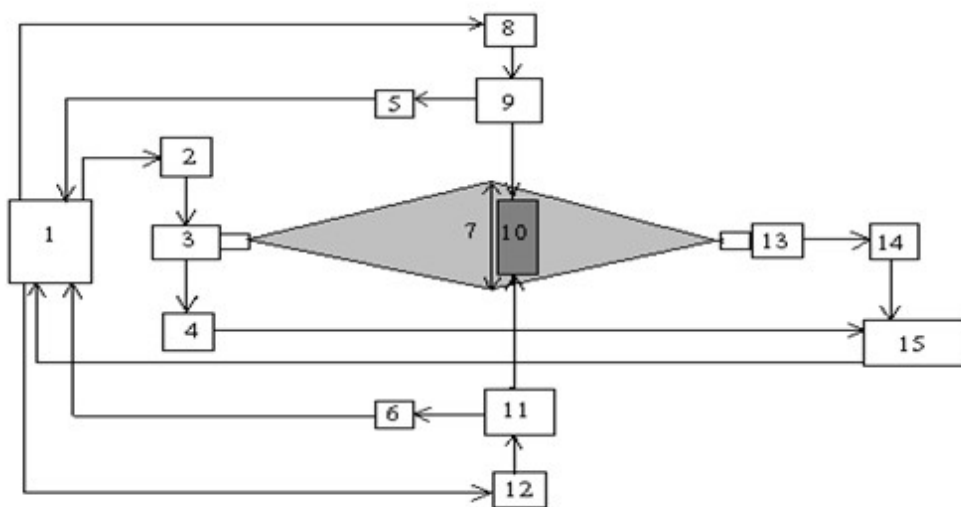


Рис. 2.2. Програмно-апаратний комплекс: 1 – ПК; 2 – канал формування $I_{\text{опор}}$; 3 – система з світлодіодами; 4 – канал вимірювання $I_{\text{тест}}$; 5, 6 – канали вимірювання $I_{\text{збудж.}}$; 7 – фокусуюча лінза; 8, 12 – канали формування $I_{\text{збудж.}}$; 9, 11 – набори світлодіодів; 10 – кювета; 13 – фотоприймач з підсилювачем; 14 – детектор з підсилювачем; 15 – канал попередньої обробки.

Комплекс, створений на базі ПК IBM з вбудованою платою E-1050 системи збору цифрової й аналогової інформації, містить у собі три окремих

модулі розміром 15x15x10 см. Він дозволяє вимірювати оптичне поглинання розчинів у діапазоні величин $0-1\pm0,002$ на довжині хвилі 870 ± 30 нм. Особливістю даного комплексу є використання зондувального світла низької інтенсивності ($0,3$ мкВт/см²), модульованого частотою 5 кГц, а також застосування додаткового оптичного каналу для підсвічування розчинів. Це підсвічування призводить до вицвітання спектральної лінії на даній довжині хвилі досліджуваних розчинів. Воно здійснюється на цій же довжині хвилі і може регулюватися в діапазоні інтенсивностей від 0 мВт/см² до 7 мВт/см² відповідно до програмного забезпечення експерименту. Причому, збуджуюче світло (два промені, напрямлені на зразок з двох протилежних сторін) і тестуюче світло падають на кювету з розчином перпендикулярно один до одного.

Як джерело збуджуючого світла використовується набір 10 світлодіодів з максимальною потужністю до 10 мВт кожного. Комплекс складається з оптичного блоку і блоку попередньої обробки сигналів з цифровою індикацією результатів вимірювання. Він дозволяє проводити дослідження в автономному режимі під керуванням ПК без особистої участі оператора. За допомогою цього комплексу були отримані залежності зміни коефіцієнта оптичного поглинання РЦ фотосинтезуючих бактерій *Rb. Sphaeroides* від інтенсивності та тривалості збуджуючого світла, що дозволило виявити особливості електрон-конформаційної взаємодії в системі фотореакційних центрів.

2.4. Апроксимація експериментальних результатів

Розглянемо можливі алгоритми апроксимації експериментальних кривих. Вихідна функція експоненціальна і може бути представлена у вигляді $F(x,a,b)$, де a і b – параметри експоненціальної функції регресії. Відомий метод, який зводить нелінійну експоненціальну регресію до лінійної, наприклад, за допомогою логарифмічного перетворення вихідної функції. Потім застосовують обернене перетворення і знаходять параметри a і b за

даними параметрами лінійної регресії. Однак в цьому випадку для розділення двох близьких експонент (з однаковими декрементами) можна зробити тільки по хвостах експоненціальних функцій, де співвідношення сигнал-шум невелике.

Другий відомий метод полягає у розв'язанні системи нелінійних рівнянь, в яку входять наближені рівняння $f(x_0, a, b) = y_0$ і вирази з функцією Minner(a,b) (MathCad), які обраховують значення a і b , при яких система розв'язується з мінімальною середньоквадратичною похибкою [109].

Нами було використано метод багатовимірної оптимізації, який детально описано у роботі [110].

Розклад мультиекспоненціальної кривої кінетики основної реакції у вигляді суми експонент $A(t) = \sum_{i=1}^n a_i e^{-k_i t}$ з обмеженням ($k_i > 0$), є багатовимірною оптимізаційною задачею, яка супроводжується труднощами ідентифікації. Існують різні алгоритми залежно від стратегії перебору розв'язків (градієнтні, еволюційні, стохастичні тощо). Вибір алгоритму пов'язаний з неоднозначністю поведінки цільової функції, з існуванням локальних екстремумів цільової функції та «прокляттям розмірності» (співвідношення якості результатів та час обробки) [111].

Для аналізу кінетики фотостимульованого електронного транспорту та в РЦ був розроблений градієнтний алгоритм оптимізації з використанням методів лінійної алгебри. Його переваги: він дозволяє визначити кількість експонент, їх параметри, які відповідають глобальному мінімуму цільової функції (середньоквадратичної похибки) розкладу, має оптимальний час розрахунків.

Алгоритм складається з двох етапів: визначається чисельне значення заданого базису розкладу з найкращим наближенням до аналізованої кривої, потім відбувається оптимізація параметрів базису розкладу (n, k_i, a_i).

Розглянемо перший варіант. Можна вважати, що сигнал $x(t)$ з кінцевою енергією, який аналізується, належить метричному простору зі скалярним добутком $(x, y) = \int x(t)y(t)dt$. Сигнал $x(t)$ можна виразити у вигляді

лінійної комбінації:

$$x(t) = \sum_{i=1}^n \alpha_i \varphi_i(t), \quad (2.2)$$

де $\varphi_i(t)$ – система n лінійно незалежних дійсних функцій; α_i – формують шукане числове представлення. Цей базис може бути не ортогональним. Помножимо $x(t)$ на $\varphi_j(t)$. Тоді відношення між сигналом x та його чисельним представленням α у матричній формі матиме вигляд:

$$\begin{bmatrix} (\varphi_1, \varphi_1) & (\varphi_2, \varphi_1) & \dots & (\varphi_n, \varphi_1) \\ (\varphi_1, \varphi_2) & (\varphi_2, \varphi_2) & \dots & (\varphi_n, \varphi_2) \\ & & \ddots & \\ & & & (\varphi_1, \varphi_n) & (\varphi_2, \varphi_n) & \dots & (\varphi_n, \varphi_n) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ \vdots \\ a_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} (x, \varphi_1) \\ (x, \varphi_2) \\ \vdots \\ (x, \varphi_n) \end{bmatrix} \text{ або } \mathbf{G}\mathbf{a} = \mathbf{\beta}, \quad (2.3)$$

Введемо взаємні базисні функції $\theta_i (i = 1, 2, 3, \dots, n)$, які є лінійною комбінацією $\varphi_i(\theta_j) = \sum_{k=1}^n \Gamma_{jk} \varphi_k(t)$, скалярні добутки базисів дорівнюють $(\varphi_i, \theta_j) = \delta_{ij}$, тобто $\sum_{k=1}^n \Gamma_{jk} (\varphi_i, \varphi_k) = \delta_{ij}$. В матричній формі: $\mathbf{\Gamma}^* \mathbf{G} = \mathbf{I} \rightarrow \mathbf{\Gamma} = [\mathbf{G}^{-1}]^*$. Використовуючи взаємний базис, можна переписати вираз (2.3) у вигляді:

$$\alpha_i = (x, \theta_i); \quad i=1, 2, \dots, n \quad (2.4)$$

де α_i – шукані значення вагових множників експонент.

Таким чином, на першому етапі задаємо кількість (n) та дискретні значення декрементів (k_i) базових експоненціальних функцій φ_k . Складаємо матрицю їх скалярних добутків $\mathbf{G}$. Вираховуємо обернену до матриці $\mathbf{G}$ матрицю $\mathbf{\Gamma}$, визначаємо взаємний базис θ_j . Згідно з виразом (2.4) знаходимо значення вагових компонент α_i експоненціальних функцій, які найкращим чином відповідають сигналу, що аналізується. Декременти (k_i)

експоненціальних функцій мають дискретний характер. Це призводить до появи похибки в оптимізації, яка відповідає різниці між аналізованим сигналом та апроксимацією.

На другому етапі знаходимо оптимальні параметри базису розкладу. Вибираємо одну експоненту з початковим значенням декременту. За допомогою операцій першого етапу перебираємо значення декременту k_1 , визначаємо оптимальне значення параметрів ($a_{1\text{опт}}, k_{1\text{опт}}, a_1 > 0$) першої експоненти, для яких похибка (дисперсія) апроксимації має найменше значення. Додаємо другу експоненту та виконуємо перший етап оптимізації. При заданому значенні $k_{1\text{опт}}$ першої експоненти шляхом перебору k_2 визначаємо оптимальне значення параметрів двох експонент ($a_{1\text{опт}}, k_{1\text{опт}}, a_{2\text{опт}}, k_{2\text{опт}}$). Повертаємось до першої експоненти. При знайденому значенні $k_{2\text{опт}}$ другої експоненти шляхом перебору k_1 визначаємо нові оптимальні значення параметрів двох експонент. Повертаємось до другої експоненти. При новому значенні $k_{1\text{опт}}$ першої експоненти шляхом перебору k_2 визначаємо нове значення параметрів двох експонент. Повторюємо процедуру доти, доки дисперсія апроксимації не перестане змінюватись. Додаємо третю експоненту. Визначаємо $k_{3\text{опт}}$ третьої експоненти при визначених значеннях $k_{1\text{опт}}$ та $k_{2\text{опт}}$. Проводимо описаний процес оптимізації декрементів перших двох експонент при фіксованому значенні $k_{3\text{опт}}$. Потім знову повертаємось до оптимізації $k_{3\text{опт}}$. Процес повторюється доти, доки апроксимація не мінімізується. Далі додаємо наступні експоненти доти, доки набір з найбільшої кількості компонент розкладу буде мати меншу дисперсію, ніж попередній. На цьому процес оптимізації закінчується.

Було розроблено програмне забезпечення для описаного алгоритму. На рис. 2.3 показано меню програми. Аналізований сигнал записується у текстовому форматі у вигляді двох колонок з точкою для розділення цілої та дробової частин. У першому стовпчику записано час (вісь-Х) в секундах, другий стовпчик – амплітуда сигналу у довільних одиницях. Амплітуда сигналу неперервно зменшується в часі. Для запуску програми необхідно

задати максимальну кількість експонент та натиснути «Старт/продолжить», після чого відкриється директорія для пошуку файла. Якщо формат вихідного файлу правильний, то почнеться процес розкладу сигналу на суму експонент. Після закінчення процедури, параметри експоненціальних компонент будуть показані в таблиці меню. Результати розкладу можна зберегти у двох форматах: у вигляді апроксимаційного сигналу для візуального контролю (“Save $A_i \cdot \exp(-K_i)$ ”) або у вигляді параметрів експонент (“Save $A_i = f(K_i)$ ”). Орієнтовний час розрахунків однієї експериментальної кривої до 5 хв.

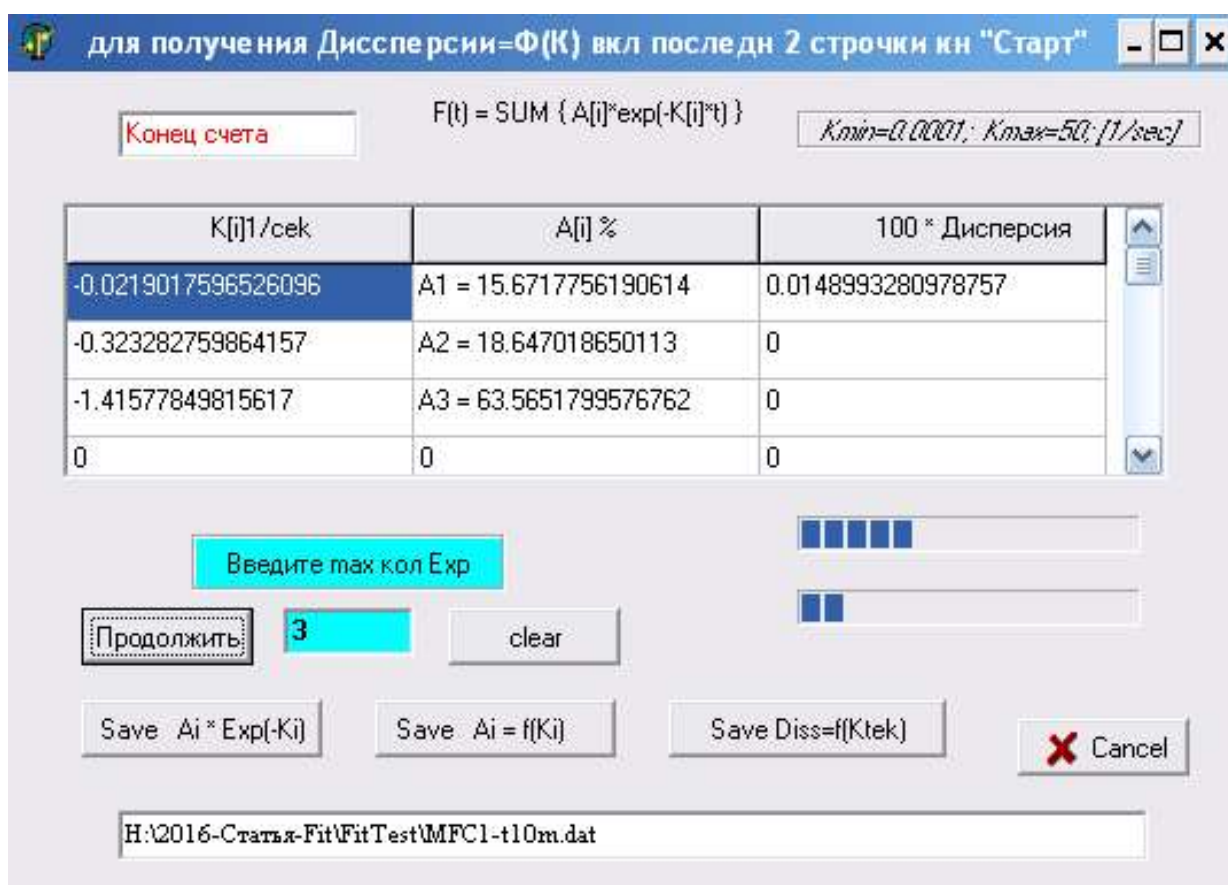


Рис. 2.3. Меню програми розкладу сигналу на суму експоненціальних функцій.

У роботі досліджувалась кінетика фотозбудження і релаксації РЦ фотосинтетичних бактерій при різних режимах фотоактивації зразка: 1) при однаковій тривалості, але дискретно змінній інтенсивності фотозбудження; 2) при заданій інтенсивності фотозбуджуючого світла з різним часом фотоактивації.

Типовий вид кінетичних кривих, що складаються з двох частин: стадії фотозбудження $\Delta A_{ex}(I, t)$, $t \leq t_{off}$ і релаксації абсорбційних змін $\Delta A_{rel}(I, t)$, $t \geq t_{off}$, приведено на рис. 2.4.

На рис. 2.5 наведено порівняння експериментальної кінетики переносу електрона з результатами апроксимації за допомогою суми трьох експоненціальних компонент: a – густина ймовірності для донора РЦ та b – густина ймовірності для акцептора РЦ.

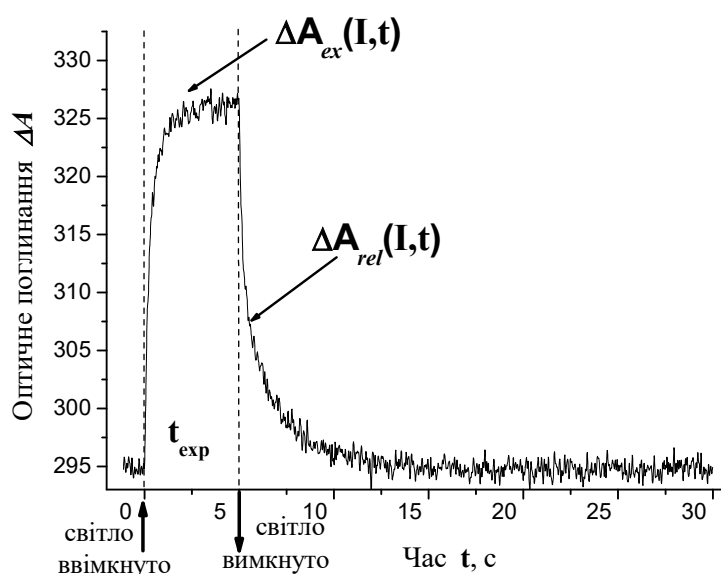


Рис. 2.4. Кінетика фотоіндукованих змін поглинання бактеріохлорофілу РЦ виду Rb. Sphaeroides [33].

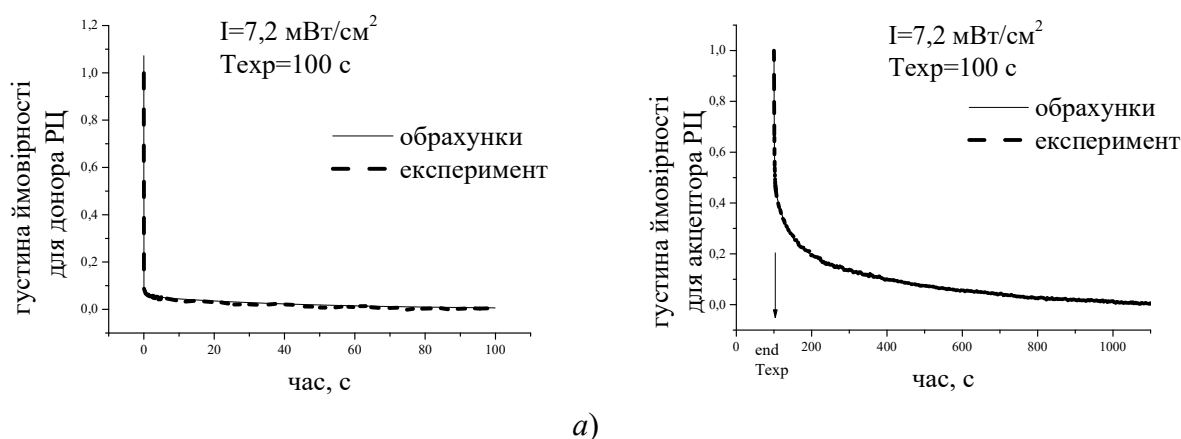


Рис. 2.5. Апроксимація кінетики переносу електрона РЦ сумою трьох експонент.

На рис. 2.6 наведено характерну поведінку цільової функції при апроксимації кінетики електронного транспорту РЦ при різних режимах фотозбудження. Такий характер цільової функції дозволяє проводити процес оптимізації без попадання у локальний мінімум та суттєво скоротити час розрахунків (до 5 хвилин).

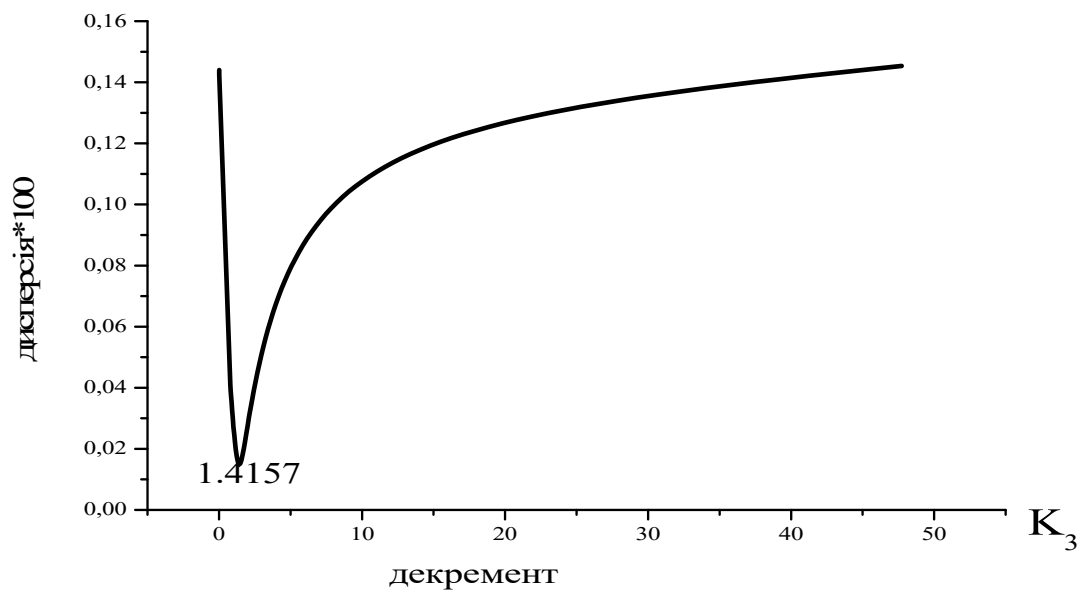


Рис. 2.6. Залежність цільової функції (дисперсії) розкладу від величини декременту K_3 у кінці процесу оптимізації (після визначення величин K_1 та K_2).

2.5. Вейвлет-аналіз

Виникнення вейвлет-аналізу можна віднести до середини 80-х років ХХ століття. Воно було обумовлене потребою вирішення прикладних задач. До виникнення формули неперервного вейвлет-аналізу призвела необхідність аналізувати сейсмічні сигнали з більшою чутливістю, чим може бути досягнуто за допомогою метода Фур'є.

Вейвлет-аналіз можна застосовувати до вирішення різних задач обробки сигналів. Аналіз сигналів за допомогою вейвлетів дозволяє виявити стрибки та нерегулярності. Одним з перших прикладів виявлення стрибків став аналіз медичних сигналів – електрокардіограм. Інші області застосування, наприклад, аналіз сигналів датчиків у робототехніці.

Ще одна важлива особливість застосування – стиснення сигналів. На використанні техніки вейвлетів базується стандарт стиснення нерухомого зображення JPEG 2000.

Вейвлет-перетворення має властивість масштабування. На відміну від перетворення Фур'є, при вейвлет-перетвореннях не відбувається пошук циклічних частот, а визначаються розміри деталей – «коефіцієнти масштабування» a в деякий час t .

Вейвлет-перетворення сигналів є узагальненням спектрального аналізу. Вейвлети – узагальнена назва сімейств математичних функцій певної форми, локальних в часі і за частотою, в яких усі функції отримані з однієї базисної, шляхом її зсуву і розтягів по часовій осі [113-123].

Вейвлети мають вигляд коротких хвильових пакетів з інтегральним нульовим значенням, локалізованих по осі аргументів (незалежних змінних), інваріантних відносно зсуву та лінійних по відношенню до операцій масштабування (стиснення, розтяг).

Вейвлети – локалізовані функції, які конструюються з одного материнського вейвлету $\psi(t)$ шляхом операції зсуву по часу (b) та зміни часового масштабу (a):

$$\psi_{ab}(t) = \frac{1}{\sqrt{|a|}} \psi\left(\frac{t-b}{a}\right), (a, b) \in R, \psi(t) \in L^2(R) \quad (2.5)$$

де множник $\frac{1}{\sqrt{|a|}}$ забезпечує незалежність норми функції від масштабуючого числа a .

Неперервне (інтегральне) вейвлет-перетворення сигналу $s(t) \in L^2(R)$, яке застосовується для якісного частотно-часового аналізу, за змістом відповідає перетворенню Фур'є з заміною гармонічного базису $\exp(-j\omega t)$ на вейвлетний $\psi\left(\frac{t-b}{a}\right)$:

$$W(a, b) = \langle s(t), \psi_{ab}(t) \rangle = \frac{1}{\sqrt{|a|}} \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \psi\left(\frac{t-b}{a}\right) dt, (a, b) \in R, a \neq 0 \quad (2.6)$$

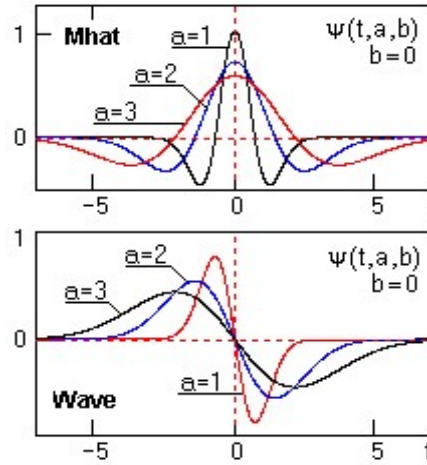


Рис. 2.7. Вейвлети Mhat и Wave.

Вейвлетний масштабно-часовий спектр $W(a, b)$ на відміну від Фур'є-спектру є функцією двох аргументів: частотного масштабу вейвлета a (в одиницях, обернених частоті), та часовому зміщенню вейвлета за сигналом b (в одиницях часу), при цьому параметри a та b можуть приймати будь-які значення у межах зони визначення.

Приклади простих неортогональних вейвлетів парного (Mhat) та непарного (Wave) типів [115, 116] (рис. 2.7):

$$\psi_{Mhat}(t, a, b) = \frac{1,031}{\sqrt{2}} \cdot \left\{ \exp\left[-\left(\frac{t-b}{a}\right)^2\right] - 2\left(\frac{t-b}{a}\right)^2 \cdot \exp\left[-\left(\frac{t-b}{a}\right)^2\right] \right\} \quad (2.7)$$

$$\psi_{wave}(t, a, b) = \frac{-1,786}{\sqrt{2}} \cdot \frac{t-b}{a} \cdot \exp\left[-\left(\frac{t-b}{a}\right)^2\right]. \quad (2.8)$$

Властивості вейвлетів, принципово важливі для реалізації вейвлетних перетворень [117]:

- Локалізація. Вейвлет повинен бути неперервним, інтегровним, мати компактний носій та бути локалізованим як в часі (в просторі), так і по частоті. Якщо вейвлет у просторі звужується, то його “середня” (домінуюча) частота

підвищується, спектр вейвлета переміщується в область більш високих частот і розширюється. Цей процес має бути лінійним – звуження вейвлета вдвічі повинно підвищувати його домінуючу частоту і ширину спектра також вдвічі. Вейвлетну функцію можна вважати достатньо локалізованою, якщо виконується умова:

$$\psi(t) \leq \frac{C}{(1+|t|)^{1+\varepsilon}}, \Psi(f) \leq \frac{C}{(1+|f|)^{1+\varepsilon}}, \text{ при } \varepsilon > 0. \quad (2.9)$$

- Нульове середнє значення, тобто виконання умови для нульового моменту: $\int_{-\infty}^{\infty} \psi(t) dt = 0$,

що забезпечує виділення локальних особливостей сигналів, нульове підсилення постійної складової сигналу з нульовим значенням частотного спектра вейвлета при $\omega = 0$, та локалізацію вейвлета у вигляді смугового фільтра з центром на певній (домінуючій) частоті ω_0 вейвлетної функції.

- Обмеженість. Необхідна і достатня умова: $\|\psi(t)\|^2 = \int_{-\infty}^{\infty} |\psi(t)|^2 dt < \infty$.

Оцінка хорошої обмеженості та локалізації може здійснюватися за допомогою виразів:

$$|\psi(t)| < \frac{1}{(1+|t|^n)}, \text{ або } |\Psi(\omega)| < \frac{1}{(1+|\omega_0|^n)}, \quad (2.10)$$

де ω_0 – середня частота вейвлета. Число n повинно бути якнайбільшим.

- Автоподібність базису або самоподібність. Форма усіх базисних вейвлетів $\psi_{ab}(t)$ повинна бути подібна до материнського вейвлету $\psi(t)$, тобто повинна залишатись такою ж при зсувах та масштабуванні, мати одне й те ж число осциляцій.

Вейвлетні перетворення дозволяють отримати не лише загальну частотну характеристику сигналу, а й відомості про певні локальні

координати, на яких проявляються ті чи інші групи частотних складових, або на яких відбуваються швидкі зміни частотних складових сигналу.

Вейвлет-аналіз одномірних сигналів забезпечує двовимірну розгортку, при цьому частота та координата розглядаються як незалежні змінні, що дає можливість аналізувати сигнал відразу у двох просторах.

Одна з головних ідей вейвлетного перетворення сигналів на різних рівнях декомпозиції (розкладу) полягає у розділенні функцій наближення до сигналу на дві групи: апроксимуючу – грубу, з повільною часовою динамікою змін, та деталізуючу – з локальною та швидкою динамікою змін на фоні плавної динаміки, з подальшим їх дробленням та деталізацією на інших рівнях декомпозиції сигналів.

В основі вейвлет-перетворень лежить використання двох неперервних, взаємозалежних та інтегровних по незалежній змінній функцій [117]:

- Вейвлет-функції $\psi(t)$, як psi-функції часу з нульовим значенням інтегралу та частотним Фур'є-образом $\Psi(\omega)$. Ця функція, яка зазвичай і називається вейвлетом, виділяє деталі сигналу і її локальні особливості. У якості аналізуючих вейвлетів зазвичай вибираються функції, добре локалізовані і в часовій, і в частотній області. Приклад часового та частотного образу функції наведено на рис. 2.8.

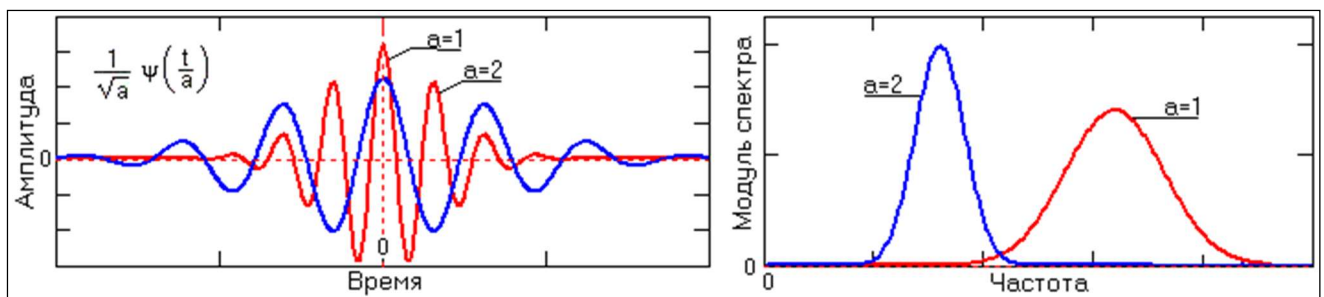


Рис. 2.8. Вейвлетні функції у двох масштабах.

- Масштабуючої функції $\phi(t)$, як часової скейлінг-функції phi з одиничним значенням інтегралу, за допомогою якої виконується грубе наближення (апроксимація) сигналу. Phi-функції притаманні не усім, а,

як правило, тільки ортогональним вейвлетам.

Розглянемо неперервне вейвлет-перетворення (НВП). Припустимо, що ми маємо функції $s(t)$ скінченої енергії у просторі $L^2(R)$, визначені на всій дійсній осі $R(-\infty, \infty)$. Неперервним вейвлет-перетворенням (або вейвлетним образом) функції $s(t) \in L^2(R)$ називають функцію двох змінних:

$$C(a, b) = \langle s(t), \psi(a, b, t) \rangle = \int_{-\infty}^{+\infty} s(t) \psi(a, b, t) dt, \quad a, b \in R, \quad a \neq 0 \quad (2.11)$$

де вейвлети $\psi(a, b, t) \equiv \psi_{ab}(t)$ – масштабовані та зсунуті копії породжуючого вейвлета $\psi(t) \in L^2(R)$, сукупність яких створює новий базис простору $L^2(R)$.

Вейвлетний базис функціонального простору утворюється шляхом масштабних перетворень та зсувів породжуючого вейвлета $\psi(t)$:

$$\psi(a, b, t) = |a|^{-\frac{1}{2}} \psi \left[\frac{(t-b)}{a} \right], \quad a, b \in R, \quad a \neq 0, \quad \psi(t) \in L^2(R). \quad (2.12)$$

Вейвлет-перетворення дає сімейства спектрів масштабних коефіцієнтів a стиснення, розтягнення:

$$C(a, b) = \int_{-\infty}^{+\infty} s(t) |a|^{-\frac{1}{2}} \psi \left[\frac{(t-b)}{a} \right] dt \quad (2.13)$$

За рахунок зміни масштабу вейвлети здатні виявляти відмінності на різних частотах, а за рахунок зсуву (b) – проаналізувати властивості сигналу в різних точках на всьому досліджуваному часовому інтервалі.

Спектр $C(a, b)$ одновимірному сигналу є поверхнею в тривимірному просторі. Способи візуалізації спектру можуть бути різними. Найбільш поширений спосіб – проекція на площину ab з ізолініями (ізорівнями), що дозволяє прослідкувати зміни коефіцієнтів на різних масштабах за часом, а також виявити картину локальних екстремумів цих поверхонь, так званий

“скелет” структури процесу, що аналізується. При широкому діапазоні масштабів застосовуються логарифмічні координати ($\log a, b$). На рис. 2.9 наведено приклад вейвлетного спектра простого сигналу (розклад вейвлетом $Mhat$).

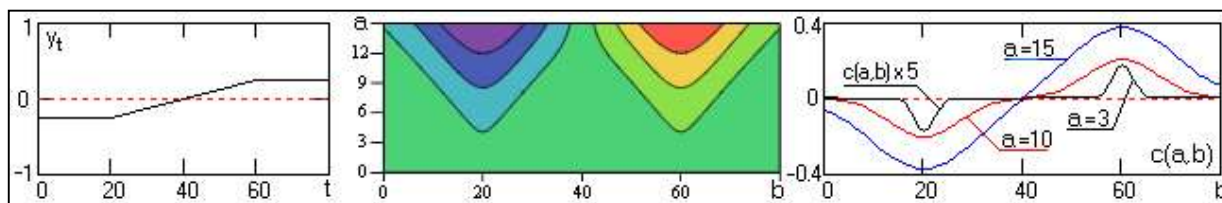


Рис. 2.9. Сигнал, вейвлетний спектр ($Mhat$) і масштабні перетини спектру.

Вибір виду та типу вейвлетів залежить від сигналу, що аналізується, і задач аналізу, тобто визначається тим, яку інформацію необхідно одержати з сигналу. Вибір типу вейвлета вносить певну суб'єктивність дослідника в методику дослідження сигналів, але в той же час дає нові можливості при пошуку найбільш ефективних та оптимальних методів обробки сигналів та отримання з них необхідної інформації. З урахуванням характерних особливостей різних вейвлетів у часовому та частотному просторі, в сигналах, що аналізуються, можна виявити ті чи інші властивості й особливості, які непомітні в сигналах, особливо в присутності сильних шумів. Результати досліджень [121] на вибраних сигналах показали, що для аналізу сигналів краще використати вейвлети, які своєю формою найбільш нагадують сигнал, що досліджується. Тому для вибору оптимального вейвлета для аналізу кінетики електронного транспорту в реакційних центрах необхідно провести тестування різних типів вейвлетів на кривих з різними особливостями, ці дані наведено у розділі 3.

Висновки до розділу 2

1. Описано процес виділення РЦ. Виділені з мембрани бактерії РЦ зберігають свою придатність до дослідження тривалий час.

2. Розглянуто особливості адсорбційної спектроскопії фотоактивних середовищ. Інтенсивність світла після взаємодії з фотоактивним середовищем розподіляється вздовж оптичного шляху з суттєвим відхиленням від закону Бугера-Ламберта-Бера. Цей факт портівно врахувати при побудові оптичної схеми експериментальної установки.
3. Описано схему експериментальної установки. Особливістю такої установи є те, що світло для тестування зразків мпрямовується з двох боків, що забезпечує його більш рівномірний розподіл вздовж оптичного шляху.
4. Описано алгоритм роботи програмного забезпечення для апроксимації експериментальних даних, що дозволяє розкласти криві у вигляді суми трьох експоненціальних функцій для подальшого їх аналізу.
5. Описано метод неперервного вейвлет-аналізу для виявлення особливостей експериментальних кривих електронного транспорту в РЦ.

Результати викладені в цьому розділі, опубліковані у роботах: [8, 19, 27].

Розділ 3.

ВЕЙВЛЕТ-АНАЛІЗ ТА СИСТЕМИ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНИХ РІВНЯНЬ ЯК МОДЕЛІ ЦИКЛІЧНОГО ПЕРЕНОСУ ЕЛЕКТРОНА В РЕАКЦІЙНИХ ЦЕНТРАХ

3.1. Кінетика фото переносу електрона при різних режимах фотозбудження РЦ.

Дослідження проводили на РЦ, ізольованих з бактерій *Rhodobacter sphaeroides* дикого типу. Хроматофори бактерій солюбілізували детергентом, РЦ відділяли від інших мембранних компонентів хроматографією на колонці з гідроксиапатитом [104]. Ізольовані РЦ суспендувались в 0,01 моль Na-P буфері, рН 7,2, який містив 0,05% LDAO. Вимірювальна кювета мала розміри $3 \times 1 \times 2,5$ см при товщині стінок 2 мм. Розчин РЦ з концентрацією $\sim 10^{-6}$ моль витримувався у темноті при кімнатній температурі не менше 12 годин (темноадаптований стан). Світлоадаптований стан формувався при освітленні розчину РЦ імпульсами світла різної тривалості та інтенсивності. Відносна кількість центрів поглинання та швидкість переходу РЦ з одного стану в інший визначались за кінетикою вицвітання лінії ($\lambda = 865$ нм) спектра оптичного поглинання РЦ. Важливо відмітити, що на відміну від більшості досліджень реакцій РЦ на імпульсне збудження, у дисертаційній роботі досліджувались наслідки безперервного збудження РЦ певної тривалості та інтенсивності, оскільки лише тоді ефекти конформаційних перебудов РЦ стають істотними.

Було отримано серії експериментальних кривих кінетики переносу електрона при різних режимах фотозбудження: при фіксованому часу фотозбудження при різних інтенсивностях збуджуючого світла та при однаковій інтенсивності, але різній тривалості фотозбудження. Протокол вимірювання полягав у заданні інтенсивності, тривалості імпульсу збуджуючого світла, часового кроку вимірювань (0,1 с). Після початку вимірювання протягом перших 20 кроків вимірювалось темнове значення поглинання суспензії. Після вмикання імпульсу світла запис даних відбувався

з кроком 0,01 с при $t_{\text{exp}} < 5$ с та з заданим кроком (0,1 с) при значеннях $t_{\text{exp}} > 5$ с. Після виключення світла протягом перших 5 с запис даних відбувався з кроком 0,01 с, потім з кроком 0,1 с до досягнення темного значення поглинання суспензії РЦ, далі з кроком 1 с протягом 1500 с. Додатковий інтервал 1500 с витримується перед наступним циклом фотозбудження. Такий часовий режим вимірювань забезпечує точність апроксимації поглинання експоненціальних функцій при розмірі файлу, який впливає на час розрахунку апроксимації.

Експериментальні криві нормуються на найбільше значення поглинання у серії, у результаті чого отримуємо густину ймовірності перебування електрона на донорі РЦ. На рис. 3.1 (а, б) показано кінетику ймовірності для донора РЦ, отриману на основі експериментальної залежності показника поглинання суспензії РЦ при різних параметрах фотозбудження.

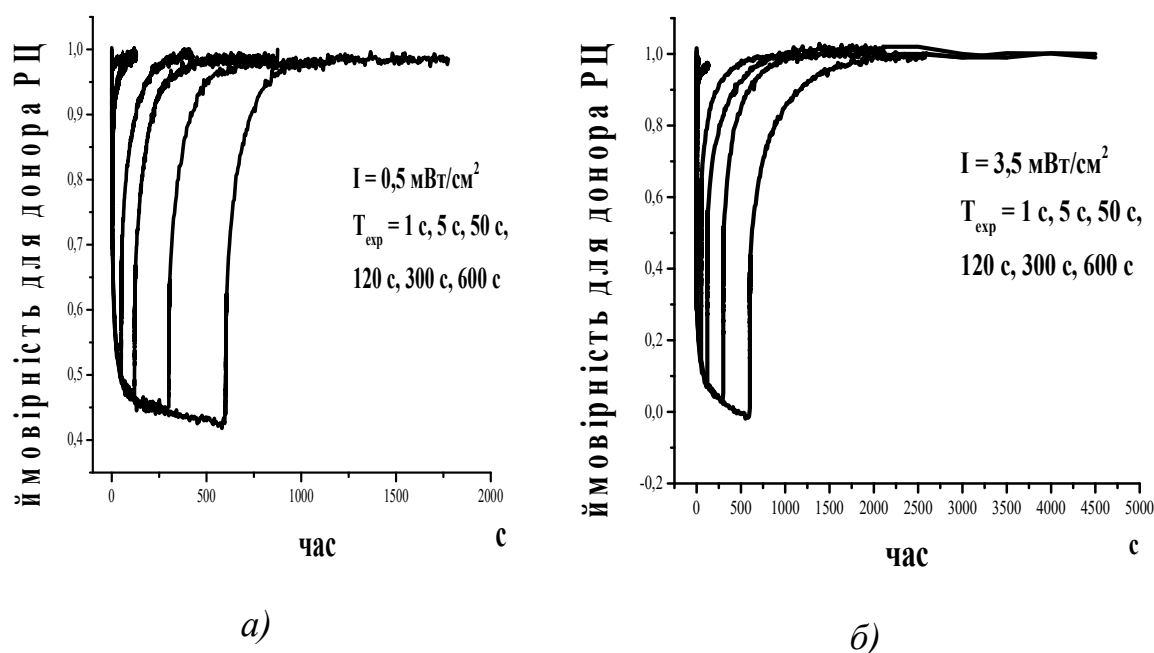


Рис. 3.1 (а, б). Кінетика ймовірності перебування електрона на донорі (заселеність) РЦ при різних режимах фотозбудження РЦ.

3.2. Результати апроксимації експериментальних результатів експоненціальними функціями

Часову залежність коефіцієнта оптичного поглинання можна представити, у вигляді розкладу на певну кількість експонент за формулою:

$$A = \sum_{i=1}^n A_i e^{-d_i t} \quad (3.1)$$

де A_i – ваговий множник, d_i – декремент експоненти в с^{-1} . Для цього використовувалась спеціальна процедура апроксимації, описана у розділі 2.3. Декремент d_1 підбирався в межах від 0,0001 до 100. Знаходилося оптимальне значення вагового передекспоненційного множника A_1 , при заданому d_1 , таким чином, щоб середньоквадратичне відхилення кривої апроксимації від експериментальної було мінімальним. Знайдені значення фіксувалися, і проводилась аналогічна процедура пошуку показників A_2 і d_2 для другої експоненти. Потім фіксувалися A_2 і d_2 і знову підбирались A_1 і d_1 . Процедура закінчувалась, коли на черговому кроці ми досягали мінімального значення для даної процедури. Тоді починався підбір A_3 і d_3 і т.д. Програма сама визначала кількість експонент, при якій похибка була найменшою. В нашому випадку результати експерименту найкраще описувались результатами апроксимації сумою трьох експонент.

Таблиця 3.1.

Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ при їх освітленні протягом 600 с з різною інтенсивністю

I, [мВт/с м ²]	d ₁ , с ⁻¹ декрем ент	A ₁ вага[відн. од]	d ₂ , с ⁻¹ декрем ент	A ₂ вага[відн. од]	d ₃ , с ⁻¹ декрем ент	A ₃ вага[відн. од]
0,5	6,466	0,2291	0,0772	0,3549	0,0002	0,4782
1,5	5,5592	0,624	0,0748	0,2349	0,0033	0,3151
3,5	8,458	0,713	0,03	0,174	0,004	0,165

Експериментальні криві можна розділити на 2 частини: 1) яка відповідає процесу окислення донора (фотоактивація РЦ) та 2) яка відповідає процесу відновлення донора електронів (релаксація РЦ). Кожна частина гарно апроксимується сумою трьох експоненціальних складових з додатними ваговими коефіцієнтами та від'ємними значеннями декрементів. У результаті апроксимації для різних режимів фотоактивації були отримані дані, які приведені в таблицях 3.1–3.4.

Таблиця 3.2.

Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ після вимкнення фотозбуджуючого світла різної тривалості з інтенсивністю 0.5 мВт/см²

T_{ex} р, [с]	$d_1, \text{с}^{-1}$ декреме нт	A_1 вага[відн. од]	$d_2, \text{с}^{-1}$ декреме нт	A_2 вага[відн. од]	$d_3, \text{с}^{-1}$ декреме нт	A_3 вага[відн. од]
600	1,1917	0,2225	0,078	0,1756	0,0085	0,6732
300	17,476	0,0523	0,9109	0,2285	0,012	0,7049
120	0,9574	0,2421	0,0175	0,6043	0,0016	0,0776
50	2,4393	0,1893	0,2575	0,2173	0,0128	0,5732
5	3,1281	0,3063	0,4192	0,3577	0,0212	0,3061
1	2,6678	0,4125	0,6241	0,4105	0,0169	0,1293

Таблиця 3.3.

Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ після вимкнення фотозбуджуючого світла з інтенсивністю 1,5 мВт/см²

T _{ex} р, [с]	d ₁ , с ⁻¹ декреме нт	A ₁ вага[відн. од]	d ₂ , с ⁻¹ декреме нт	A ₂ вага[відн. од]	d ₃ , с ⁻¹ декреме нт	A ₃ вага[відн. од]
600	1,0265	0,3696	0,0174	0,222	0,0013	0,408
300	1,0163	0,4003	0,0239	0,1658	0,0019	0,4181
120	6,5306	0,082	0,6759	0,4778	0,0055	0,4364
50	0,9574	0,5996	0,1083	0,1277	0,0029	0,2066
5	2,4151	0,2847	0,5998	0,61	0,0098	0,0779
1	3,421	0,1912	0,7392	0,6922	0,0933	0,0852

Аналіз таблиць 3.2–3.4 показав (рис. 3.3), що параметри найповільнішої експоненціальної компоненти кінетики поглинання РЦ після вимкнення світла можна пов'язати зі структурними змінами при фотозбудженні РЦ. Інші компоненти кінетики мають неоднозначну залежність параметрів для різних режимів фотозбудження РЦ, їх роль потребує уточнення.

Таблиця 3.4.

Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ після вимкнення фотозбуджуючого світла з інтенсивністю 3,5 мВт/см²

T _{exp} , [с]	d ₁ , с ⁻¹ декремент	A ₁ Вага [відн.од]	d ₂ , с ⁻¹ декремент	A ₂ Вага [відн.од]	d ₃ , с ⁻¹ декремент	A ₃ Вага [відн.од]
600	16,4643	0,1063	1,1917	0,2715	0,0041	0,5965
300	12,2189	0,1591	1,2278	0,292	0,0062	0,5463
120	13,2303	0,1665	1,1917	0,2886	0,005	0,5237
50	13,6309	0,0866	0,9864	0,4556	0,0079	0,4384
5	4,0919	0,3601	0,6058	0,5066	0,008	0,1115
1	6,402	0,2813	0,8412	0,6428	0,075	0,076

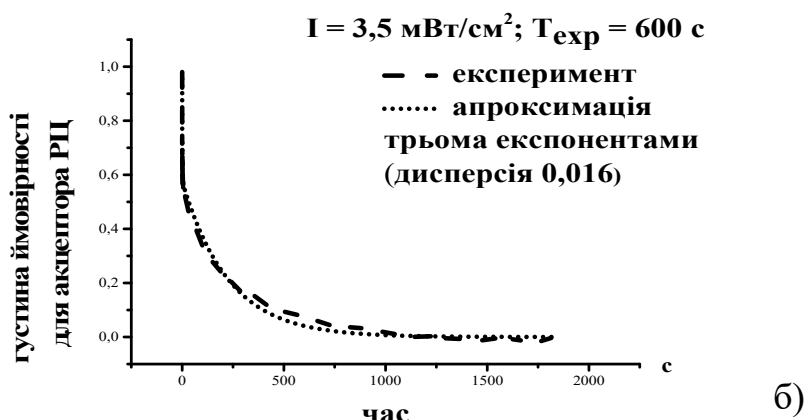
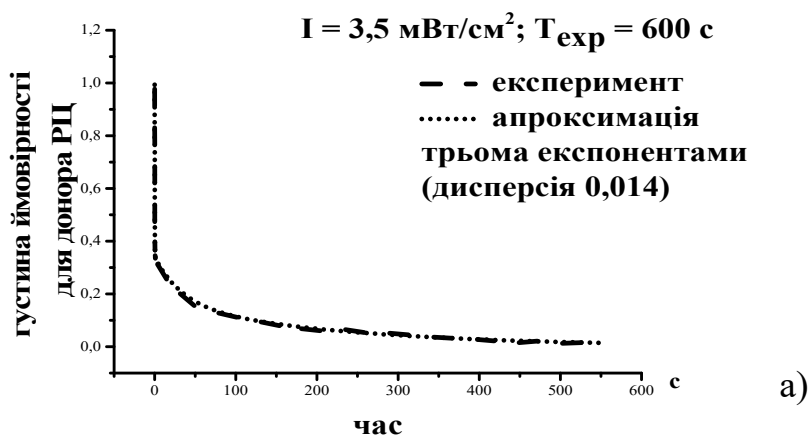


Рис. 3.2. Апроксимація експериментальної кінетики густини ймовірності:
 а) донора при фотозбудженні РЦ; б) акцептора після фотозбудження РЦ.

Апроксимація кінетики заселеності донора та акцептора при фотозбудженні РЦ за допомогою трьох експоненціальних функцій, кількість яких відповідає мінімуму середньоквадратичної похибки показана на рис. 3.2. Ці дані показують, що кінетика заселеності донора при його освітленні може бути так само як при релаксації добре апроксимована трьома експоненціальними функціями.

Розраховані параметри експоненціальної функції (декремент, вага) для різних режимів фотоактивації РЦ (таблиці 3.1–3.4) були використані для подальшого вейвлет-аналізу та при побудові системи диференціальних рівнянь електронного транспорту РЦ.

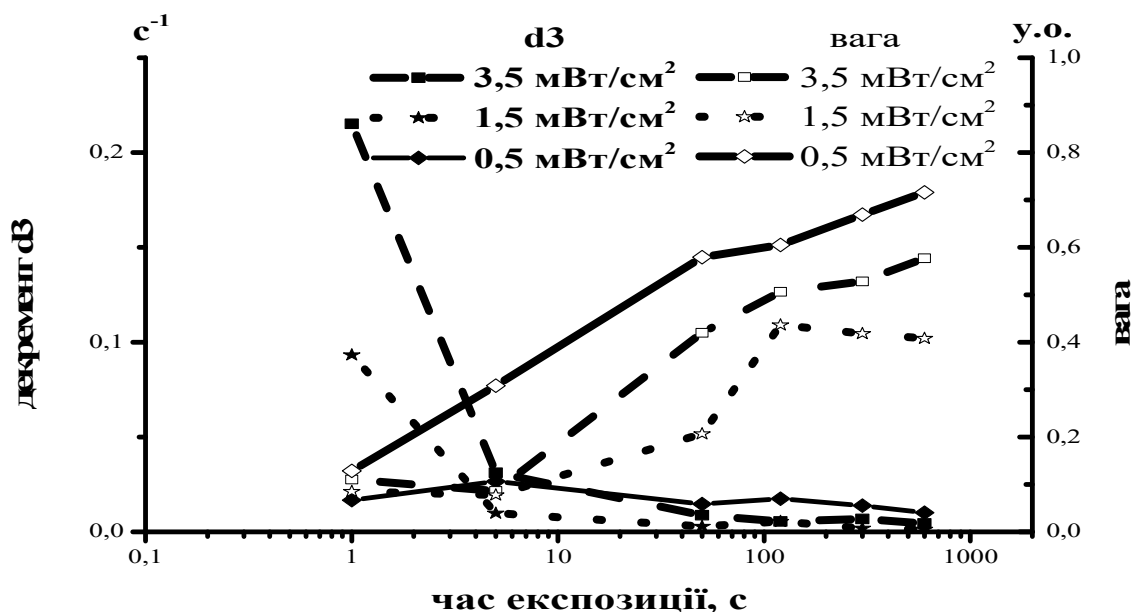


Рис. 3.3. Значення декременту і ваги повільної експоненціальної компоненти кінетики рекомбінації електрона РЦ з різними параметрами фотозбудження.

3.3. Аналіз дворівневої системи переносу електрона в РЦ

Для аналізу процесів, характерні часи релаксації яких суттєво перевищують час життя фотоелектрона $\sim 10^{-4}$ с, використовують дворівневу схему. У відповідності з цією моделлю РЦ знаходяться в основному стані 0, коли електрон локалізований на донорі Р. При поглинанні кванта світла, РЦ переходить у збуджений стан, а електрон переміщується на акцептор Q_b – стан 1. Кінетика процесу в такій моделі задається швидкостями прямого (k_{01}) та оберненого (k_{10}) переходів. На рис. 3.4 наведено діаграму для опису такої моделі.

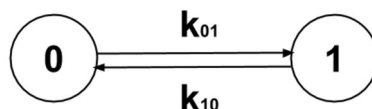


Рис. 3.4. Дворівнева кінетична схема переносу електрона в РЦ.

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

$$\frac{dp(t)}{dt} = -k_{01}(I) \cdot p(t) + k_{10}(I, t) \cdot (1 - p(t)); \quad (3.2)$$

$$p(t) + q(t) = 1, \quad (3.3)$$

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

Кінетика переносу електрона в такій моделі задається постійним коефіцієнтом швидкості прямого ($k_{01}(I)$) і коефіцієнтом 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 ($I_0 = 0$):

$$\frac{dq(t)}{dt} = -k_{10}^T(t) \cdot q(t); \quad (3.4)$$

$$\frac{1}{q(t)} \cdot \frac{dq(t)}{dt} = -k_{10}^T(t). \quad (3.5)$$

Вираз $\frac{1}{q(t)} \cdot \frac{dq(t)}{dt}$ – логарифмічна похідна ймовірності $q(t)$ знаходження електрона на акцепторі (рис. 3.5). Залежність $k_{10}^T(t)$ пов'язана зі структурними змінами РЦ, 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.

Таким чином, структурні зміни РЦ відбуваються за рахунок електростатичного поля, що виникає в результаті збільшення енергетичної

щільності між Q_a і Q_b . Процес переносу електрона циклічний. Чим довше електрон перебуває на акцепторі, тим сильніше проявляються деформації.

$$K(t) = \frac{A'(t)}{A(t)} = |-k'(t) \cdot t - k(t)|, \quad (3.6)$$

де $K(t)$ – декремент, $A(t) = v \cdot \exp(-k(t) \cdot t)$ – коефіцієнт поглинання. Різним значенням k відповідає різний ступінь структурних змін.

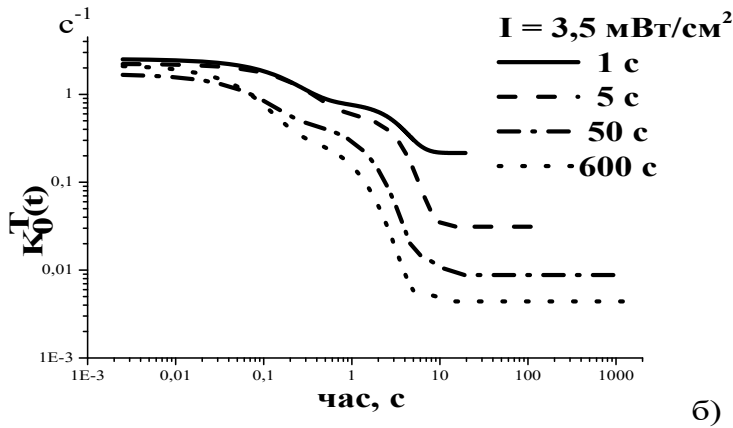
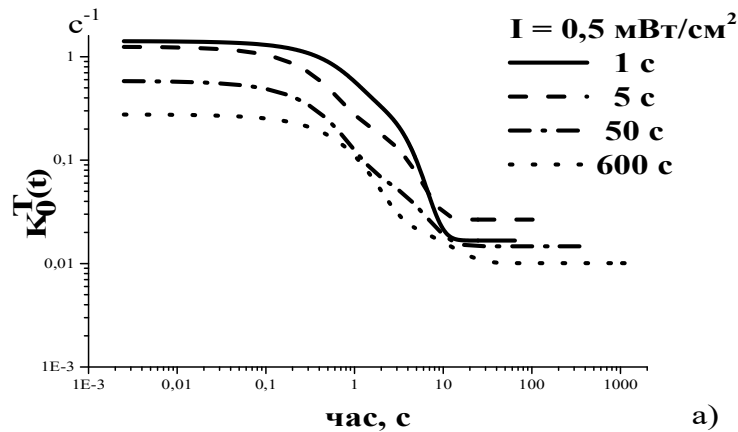
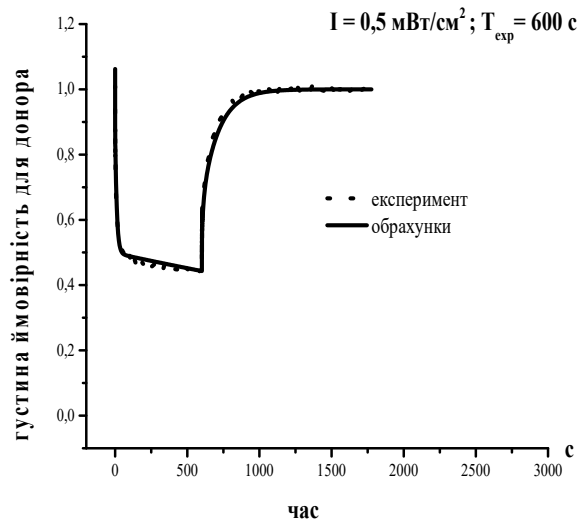


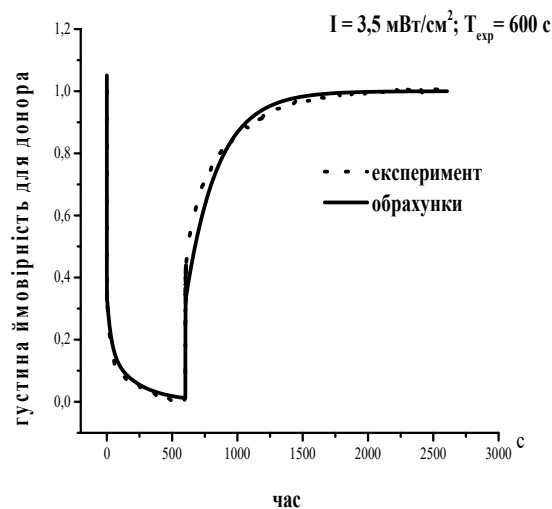
Рис. 3.5. Константи швидкості $k_{10}^T(t)$ переносу електрона з акцептора (Q) на донор (P) до (а) та після (б) вимкнення світла для різних параметрів фотозбудження РЦ.

Часова залежність константи швидкості $k_{10}^T(t)$ оберненого електронного транспорту з акцептора на донор у процесі релаксації наведено на рис. 3.5. Вона має S-подібний характер з трьома характерними ділянками. Значення

константи у початковий і кінцевий моменти часу релаксації відрізняються між собою на порядок. Це говорить про те, що дворівнева система з постійними параметрами електронного транспорту не відповідає експериментальним даним, хоча модифіковані розв'язки цієї моделі використовуються часто.



a)



б)

Рис. 3.6. Експериментальна кінетика ймовірності для донора РЦ (1-й підстан) і розраховані дані кінетики заселеності донора РЦ, отримані при розв'язанні систем диференціальних рівнянь.

Як було зазначено вище, в оптимізаційній задачі визначення коефіцієнтів двох систем диференціальних рівнянь (двох етапів електронного транспорту) в якості цільової функції використовували параметри

експоненціальних складових кінетики окремо для процесу окислення донора РЦ та окремо для процесу його відновлення (релаксації РЦ).

Розв'язок диференціальних рівнянь дає кінетику заселеності підстанів РЦ. Порівняння розрахованої заселеності донора РЦ з експериментальними даними (рис. 3.6) при різних режимах фотозбудження РЦ показує їх задовільне співпадіння. Це дозволяє розглядати РЦ як систему з 4-х електрон-конформаційних підстанів. Далі буде наведено детальний аналіз такої системи.

Передбачається, що дослідження цих характеристик дає інформацію про електронно-конформаційні процеси в РЦ [124–127]. Дослідження [125, 127] показали, що швидкість переходу оптичного електрона з донора на акцептор (k_{01}) пропорційна інтенсивності збуджуючого світла I_0 і, відповідно, справедливим є представлення:

$$k_{01} = I_0 \alpha, \quad (3.7)$$

де α – коефіцієнт екстинкції, що не залежить від часу.

У запропонованій моделі особливості кінетики РЦ описуються за допомогою моделювання швидкості (k_{10}) оберненого переходу. Передбачається, що ця швидкість залежить від часу. Кінетика процесів, що відбуваються в РЦ під дією світла, може бути описана рівнянням:

$$\frac{dp(t)}{dt} = I_0 \cdot \alpha \cdot p(t) + k_{10}(t) \cdot (1 - p(t)) \quad (3.8)$$

У якості початкової умови використовується:

$$P(0) = 1. \quad (3.9)$$

Ця умова відповідає тому, що до моменту включення світла усі електрони знаходились на донорі. Процеси, що відбуваються в комплексі РЦ, при виключенні освітлення описуються рівнянням, аналогічним (3.8):

$$\frac{dq(t)}{dt} = -k_{10}^T(t) \cdot q(t), \text{ та } q(0) = q_0, \quad (3.10)$$

де параметр $k_{10}^T(t)$ характеризує швидкість переходу електронів з акцептора (Q_b) на донор (P) при вимкненому освітленні; $q(t)$ – ймовірність відсутності електрона на донорі РЦ; параметр q_0 – описує відсутність електронів на донорі у момент вимикання збуджуючого світла і залежить від параметрів збуджуючого світла та температури зразка.

Співвідношення, аналогічне (3.10), може бути записане і для поглинання $A(t)$ розчину РЦ, яке вимірюється експериментально:

$$k_{10}^T(t) = \frac{\frac{dA(t)}{dt}}{(A(0)-A(t))}. \quad (3.11)$$

Для опису процесів електронного транспорту в РЦ використовується 2-рівнева модель. Балансні рівняння для моделі з постійними коефіцієнтами:

$$\begin{aligned} \frac{dX_0}{dt} &= -k_{01}X_0 + k_{10}X_1, \\ \frac{dX_1}{dt} &= k_{01}X_0 - k_{10}X_1, \\ X_0 + X_1 &= 1. \end{aligned} \quad (3.12)$$

Експериментальні криві кінетики електронного транспорту РЦ гарно апроксимується сумою трьох експонент з постійними декрементами. Для цього випадку система 2 рівнянь з постійними коефіцієнтами не підходить, так-як вона має розв'язок у вигляді однієї експоненти. Можливі такі моделі системи: 1) з двома станами зі змінними в часі коефіцієнтами; 2) з чотирма станами з постійними коефіцієнтами.

Балансні рівняння для моделі зі змінними коефіцієнтами:

$$k_{01}(t), k_{10}(t), k_{01} = \alpha I. \quad (3.13)$$

Якщо $I = \text{const}$, то $k_{01} = \text{const}$.

$$\begin{aligned}
k_{01}(t) &= \frac{\frac{dX_0(0)}{dt}}{X_0(0)}, \\
k_{10}(t) &= \frac{\frac{dX_0(t)}{dt} + k_{01}X_0(t)}{1 - X_0(t)}, \\
k_{10}(t) &= \frac{\frac{dX_0(t)}{dt} + \frac{\frac{dX_0(0)}{dt}}{X_0(0)}X_0(t)}{1 - X_0(t)}.
\end{aligned} \tag{3.14}$$

Далі наведено детальний аналіз системи балансних рівнянь.

3.4. Вейвлет-аналіз кінетики релаксації РЦ

Наступним кроком дослідження було неперервне вейвлет перетворення експериментальних кривих. Застосування вейвлет-аналізу зумовлене недоліками фітування та аналізу за допомогою Фур'є-перетворень. Релаксаційні криві РЦ нестаціонарні. При аналізі нестаціонарних сигналів необхідна часова локалізація, так як кожна конкретна частота може бути присутньою в них не глобально, а локально, лише на деякому проміжку. Аналіз Фур'є не дозволяє отримати частотно-часове зображення сигналу. Вейвлет-аналіз дозволяє знайти певні особливості S-подібних кривих, такі як критичні точки, тобто точки, в яких відбуваються зміни частотних складових сигналу.

Було протестовано три види вейвлетів: wave, Mhat та комплексний вейвлет Морле (Morlet). За допомогою аналізу тестових кривих можна визначити, до яких особливостей кривих чутливий кожен з розглянутих вейвлетів та підібрати вейвлет для аналізу кінетики електронного транспорту у реакційних центрах.

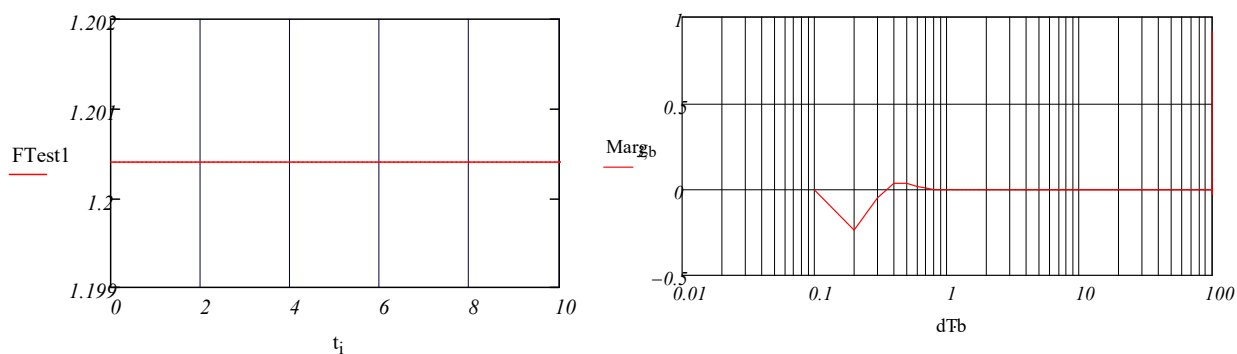
Для дослідження експериментальних кривих релаксації РЦ найбільше підходить комплексний вейвлет Морле, який має комплексну форму та виражається у вигляді «мексиканського капелюха», помноженого на експоненту:

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

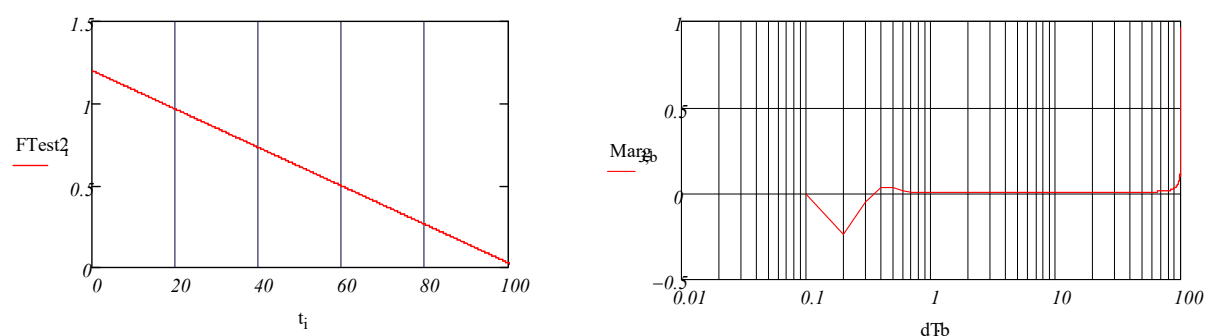
Переваги вейвлету Морле:

- Добре пристосований до аналізу квазіперіодичних процесів.
- Дозволяє наочно представити результати аналізу та легко інтерпретувати їх в термінах аналізу Фур'є.
- Неперервне вейвлет перетворення Морле може бути використано для локалізації і класифікації особливих точок, частотно-часового аналізу нестационарних сигналів.

На рис. 3.8 та рис. 3.9 наведено декременти ($FTest_i(t_i)$) тестових кривих та їх вейвлетні спектри ($Marg_b(dTb)$).



a)



б)

Рис. 3.7. (а, б). Декременти тестових кривих та їх вейвлетні спектри.

Якщо закон декременту кривої не змінюється в часі (тестові криві *a-b* на рис. 3.7 та *a* на рис. 3.8), то вейвлетний спектр такої кривої не має виражених особливостей (крім граничних умов). У випадку гіперболічної залежності кривої (тестова крива *б* на рис. 3.8), маємо куполоподібний вейвлетний спектр. Тестова крива *в* на рис. 3.8 має декілька “сходинок”, що відповідають змінам залежності декременту цієї кривої. Вейвлетний спектр у місцях зміни залежності кривої має чітко виражені піки.

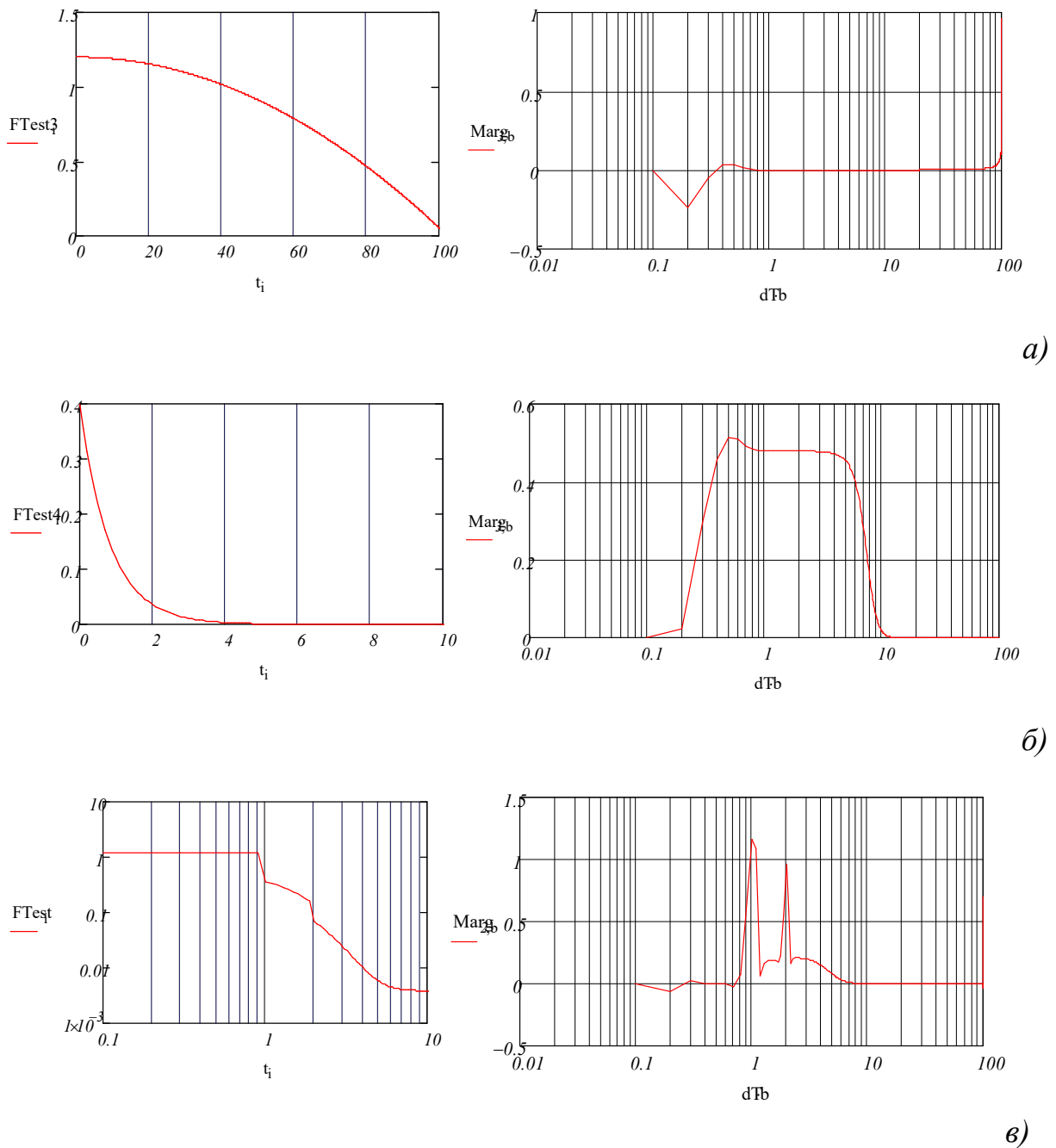


Рис. 3.8. (*a*, *б*, *в*). Декременти тестових кривих та їх вейвлетні спектри.

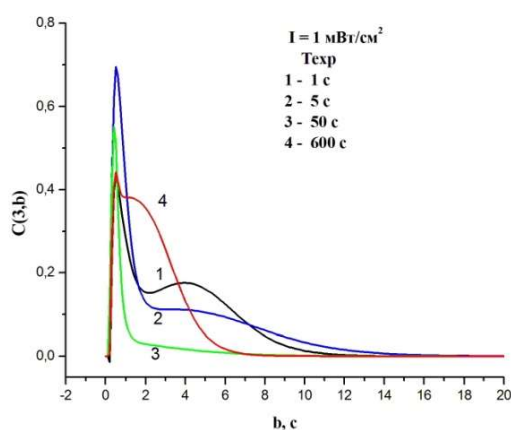
Аналіз експериментальних кривих показує, що існує певна часова залежність декременту $K(t)$, так як вейвлетні спектри релаксаційних кривих мають виражені особливості. Проаналізуємо вигляд вейвлетних спектрів тестових кривих та проведемо аналогію зі спектрами експериментальних кривих релаксації. Перший пік на вейвлетних спектрах релаксаційних кривих можна співставити з піками на вейвлетному спектрі тестової кривої b на рис. 3.8.

Припускаємо, що спочатку, після виключення світла, існує швидкий канал релаксації, але він швидко вигорає (протягом першої секунди). Перший пік є закінченням дії швидкого каналу релаксації. Далі вмикається повільний канал релаксації. Другий пік не виражений, розмитий, має куполоподібний вигляд, аналогічно до спектру тестової кривої b (рис. 3.8). Цю особливість можна пов'язати з набором зсувів експонент – по черговим їх включенням, або релаксаційні криві на цьому проміжку проявляють таку ж функціональну залежність, яку має тестова крива b (рис. 3.8). Для різних інтенсивностей та часу експозиції другий пік має різний вигляд, тоді як перший пік однаковий. Якісні відмінності вейвлетних спектрів релаксаційних кривих, залежно від часу експозиції, свідчать про якісні зміни стану фотоцентрів.

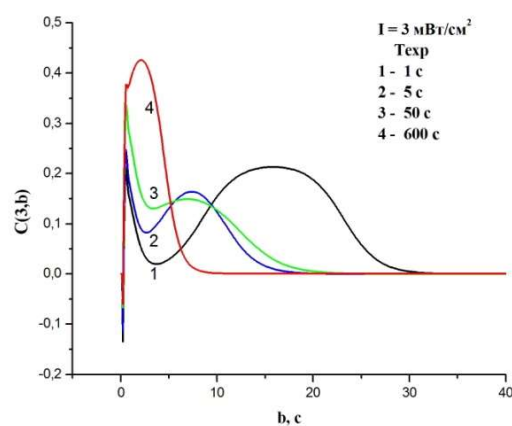
Було проаналізовано декілька серій експериментальних кривих за різної інтенсивності збуджуючого світла (інтенсивність 100, 300, 700 одиниць, що відповідає 1 мВт/см², 3 мВт/см², 7 мВт/см² відповідно) та для різних значень часу експозиції (1 с, 5 с, 10 с, 20 с, 30 с, 40 с, 50 с, 60 с, 90 с, 120 с, 300 с, 600 с).

На рис. 3.9 наведено вейвлет-спектри релаксаційних кривих РЦ при інтенсивності світла 1 мВт/см², 3 мВт/см², 7 мВт/см² та часу експозиції 1 с, 5 с, 50 с, 600 с, параметр вейвлет-перетворення $a = 3$.

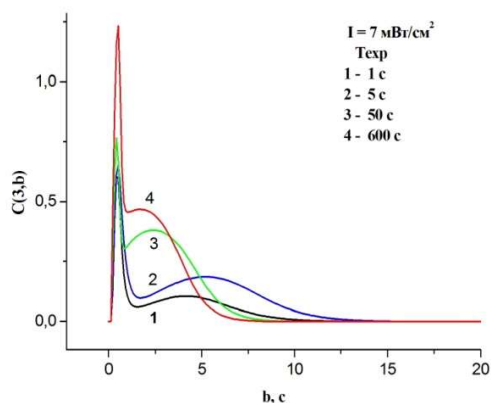
Як видно з аналізу вейвлет-спектрів, швидкість релаксації структурних змін в РЦ після 10 с мало змінюється в часі та залежить від інтенсивності збуджуючого світла та часу експозиції.



а)



б)



в)

Рис. 3.9. Вейвлет-спектри релаксаційних кривих РЦ. Інтенсивність світла 1 мВт/см², 3 мВт/см², 7 мВт/см², час експозиції 1 с, 5 с, 50 с, 600 с, $a = 3$.

Наявність максимумів заселеності підсистем РЦ дозволяє говорити про наявність протилежних процесів в кінетиці підстанів при їх фотозбудженні та релаксації. Такі процеси можуть бути обумовлені структурними змінами в РЦ при фотостимульованому переносі заряду. НВП кінетики переносу електрона в РЦ дозволяє виявити виражені особливості (рис. 3.16) 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 можуть сильно відрізнятись між собою. 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.

3.5. Чотирирівнева система переносу електрона

Для стаціонарного процесу переносу електрона РЦ можливо використовувати систему з чотирьох диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами.

Аналіз різних ділянок (окислення, відновлення донора) кінетичних кривих при різних режимах фотостимулювання РЦ показав, що експериментальні криві добре апроксимуються сумою з трьох експонент. Відомо, що система з N однорідних диференціальних рівнянь має розв'язок у вигляді суми $N-1$ експоненціальних складових [128]. Можна зробити припущення, що кінетичні криві, представлені у вигляді суми трьох експоненціальних складових, можуть відповідати розв'язку системи з $(3+1)$ диференціальних рівнянь з деякими значеннями кінетичних констант. Загальний вигляд кінетичної схеми перенесення електрона РЦ показано на рис. 3.10, де цифри позначають електрон-конформаційні підстани РЦ. Підстан (0) відповідає перебуванню електрона на донорі РЦ. Підстани $(1, 2, 3)$ відповідають перебуванню електрона на акцепторі РЦ.

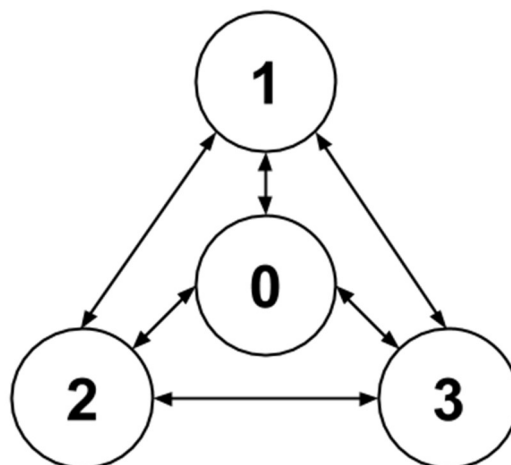


Рис. 3.10. Кінетична схема електронного транспорту в РЦ *Rhodobacter sphaeroides*. Стрілки відображають електронно-конформаційну взаємодію комплексу РЦ. Кінетичні константи (12 констант) диференціальних рівнянь пов'язані зі стрілками і відображають перенесення заряду між станами РЦ.

Розв'язок системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами виражається у вигляді суми різних експоненціальних функцій, якщо 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.

Була обрана модель системи з чотирма станами з постійними коефіцієнтами k_{ij} . Так-як система з трьома станами зі змінними в часі коефіцієнтами складніша, бо ми не знаємо часових залежностей мікрошвидкостей і не можемо отримати ці дані з експерименту. Розгляд системи з чотирма станами з постійними коефіцієнтами при різних режимах фотозбудження дасть можливість отримати ці часові залежності.

Отже, була вибрана модель електронного транспорту з чотирма станами системи РЦ, якій відповідає система із трьох кінетичних диференціальних балансних рівнянь з постійними коефіцієнтами та рівняння стану:

$$\begin{cases} \frac{dx_0}{dt} = (-k_{01} - k_{02} - k_{03})x_0 + k_{10}x_1 + k_{20}x_2 + k_{30}x_3 \\ \frac{dx_1}{dt} = k_{01}x_0 + (-k_{10} - k_{12} - k_{13})x_1 + k_{21}x_2 + k_{31}x_3 \\ \frac{dx_2}{dt} = k_{02}x_0 + k_{12}x_1 + (-k_{20} - k_{21} - k_{23})x_2 + k_{32}x_3 \\ x_0 + x_1 + x_2 + x_3 = 1 \end{cases} \quad (3.16)$$

Розв'язок цієї системи знаходимо матричним способом. Виразивши з останнього рівняння $x_3 = 1 - x_0 - x_1 - x_2$ і підставивши цей вираз в інші рівняння отримаємо:

$$\begin{cases} \frac{dx_0}{dt} = (-k_{01} - k_{02} - k_{03} - k_{30})x_0 + (k_{10} - k_{30})x_1 + (k_{20} - k_{30})x_2 + k_{30} \\ \frac{dx_1}{dt} = (k_{01} - k_{31})x_0 + (-k_{10} - k_{12} - k_{13} - k_{31})x_1 + (k_{21} - k_{31})x_2 + k_{31} \\ \frac{dx_2}{dt} = (k_{02} - k_{32})x_0 + (k_{12} - k_{32})x_1 + (-k_{20} - k_{21} - k_{23} - k_{32})x_2 + k_{32} \end{cases} \quad (3.17)$$

Зробимо заміну змінних: $\begin{cases} y_0 = x_0 + h_0 \\ y_1 = x_1 + h_1 \\ y_2 = x_2 + h_2 \end{cases}$ тоді система перепишеться так:

$$\begin{cases} \frac{dy_0}{dt} = (y_0 - h_0)a_{00} + (y_1 - h_1)a_{01} + (y_2 - h_2)a_{02} + k_{30} \\ \frac{dy_1}{dt} = (y_0 - h_0)a_{01} + (y_1 - h_1)a_{11} + (y_2 - h_2)a_{12} + k_{31}, \\ \frac{dy_2}{dt} = (y_0 - h_0)a_{02} + (y_1 - h_1)a_{12} + (y_2 - h_2)a_{22} + k_{32} \end{cases} \quad (3.18)$$

де

$$\begin{array}{lll} a_{00} = -k_{01} - k_{02} - k_{03} - k_{30} & a_{01} = k_{10} - k_{30} & a_{02} = k_{20} - k_{30} \\ a_{10} = k_{01} - k_{31} & a_{11} = -k_{10} - k_{12} - k_{13} - k_{31} & a_{12} = k_{21} - k_{31} \\ a_{20} = k_{02} - k_{32} & a_{21} = k_{12} - k_{32} & a_{22} = -k_{20} - k_{21} - k_{23} - k_{32} \end{array} .$$

$$\begin{cases} k_{30} = h_0 a_{00} + h_1 a_{01} + h_2 a_{02} \\ k_{31} = h_0 a_{10} + h_1 a_{11} + h_2 a_{12}, \\ k_{32} = h_0 a_{20} + h_1 a_{21} + h_2 a_{22} \end{cases} \quad (3.19)$$

$$\begin{cases} h_0 = \frac{\Delta_0}{\Delta} \\ h_1 = \frac{\Delta_1}{\Delta}, \\ h_2 = \frac{\Delta_2}{\Delta} \end{cases} \quad (3.20)$$

$$\Delta = \begin{vmatrix} a_{00} & a_{01} & a_{02} \\ a_{10} & a_{11} & a_{12} \\ a_{20} & a_{21} & a_{22} \end{vmatrix}, \Delta_0 = \begin{vmatrix} k_{30} & a_{01} & a_{02} \\ k_{31} & a_{11} & a_{12} \\ k_{32} & a_{21} & a_{22} \end{vmatrix},$$

$$\Delta_1 = \begin{vmatrix} a_{00} & k_{30} & a_{02} \\ a_{10} & k_{31} & a_{12} \\ a_{20} & k_{32} & a_{22} \end{vmatrix}, \Delta_2 = \begin{vmatrix} a_{00} & a_{01} & k_{30} \\ a_{10} & a_{11} & k_{31} \\ a_{20} & a_{21} & k_{32} \end{vmatrix}, \quad (3.21)$$

$$\begin{cases} \frac{dy_0}{dt} = a_{00}y_0 + a_{01}y_1 + a_{02}y_2 \\ \frac{dy_1}{dt} = a_{10}y_0 + a_{11}y_1 + a_{12}y_2 \\ \frac{dy_2}{dt} = a_{20}y_0 + a_{21}y_1 + a_{22}y_2 \end{cases} \quad (3.22)$$

Шукаємо розв'язок у вигляді : $y_1 = \alpha_1 e^{dt}, y_2 = \alpha_2 e^{dt}, y_3 = \alpha_3 e^{dt}$, підставивши в систему отримаємо:

$$\begin{cases} d\alpha_0 e^{dt} = (a_{00}\alpha_0 + a_{01}\alpha_1 + a_{02}\alpha_2)e^{dt} \\ d\alpha_1 e^{dt} = (a_{10}\alpha_0 + a_{11}\alpha_1 + a_{12}\alpha_2)e^{dt} \\ d\alpha_2 e^{dt} = (a_{20}\alpha_0 + a_{21}\alpha_1 + a_{22}\alpha_2)e^{dt} \end{cases} \quad (3.23)$$

$$\begin{cases} (a_{00} - d)\alpha_0 + a_{01}\alpha_1 + a_{02}\alpha_2 = 0 \\ a_{10}\alpha_0 + (a_{11} - d)\alpha_1 + a_{12}\alpha_2 = 0 \\ a_{20}\alpha_0 + a_{21}\alpha_1 + (a_{22} - d)\alpha_2 = 0 \end{cases} \quad (3.24)$$

$$\Delta(d) = \begin{vmatrix} (a_{00} - d) & a_{01} & a_{02} \\ a_{10} & (a_{11} - d) & a_{12} \\ a_{20} & a_{21} & (a_{22} - d) \end{vmatrix} = 0. \quad (3.25)$$

Маємо характеристичне рівняння, отримавши його корені k_1, k_2, k_3 отримаємо загальний розв'язок системи:

$$\begin{cases} y_1 = C_1 \alpha_1^{(1)} e^{d_1 t} + C_2 \alpha_1^{(2)} e^{d_2 t} + C_3 \alpha_1^{(3)} e^{d_3 t} \\ y_2 = C_1 \alpha_2^{(1)} e^{d_1 t} + C_2 \alpha_2^{(2)} e^{d_2 t} + C_3 \alpha_2^{(3)} e^{d_3 t} \\ y_3 = C_1 \alpha_3^{(1)} e^{d_1 t} + C_2 \alpha_3^{(2)} e^{d_2 t} + C_3 \alpha_3^{(3)} e^{d_3 t} \end{cases} \quad (3.26)$$

де C_1, C_2, C_3 – сталі, які знаходяться по заданим початковим умовам для процесу окислення і відновлення.

Початкові умови для розрахунку заселеності підстанів 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 заселеностей $X_0(t_{exp}), X_1(t_{exp}), X_2(t_{exp}), X_3(t_{exp})$ у момент закінчення процесу фотозбудження. Як відомо фізичний зміст мають саме мікрошвидкості (k_{ij}) та заселеності, а не декременти чи передекспоненційні множники. Декременти (d_i) дорівнюють власним значенням матриць

коефіцієнтів диференціальних рівнянь для процесів фотозбудження і релаксації РЦ. При цьому визначник обернених матриць констант диференціальних рівнянь не повинен дорівнювати нулю. Це накладає обмеження на початкові значення констант диференціальних рівнянь (рис. 3.11 а, б), які використовуються у процесі оптимізації.

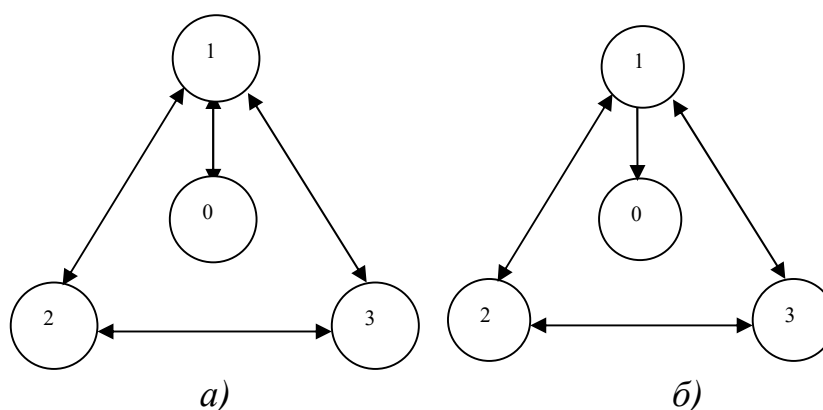


Рис. 3.11. Початкова кінетична схема процесу оптимізації. Крок зміни констант dk_{01} , $dk_{10}=0.01 \text{ c}^{-1}$, $dk_{ij}=10^{-4} \text{ c}^{-1}$ (для $k_{ij} \neq 0$). Окислення донора (рис.3.11а), початкові значення констант диференціальних рівнянь: $k_{02} = k_{03}=0$, $k_{01}=k_{10}=0.01 \text{ c}^{-1}$, $k_{20}=k_{30}=k_{21}=k_{31}=10^{-8} \text{ c}^{-1}$, $k_{12}=k_{13}=k_{22}=k_{23}=10^{-9} \text{ c}^{-1}$. Відновлення донора (рис.3.11.б), початкові значення констант диференціальних рівнянь: $k_{02}=k_{03}=k_{01}=0$, $k_{10}=0.01 \text{ c}^{-1}$, $k_{20}=k_{30}=k_{21}=k_{31}=10^{-8} \text{ c}^{-1}$, $k_{12}=k_{13}=k_{22}=k_{23}=10^{-9} \text{ c}^{-1}$.

Спочатку в процесі оптимізації знаходили значення констант диференціальних рівнянь для процесу фотозбудження електрона РЦ. Для цього використовували початкові значення констант k_{ij} , розв'язували пряму задачу і знаходили значення параметрів експоненціальних складових загального рівняння системи диференціальних рівнянь, в тому числі для підсистеми РЦ (0). Маючи експериментальні та розраховані значення параметрів експоненціальних складових (0), визначали їх середньоквадратичну різницю, яка використовувалась у якості критерію оптимізації. Оптимізували значення k_{01} при незмінних значеннях інших констант. Оптимізували значення k_{10} при фіксованому значенні k_{01} та

незмінних значеннях інших констант. Потім оптимізували значення інших констант шляхом послідовного перебору констант k_{02} , k_{20} , k_{03} , k_{30} , k_{12} , k_{21} , k_{13} , k_{31} , k_{23} , k_{32} про оптимальних значеннях k_{01} та k_{10} . Перебір значень констант йшов з заданим кроком у подвійному діапазоні значень найбільшого декремента, так як цільова функція характеризувалась багатьма локальними мінімумами. Цю процедуру повторювали для k_{ij} 50 разів, реєстрували набір значень k_{ij} з найменшою похибкою. Знаходили розв'язок системи диференціальних рівнянь з оптимальним набором констант, визначали заселеність підстанів для процесу фотозбудження РЦ. Цей розв'язок використовували в якості початкових умов для процесу релаксації РЦ. Подібним чином розв'язувалась задача знаходження значень k_{ij} для процесу релаксації РЦ, для якого використовували свій набір параметрів експоненціальних складових кінетики рекомбінації електрону.

YBar-2011 Определение микроскоростей $k_{i,j}$ -для -RC(4 уровня)

Техр number: 0

Останов = нажать клавишу Q

параметры экспериментальной кривой

	k1	Ves1	k2	Ves2	k3	Ves3
Окисл НачД	-0	0	-0	0	-0	0
Окисл Расчет	0	0	0	0	0	0
Восстанов НачД	0	0	0	0	0	0
Восстанов Расчет	-0	-0	-0	-0	-0	-0

начальные параметры процесса оптимизации

i-j	1-2	2-1	1-3	3-1	1-4	4-1	2-3	3-2	2-4	4-2	3-4	4-3
Koij	0.01	0.01	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000
dKij	0.1	0.01	0.001	0.001	0.0011	0.0011	0.001	0.001	0.0011	0.0011	0.001	0.0011

выходные параметры

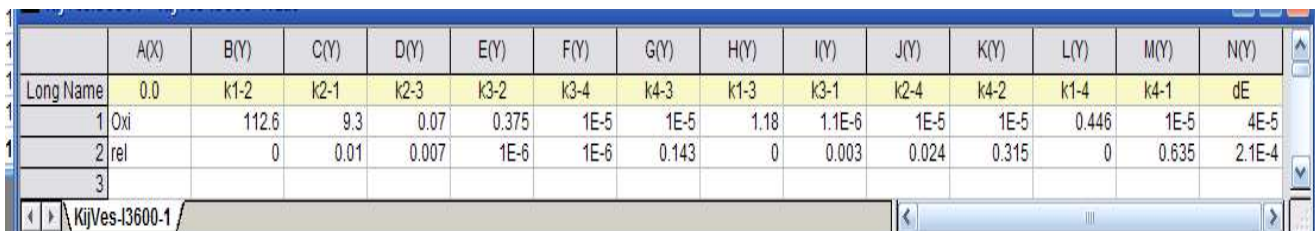
	k1-2	k2-1	k2-3	k3-2	k3-4	k4-3	k1-3	k3-1	k2-4	k4-2	k1-4	k4-1
Окисл	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Восстанов	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Расчет Save K(i,j) Добавить Очистка Save File No delta1 T=f(1°) Close

Рис. 3.12. Меню програми «розрахунку констант системи диференціальних рівнянь».

Експериментальна залежність кінетики фотостимульованого електронного транспорту, представлена у вигляді суми експоненціальних складових. Сигнал має вигляд двох колонок з точкою в якості символу розділення цілої та дробової частин. В першій колонці подано часову частину (вісь-Х) в секундах, друга колонка – амплітуда сигналу в довільних одиницях.

Для запуску програми розрахунків необхідно в лівому полі верхньої таблиці ввести час закінчення експозиції РЦ у цифровому коді. У другій таблиці вгорі у вільному рядку вводять значення декрементів (зі знаком «мінус») в діапазоні $0,0001\text{--}50\text{ c}^{-1}$ та вагів (зі знаком «плюс») для процесу окислення донора РЦ. У передостанньому вільному рядку для процесу релаксації вводять для процесу релаксації значення декрементів та вагів (всі зі знаком «мінус»). Якщо значення декрементів $d_1 > 50$, необхідно змінити діапазон значень в 10 разів, натискаючи « $T=f(1*t)$ ». Потім натиснути кнопку «Расчет» (рис. 3.12) та ввести адресу розташування сигналу, що аналізується. Почнеться процедура визначення значень констант диференціальних рівнянь. Процес виконання розрахунків відображається у полях верхньої таблиці.



	A(X)	B(Y)	C(Y)	D(Y)	E(Y)	F(Y)	G(Y)	H(Y)	I(Y)	J(Y)	K(Y)	L(Y)	M(Y)	N(Y)
Long Name	0.0	k1-2	k2-1	k2-3	k3-2	k3-4	k4-3	k1-3	k3-1	k2-4	k4-2	k1-4	k4-1	dE
1 Oxi		112.6	9.3	0.07	0.375	1E-5	1E-5	1.18	1.1E-6	1E-5	1E-5	0.446	1E-5	4E-5
2 rel		0	0.01	0.007	1E-6	1E-6	0.143	0	0.003	0.024	0.315	0	0.635	2.1E-4
3														

Рис. 3.13. Таблиця значень констант диференціальних рівнянь.

Після закінчення розрахунків значення констант диференціальних рівнянь відобразяться у нижній таблиці меню. Значення параметрів експоненціальних складових, розрахованих на основі значень констант диференціальних рівнянь, відобразяться у другій згорі таблиці меню. Результати розрахунків зберігають у двох файлах текстового формату шляхом натискання кнопок меню «Save $A_i=K(i-j)$ » та «Save File». Перша кнопка створює файл таблиці значень констант диференціальних рівнянь (рис. 3.13), похибка вимірювань

фіксується у правому полі таблиці. Друга кнопка – файл кінетики заселеності підстанів РЦ.

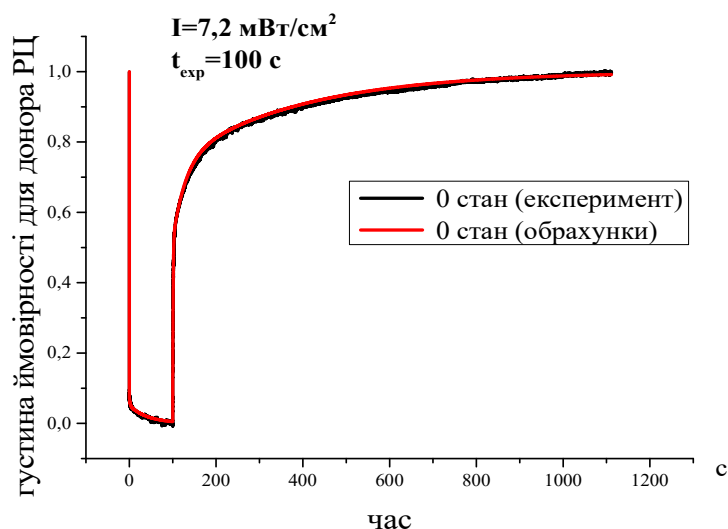


Рис. 3.14. Кінетика фотостимульованого електронного транспорту в РЦ. Експериментальна та розрахункова залежність заселеності 0 підсистеми РЦ.

На рис. 3.14 наведено експериментальну кінетику заселеності донора (підстан 0) РЦ у процесі його окислення та відновлення. Також наведено кінетику заселеності цього ж підстану РЦ, яка була отримана у результаті роботи програми «розрахунку значень констант диференціальних рівнянь». Середньоквадратична похибка розрахунків становила $4 \cdot 10^{-5}$ для ділянки окислення та $2.1 \cdot 10^{-4}$ для ділянки відновлення донора РЦ. Час роботи програми приблизно 10 хвилин. Були визначені значення констант для матриць диференціальних рівнянь, кінетика заселеності підсистеми РЦ в різних режимах фотозбудження. У більшості випадків вдається отримати хорошу апроксимацію експериментальної та розрахункової кінетики переносу заряду в РЦ (підстан 0) на всьому часовому проміжку її вимірювання.

На рис. 3.15 показано розрахункові кінетики заселеності чотирьох підстанів при фотозбудження РЦ одним імпульсом світла протягом 100 с з інтенсивністю $7,2 \text{ мВт/см}^2$. Як правило, кінетики заселеності підстанів мають особливості, характер яких залежить від параметрів режиму

фотостимулювання РЦ. Аналіз цього параметру показав, що кінетика підстанів РЦ (1, 2, 3) на відміну від підстану (0) має виражені особливості. У режимі фотозбудження РЦ максимуми заселеності (1,2) знаходяться на 0,06 та 6 секундах після виключення світла. У режимі релаксації РЦ, максимуми заселеності підстанів фіксуються через 3 с, 47 с, зменшення заселеності до нуля підстану (3) відбувається через 3 с, підстану (1) через 140 с після виключення світла фотозбудження при загальному часі релаксації РЦ більше 1000 с.

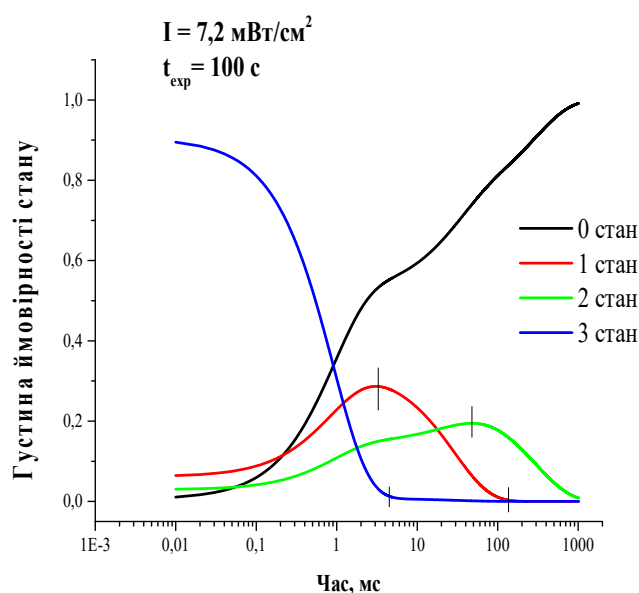


Рис. 3.15. Розрахункова кінетика заселеності чотирьох підстанів при фотозбудження РЦ одним імпульсом світла протягом 100 с з інтенсивністю $7,2 \text{ мВт/см}^2$.

Фізичний зміст полягає в тому, що в такій моделі система може бути описана чотирма електрон-конформаційними станами (з постійними 12-ма мікрошвидкостями), що можуть переходити один в одний, схематично таку систему зображено на рис. 3.10. Стрілки відповідають переходам між стани та описуються відповідними коефіцієнтами.

3.6. Порівняльний аналіз результатів НВП кінетики переносу електрона та чотирирівневої системи

Електронно-конформаційні взаємодії в РЦ відбуваються при попаданні електрона в поляризоване середовище, що утворене групами амінокислотних залишків навколо вторинного акцептора Q_B . Середовище поляризується, і утворюється самоузгоджене поле, еквівалентне потенційній ямі для електрона. Поляризаційна деформація може призводити до стану, відокремленому від вихідного стану енергетичним бар'єром. У біополімерах поляризація призводить до руху системи по конформаційним ступеням свободи в напрямку досягнення мінімуму, по поверхні потенціальної енергії.

У діючій фотосинтетичній системі РЦ рівноважні конформації молекул у присутності і за відсутності електрона можуть сильно різнитися внаслідок електронно-конформаційних взаємодій. Так, після захоплення електрона молекула акцептора РЦ знаходиться в нерівноважній конформації, що починає повільно релаксувати до рівноважної, переходячи з одного локального мінімуму в інший, на кривій потенціальної енергії. Це створює динамічну картину еволюції структурних змін, яка характеризується змінними в часі мікрошвидкостями.

Можна розглядати дві моделі: 1. Система, в якій ансамбль всі РЦ складаються з трьох фракцій і в результаті освітлення, РЦ одних фракцій менше піддаються структурним змінам, а інші сильніше. Таким чином ансамбль РЦ характеризується трьома додатковими станами. 2. Система, в якій всі РЦ в темно-адаптованому стані однакові, а в результаті освітлення система може з деякою імовірністю потрапити або в стан 2, або в стан 3, або в стан 4. Таким чином система характеризується ймовірністю перебування електрона у кожному стані.

Розглядаючи першу модель важко уявити, що РЦ можуть сильно відрізнятися за часом релаксації (на 2–3 порядки). В живих бактеріях це малоймовірно. Крім того, в цьому випадку, важко уявити, що різні фракції можуть переходити одна в одну. Тому ми будемо використовувати модель №2,

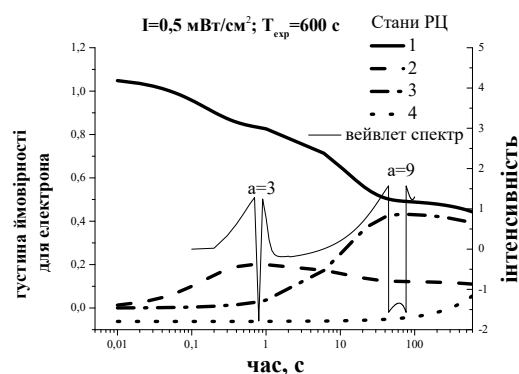
в якій всі РЦ однакові і електрони знаходяться на донорі (1 стан). В результаті збудження певна кількість РЦ може перейти в 2-гий стан, певна кількість в 3-тій та певна кількість 4-тий електрон-конформаційні стани. Кожен РЦ може переходити з одного електрон-конформаційного стану в інший, в результаті електронно-конформаційних взаємодій, що відбуваються цьому РЦ. Імовірність таких переходів характеризується заселеністю цих станів. Характер величин мікрошвидкостей відображає взаємодію станів між собою.

У дисертаційній роботі використовувався градієнтний метод розв'язання оптимізаційної задачі, яка полягала 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.

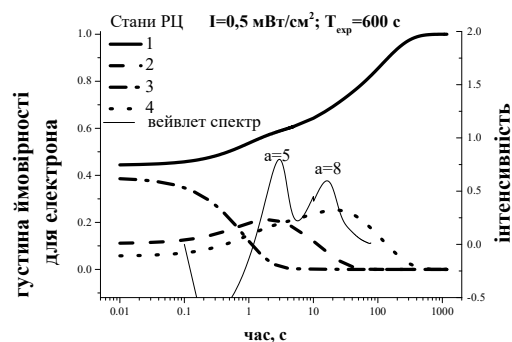
Наявність максимумів ймовірності станів підсистем РЦ (рис. 3.16) дозволяє говорити про присутність протилежних процесів у кінетиці підстанів при їх фотозбудженні та релаксації. Такі процеси можуть бути зумовлені структурними змінами в РЦ при фотостимульованому переносі електрона.

На рис. 3.16 наведено вейвлет-спектри логарифмічної похідної експериментальної кінетики густини ймовірності знаходження електрона на донорі та розрахункова кінетика 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 електрону, 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

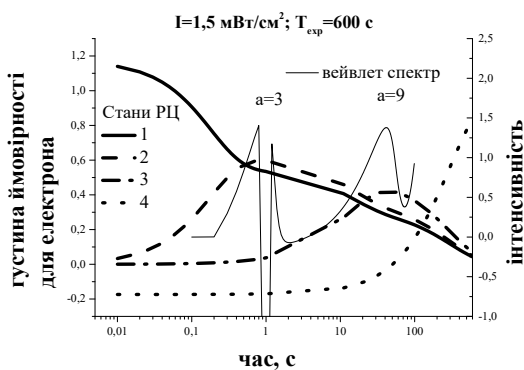
орієнтація пов'язаних електричних зарядів. Змінюються локальні електричні поля молекул та бар'єри між різними орієнтаціями диполів. Модель поляризації РЦ перестає бути дебаєвською.



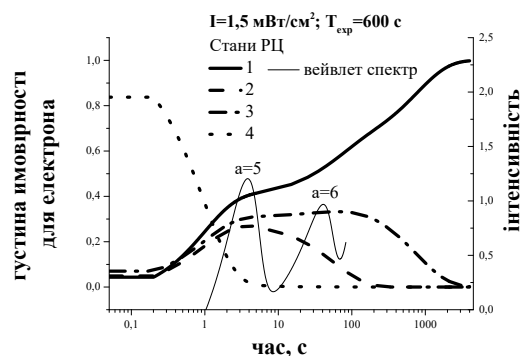
а)



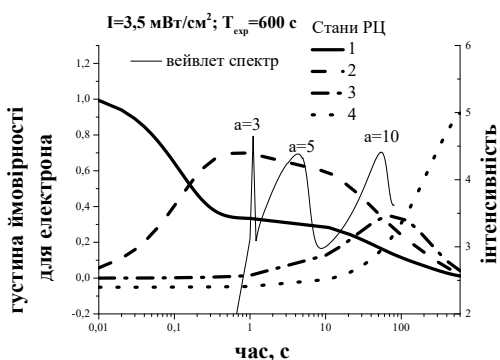
б)



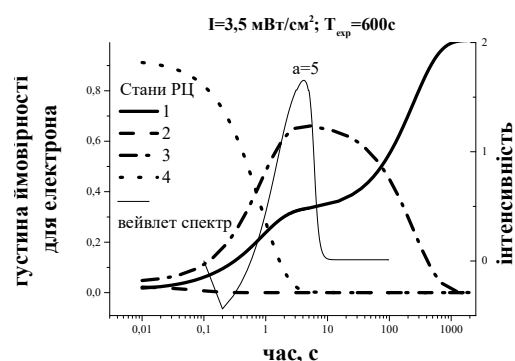
в)



г)



д)



е)

Рис. 3.16. 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: а, в, д – для процесу окиснення; б, г, е – для процесу відновлення.

Модель поляризації РЦ можна уявити як складну суперпозицію експоненціальних функцій з різними константами реакції, які представляють чотири стани РЦ (рис. 3.11). Стан 0 відповідає знаходженню електрона на донорі РЦ. Решта станів – його відсутності. Особливості кінетики ймовірності для станів 1–2 РЦ лежать у діапазоні 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.

На етапі фотозбудження електрона перший вузький пік вейвлет спектру ($a=3$) відповідає максимуму заселеності 2-го підстану (1 с) після виключення світла. Другий, більш широкий пік спектру ($a=9$), відповідає максимуму заселеності 3-го підстану (60 с) після виключення світла (рис. 3.16 *а, в, е*). На етапі рекомбінації електрона після виключення світла (рис. 3.16 *б, г, д, е*) два піки ($a=5, 6$) відповідають максимуму заселеності 2-го та 3-го і мінімуму 4-го підстанів (3 с, 60 с). Таким чином, спостерігається відповідність особливостей вейвлет спектрів та екстремумів заселеності 2-го та 3-го підстанів на етапах окиснення (відновлення) донора РЦ. Наявність таких особливостей електронного транспорту зумовлено тим, що в пігмент-білковому комплексі РЦ конформації молекул при наявності (відсутності) електрона можуть сильно відрізнятися між собою. У процесі циклічного електронного транспорту створюється поляризоване середовище, зумовлене наприклад групами амінокислотних залишків навколо донора і вторинного акцептора Q_B . У середовищі утворюється самоузгоджене поле, еквівалентне потенційній ямі для електрона. Виникають стани, відділені від початкового стану енергетичним бар'єром. Це рівнозначно утворення в системі РЦ електрон-конформаційних станів. Вони характеризуються певною кінетикою заселеності. Її особливості можна трактувати як результат руху системи по конформаційним ступеням свободи. Рух відбувається в напрямку досягнення мінімуму поверхні потенціальної енергії ядерної підсистеми з подоланням локальних активаційних бар'єрів.

Висновки до розділу 3

1. Кінетика фотопереносу електрона РЦ гарно апроксимуються трьома експоненціальними функціями.
2. Реакційні центри *Rhodobacter sphaeroides* у процесі циклічного переносу електрона відповідають системі чотирьох електронно-конформаційних станів.
3. Кінетика фотоперенісу електрона в РЦ як на етапу фотозбудження РЦ, так на етапу релаксації РЦ після фотозбудження відповідає системі чотирьох диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами.
4. Густина ймовірності знаходження РЦ в різних електронно-конформаційних станах та вейвлет-спектр переносу електрона мають виражені особливості. Їх параметри співпадають між собою при різних режимах фотозбудження.
5. Максимуми кінетики ймовірності для станів РЦ та особливості вейвлет-спектрів лежать у діапазоні 1 с, 3 с, 60 с. Вони визначаються просторово-часовими перебудовами білка РЦ та є результатом прояву ефектів саморегуляції процесу переносу електрона.

Результати викладені в цьому розділі, опубліковані у роботах: [1–8, 12–25].

Розділ 4.

ЧОТИРИРІВНЕВА МОДЕЛЬ ПОВІЛЬНОГО ЕЛЕКТРОННОГО ТРАНСПОРТУ В РЦ

Основна реакція біомолекули РЦ на зовнішній вплив (освітлення) полягає в фотоперенесенні електрона. Загально відомо, що між кінетикою перенесення електрона і структурними змінами РЦ існує взаємний зв'язок (саморегуляція) [130]. Якщо кінетика електрона експериментально визначається досить легко, то параметри структури РЦ, які змінюється в процесі фотоперенесення електрона (енергія реорганізації білка), важко піддаються вимірюванню. Їх називають прихованими параметрами. Система диференціальних рівнянь дозволяє їх ідентифікувати, тому що вона крім основного (експериментального) опису кінетики, має додаткові розв'язки. У розділі 3 показано порівняння між системою диференціальних рівнянь та методом вейвлет перетворення кінетики переносу електрона. Це дозволяє у розділі 4 більш детально проаналізувати кінетику переносу електрона, застосовуючи систему чотирьох диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами. Ідентифікація системи рівнянь (визначення констант швидкостей реакцій) дозволяє визначити кінетику переносу електрона між прихованими станами реакційного центру для різних параметрів фотозбудження РЦ та зробити порівняння отриманих даних з даними метода двох експозицій РЦ [9-11, 26-30].

4.1. Чотирирівнева модель переносу електрона при сталій експозиції та змінній інтенсивності фотоактивації РЦ

Дослідження проводили на РЦ, ізольованих з бактерій *Rhodobacter sphaeroides* дикого типу по заданому протоколу (див. розділ 3). Досліджувалась кінетика зміни оптичної густини РЦ при фотозбудженні і релаксації фотосинтетичних бактерій. Фотозбудження РЦ тривало 100 с при

дискретно змінній інтенсивності світла від $0,2 \text{ мВт/см}^2$ до $7,2 \text{ мВт/см}^2$ (рис. 4.1).

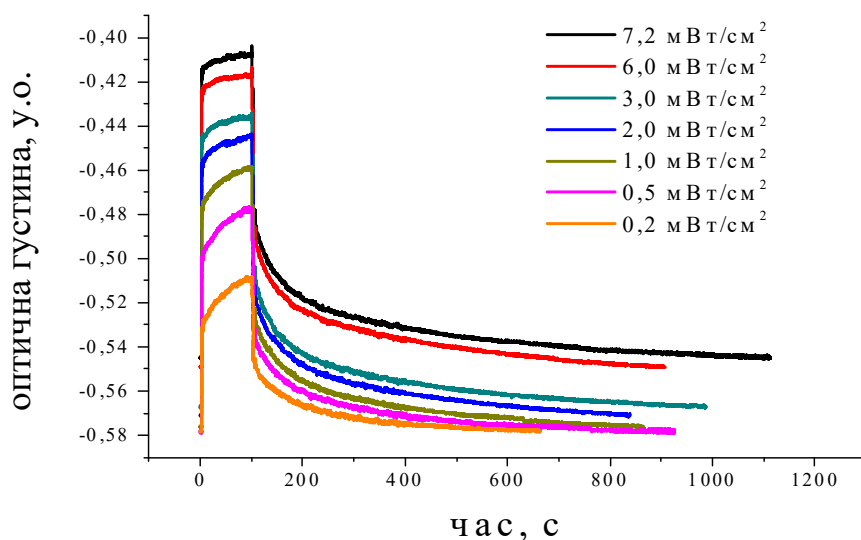


Рис. 4.1. Кінетика зміни оптичної густини суспензії РЦ при різних інтенсивностях фотозбудження.

Показано (рис. 4.1), що кінетика просвітлення та потемніння розчину РЦ залежить від того, з якою інтенсивністю і скільки часу відбувається освітлення зразка. Показано, що при збільшенні інтенсивності та часу експозиції відновлення поглинання відбувається повільніше. При зростанні тривалості та інтенсивності освітлення електрон довше знаходиться на Q_B , і йому стає все складніше повернутися на донор. Це може свідчити про вплив ефектів орієнтаційної поляризації РЦ на процеси електронного внутрішнього молекулярного транспорту. Відомо, що інтенсивність лінії 865 нм спектра поглинання реакційного центру пов'язана з перенесенням електрона від донора до акцептора та від акцептора до донора.

Поглинання РЦ характеризує часову залежність густини ймовірності знаходження електрона на донорі (заселеність такого стану реакційного центру, коли електрон знаходиться на донорі). Перехід від значення оптичної густини РЦ до густини ймовірності стану РЦ виконувався з урахуванням умови, що в темноадаптивному стані РЦ всі електрони перебувають на донорі.

У цьому випадку густина ймовірності знаходження електрона на донорі дорівнює одиниці. Перебудовані залежності показано на рис. 4.2

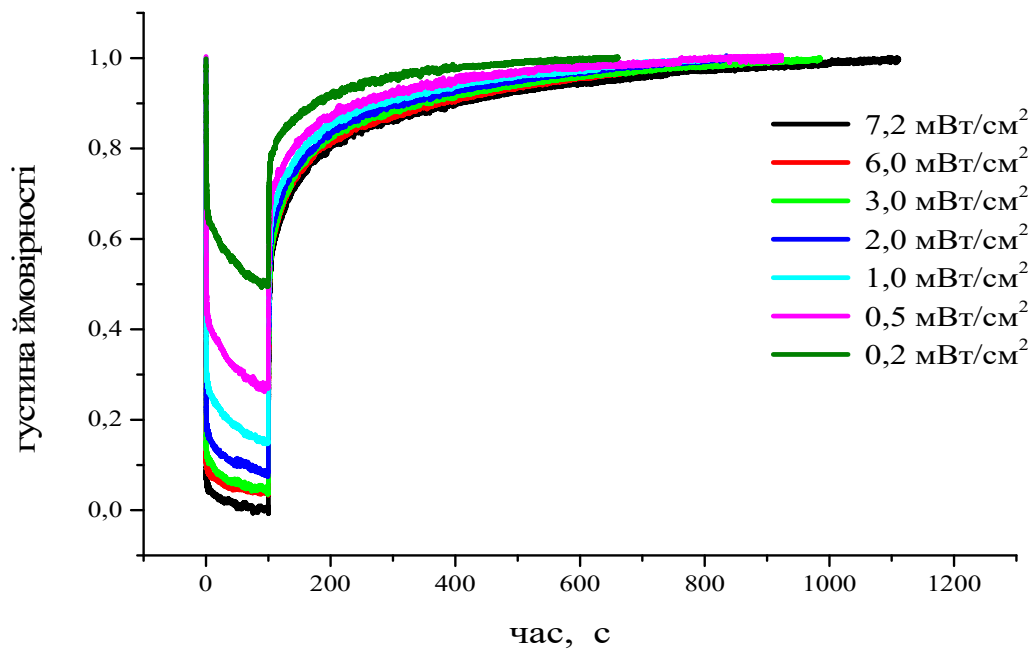
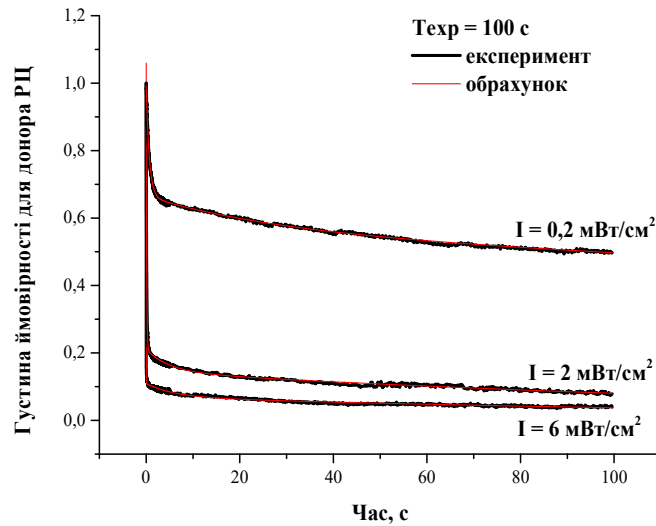


Рис 4.2. Часова зміна густини ймовірності знаходження електрона на донорі РЦ при різній інтенсивності фотозбудження.

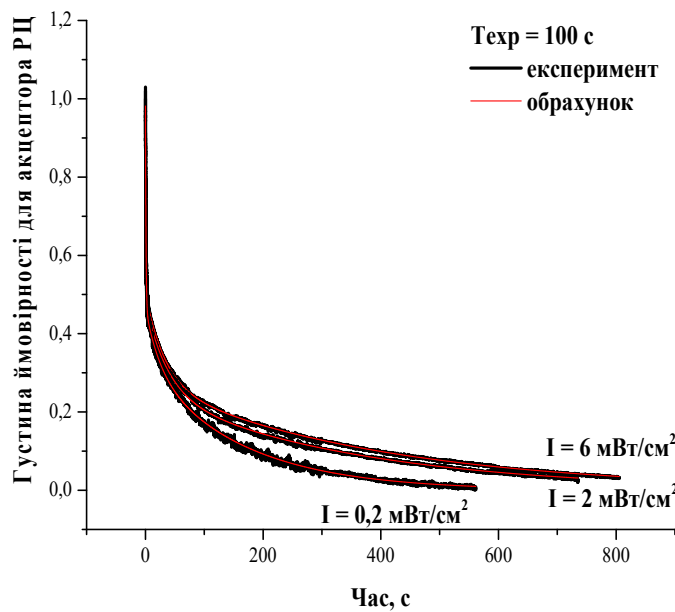
Часову залежність густини ймовірності знаходження електрона на донорі представили у вигляді розкладу на певну кількість експонент за формулою:

$$A = \sum_{i=1}^n A_i e^{-d_i t},$$

де A_i – ваговий множник, d_i – декремент експоненти в с^{-1} (див. розділ 3).



а)



б)

Рис. 4.3. Апроксимація процесів фотоактивації (а) та релаксація (б) РЦ сумою трьох експоненціальних складових при різній інтенсивності фотозбудження.

У результаті апроксимації для різних режимів фотоактивації РЦ були отримані параметри експоненціальних залежностей кінетики переносу електрона, які приведені в таблицях 4.1–4.2.

Таблиця 4.1

Експоненціальні складові кінетики переносу електрона при фотозбудженні РЦ: час експозиції – 100 с

I мВт/см²	d₁, с⁻¹	A₁, в.о	d₂, с⁻¹	A₂, в.о	d₃, с⁻¹	A₃, в.о	Dispers%
0.2	1.5042	0.3278	0.0357	0.1009	0.0013	0.5642	0.0016
0.5	2.4492	0.5395	0.0398	0.1024	0.0023	0.3349	0.1024
1.0	4.318	0.6581	0.125	0.0608	0.0052	0.2427	0.0608
2.0	9.1043	0.6625	0.2036	0.0654	0.0059	0.1449	0.0654
4.0	84.9599	0.8062	2.3772	0.1025	0.0122	0.114	0.1025
6.0	107.7036	0.9502	0.1668	0.0398	0.0062	0.0696	0.0398
7.2	113.1547	0.9926	0.4743	0.0251	0.0211	0.0545	0.0251

Таблиця 4.2.

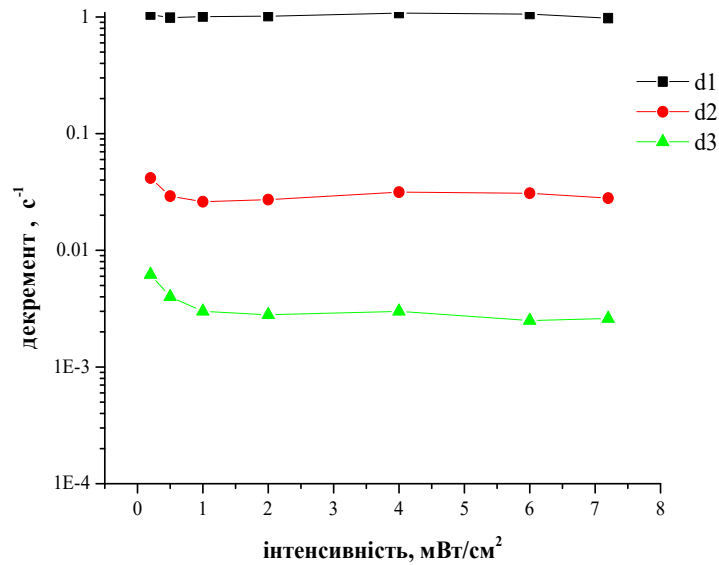
Експоненціальні складові кінетики переносу електрона при релаксації РЦ після часу експозиції 100 с

I мВт/см²	d₁, с⁻¹	A₁, в.о	d₂, с⁻¹	A₂, в.о	d₃, с⁻¹	A₃, в.о	Dispers %
0.2	1.0471	0.516	0.0417	0.1473	0.0062	0.3185	0.00345
0.5	0.9864	0.5128	0.0291	0.196	0.004	0.2598	0.00236
1.0	1.0062	0.5162	0.0261	0.2216	0.003	0.2437	0.00154
2.0	1.0163	0.5162	0.0272	0.2267	0.0028	0.2523	0.00157
4.0	1.0788	0.4903	0.0315	0.2472	0.003	0.2439	0.00121
6.0	1.0576	0.512	0.0309	0.2314	0.0025	0.2747	0.00108
7.2	0.9766	0.5126	0.028	0.2374	0.0026	0.25	0.00124

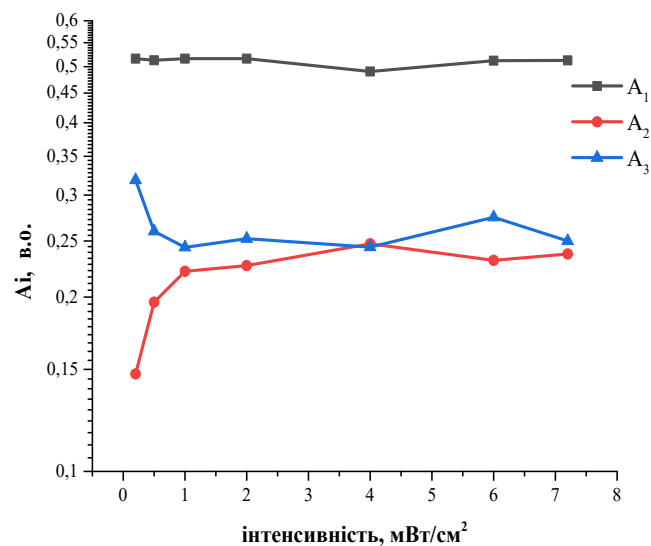
У першому стовпчику подані дані про інтенсивність збуджуючого світла (Таблиці 4.1–4.2). В 2–7 стовпцях – декременти (d_i) та передекспоненційні множники (A_i) першої, другої та третьої експонент та похибка апроксимації

На рис 4.4–4.5 наведено значення параметрів експоненціальних складових кінетики переносу електрона при фотозбудженні та відновлення (релаксації) РЦ. Продемонстровано, що у процесу відновлення РЦ значення декрементів d_3 , d_2 зменшуються зі збільшенням інтенсивності збуджуючого світла.

У процесі фотозбудження РЦ значення декрементів d_1 , d_2 , d_3 збільшуються за інтенсивністю збуджуючого світла. Передекспоненційні множники (A_i – вага складових кінетики) не мають вираженої залежності від інтенсивності світла. Тільки параметр d_3 процесу відновлення РЦ можливо пов'язати з структурними змінами РЦ [10-11].



a)



b)

Рис. 4.4. Параметри експоненціальних складових кінетики відновлення РЦ (табл. 4.1).

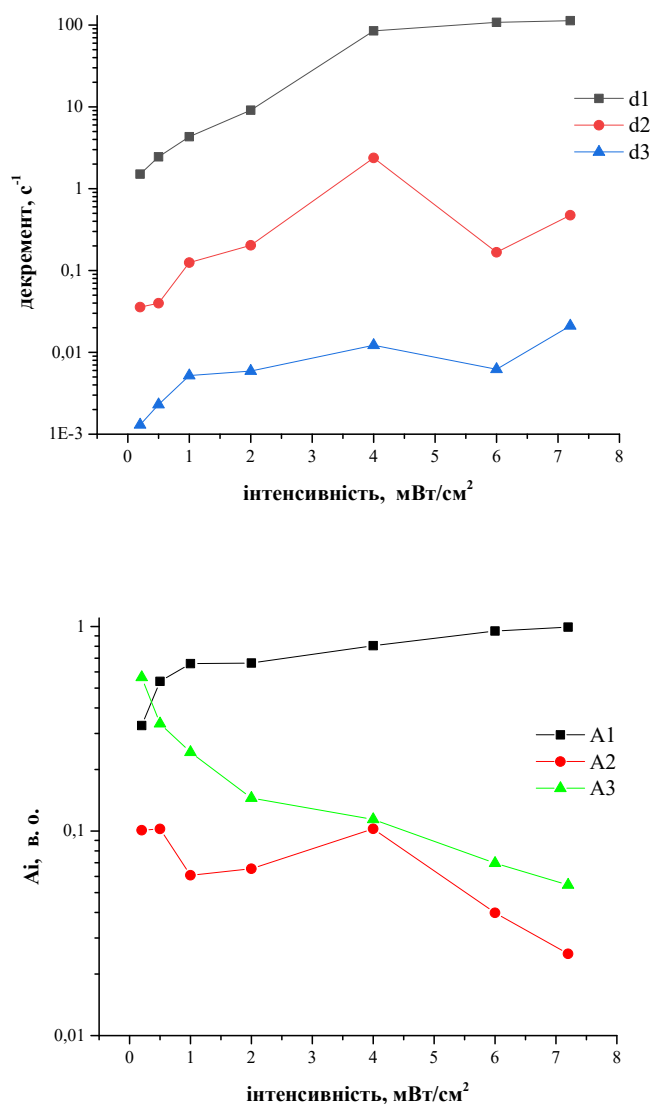


Рис. 4.5. Параметри експоненціальних складових кінетики фотозбудження РЦ (табл. 4.1).

Фізична модель структурних змін РЦ електронного транспорту полягає в тому, що система може бути описана декількома електрон-конформаційними станами, які можуть переходити із одного у другий з дебаєвськими швидкостями, котрі пов'язані між собою. Такі електрон-конформаційні взаємодії в РЦ відбуваються при попаданні електрона в поляризоване середовище, утворене, наприклад, групами амінокислотних залишків навколо вторинного акцептора Q_B . Середовище поляризується і утворюється самоузгоджене поле, еквівалентне потенційній ямі для електрона.

Поляризаційна деформація може призводити до стану, відокремленого від вихідного стану енергетичним бар'єром. У біополімерах поляризація призводить до руху системи по конформаційних ступенях свободи в напрямку досягнення мінімуму по поверхні потенціальної енергії ядерної підсистеми.

Таблиця 4.3.

Константи швидкості реакції переносу електрона для фотозбудження РЦ:
час 100 с

мВт/см ²	0,2	0,5	1,0	2,0	4,0	6,0	7,2
k1-2	0,54125	1,46	3,21	7,51	68,1	105,1	112,6
k2-1	1,1125	1,20875	1,505	2,39	20,7	12,1875	9,3
k2-3	0,003	0,00138	0,0165	0,063	0,065	1,1E-6	0,07
k3-2	0,02613	0,0295	0,076	0,077	1,32001	1E-5	0,37501
k3-4	1E-6	1E-6	0,017	0,004	1E-5	1E-5	1E-5
k4-3	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	1E-5	1E-5	1E-5
k1-3	0,00681	0,01825	0,056	0,071	5,48	0,10125	1,18
k3-1	1E-7	1E-7	0,012	0,068	1,1E-6	1,1E-6	1,1E-6
k2-4	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	1E-5	0,03851	1E-5
k4-2	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	1E-5	0,06601	1E-5
k1-4	0,00179	0,00646	0,00715	0,0308	0,121	0,2475	0,4455
k4-1	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	1E-5	0,05089	1E-5
dispers	3E-4	4E-5	3E-5	1E-5	6E-5	2E-5	4E-5

Просте розкладання кінетики переносу електрона на експоненціальні складові не відповідає даній ситуації. Подальше уточнення моделі можливо при використанні системи диференціальних рівнянь. Значення експоненціальних складових кінетики переносу електрона при фотозбудженні РЦ є вхідні для програми розрахунку констант швидкості реакцій, заснованої на системі диференціальних рівнянь (див. розділ 3). Після розв'язання задачі

для процесу окислення розв'язувалась задача для процесу відновлення. Дані про заселеність на момент виключення світла використовувались, як початкові умови для розв'язку задачі для процесу відновлення (таблиці 4.3–4.4). Розрахунок констант швидкості реакції переносу електрону для етапу фотозбудження РЦ наведен у таблиці 4.3 та для етапу релаксації РЦ у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4.

Константи швидкості реакції переносу електрону для релаксації РЦ: тривалість експозиції 100 с

мВт/см²	0,2	0,5	1,0	2,0	4,0	6,0	7,2
k1-2	0	0	0	0	0	0	0
k2-1	1,166	1,091	0,01188	0,01109	0,0375	0,025	0,01
k2-3	0,002	1E-7	0,01194	0,01059	1E-7	0,0045	0,007
k3-2	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	0,007	1E-6
k3-4	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	1E-6	0,005	1E-6
k4-3	0,01397	0,00825	7,401E-4	2,073E-4	0,19121	1E-6	0,14273
k1-3	0	0	0	0	0	0	0
k3-1	0,0075	0,005	0,0047	0,00439	0,00389	1,181	0,00338
k2-4	1E-6	1E-6	0,0109	0,0149	2,416E-4	0,01045	0,02448
k4-2	1,041E-4	1E-6	1,041E-4	8,69E-5	0,20467	1E-6	0,31529
k1-4	0	0	0	0	0	0	0
k4-1	0,03991	0,02805	1,13288	1,15594	0,80737	0,00385	0,635
dispers	0,01863	0,10521	0,00392	0,00128	0,00217	4,5E-4	2,1E-4

Дані таблиць 4.3–4.4 дозволяють встановити, що є два набори: для процесу окислення – 12 максимально можливих мікрошвидкостей і для процесу відновлення (який характеризується відсутністю освітлення) – 9, так- як відсутні переходи з 0-го стану в 1-ий, 2-ий та 3-ій (k_{01} , k_{02} , $k_{03} = 0$), бо для їх

здійснення потрібно багато енергії, для збудження електрона. Процес окислення і відновлення характеризується різними значеннями констант швидкості реакцій тому, що структурні зміни в РЦ відбуваються під дією зовнішніх чинників (освітлення), а релаксація (відновлення РЦ) – процес самостійний, саме тому чисельні значення констант швидкості реакцій для цих процесів різні. На основі цих наборів отримано заселеності 1-го, 2-го та 3-го станів РЦ, для різних режимів фотозбудження (рис. 4.6–4.8).

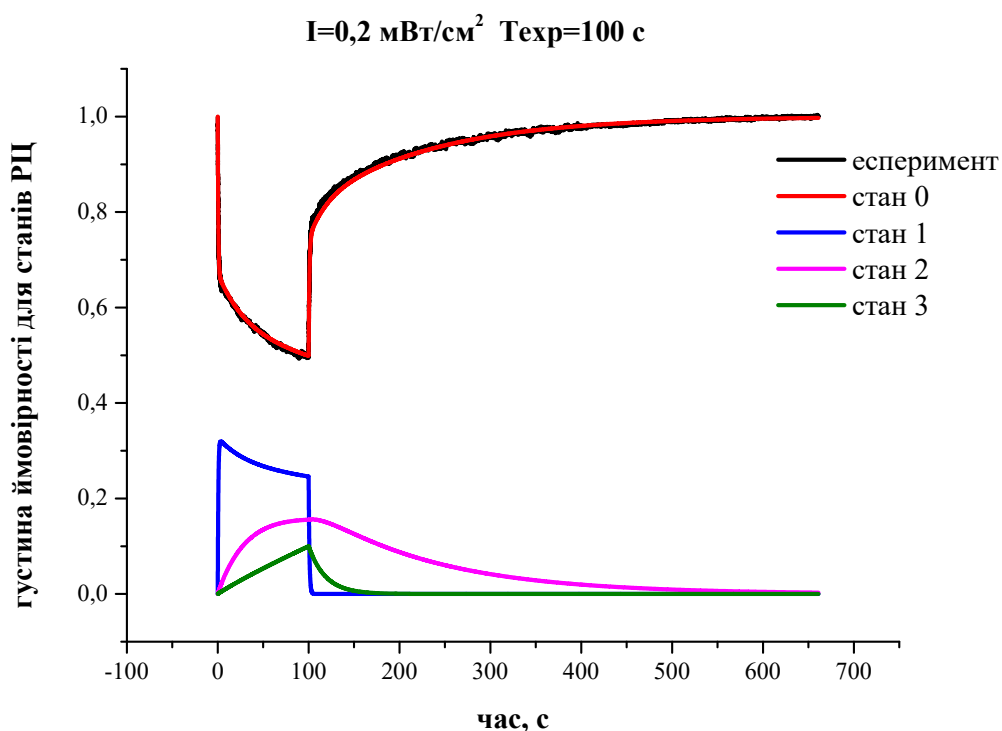


Рис. 4.6. Густина ймовірності для станів РЦ при фотозбудженні з інтенсивністю $0,2 \text{ мВт/см}^2$ та тривалістю 100 с.

Проаналізуємо процес окислення: спочатку йде процес заселення 1-го стану з 0-го, але починаючи з 3 с заселеність у 2-му і 3-му стані – збільшується з часом, за рахунок зменшення заселеності станів 1 та 0. Це говорить про те, що в процесі збудження РЦ не лише з 0-го стану, але й з стану 1 переходять у стани 2 і 3 (рис. 4.6). Після вимкнення збуджуючого світла спостерігаємо різке зменшення заселеності 1-го стану, що була найбільшою на момент вимкнення

світла та плавне зменшення заселеності 2-го. Заселеність 3-го стану збільшується протягом 40 с, а потім плавно зменшується.

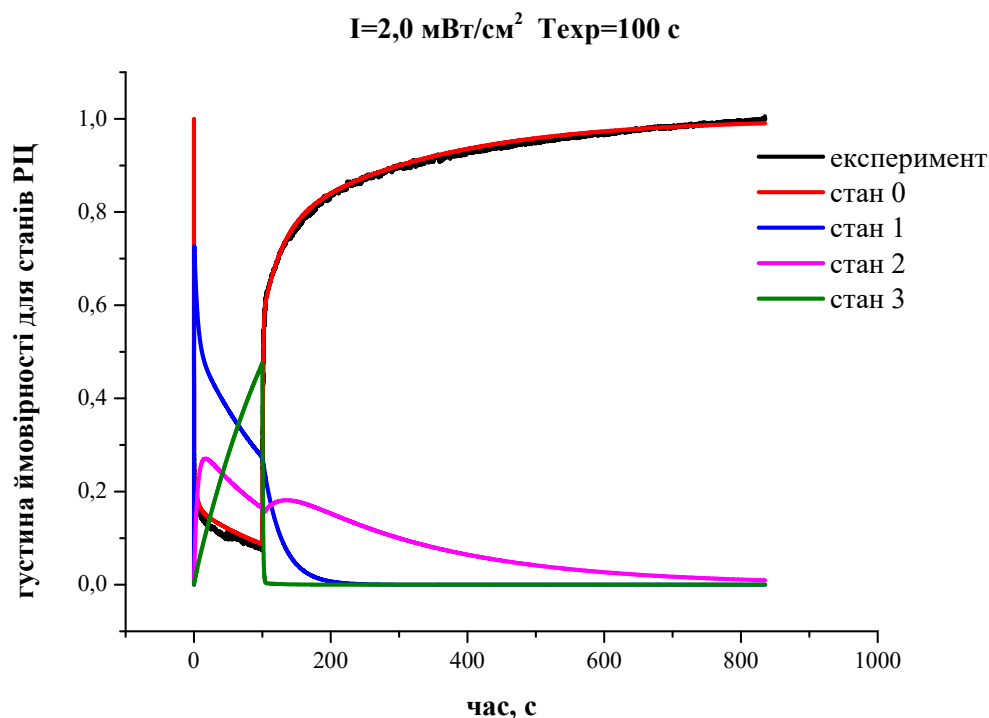


Рис. 4.7. Густина ймовірності для станів РЦ при фотозбудженні з інтенсивністю 2 мВт/см^2 та тривалістю 100 с.

При освітленні з більшою інтенсивністю (рис. 4.7), в процесі збудження (окислення) РЦ: спочатку спостерігаємо заселення 1-го стану з 0-го, але починаючи з 0,8 с знову заселеність у 2-му і 3-му стані – збільшується з часом, за рахунок зменшення заселеності станів 1 та 0. А з 17 с зростає заселеність лише 3-го стану, за рахунок зменшення усіх інших. Після вимкнення збуджуючого світла спостерігаємо різке зменшення заселеності 3-го стану, що була найбільшою, на момент вимкнення освітлення та плавне зменшення заселеності 1-го стану. Заселеність 2-го після припинення фото збудження впродовж 33 с збільшується, а потім плавно зменшується.

Якщо ще збільшити інтенсивність освітлення (рис. 4.8), то в процесі окислення: спочатку спостерігаємо заселення 1-го стану з 0-го, але починаючи

з 0,5 с заселеність у 2-му і 3-му стані збільшується з часом за рахунок зменшення заселеності станів 1 та 0. А з 13 с зростає заселеність лише 3-го стану за рахунок зменшення усіх інших. Після вимкнення збуджуючого світла спостерігаємо різке зменшення заселеності 3-го стану, що була найбільшою, на момент вимкнення та плавне зменшення заселеності 1-го стану. Заселеність 2-го після припинення фото збудження впродовж 35 с збільшується, а потім плавно зменшується.

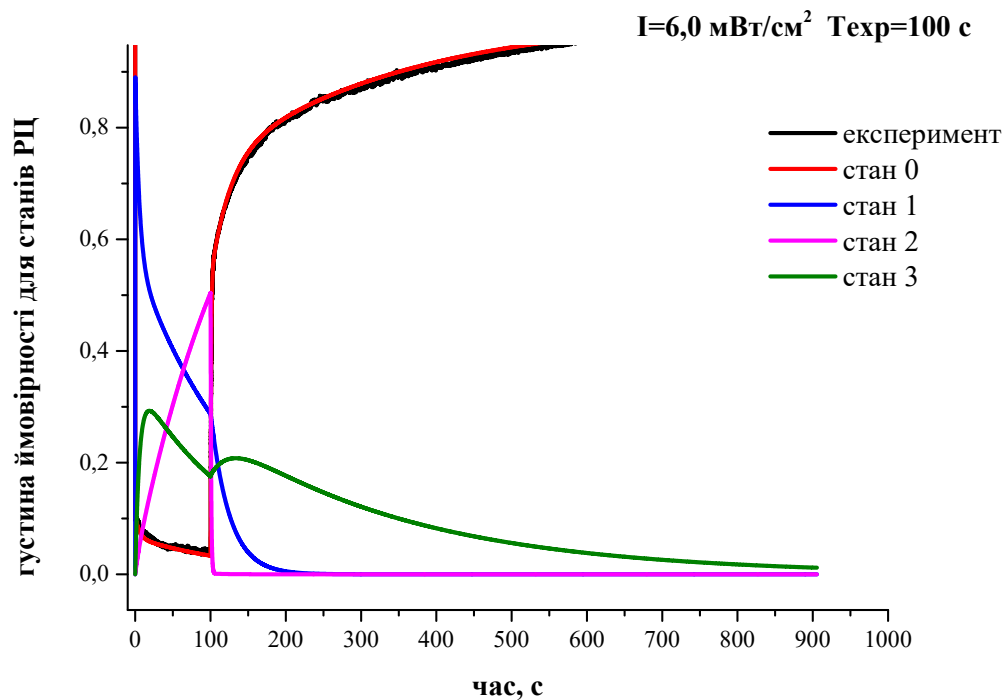


Рис. 4.8. Густина ймовірності для станів РЦ при фотозбудженні з інтенсивністю 6 мВт/см² та тривалістю 100 с.

4.2. Чотирирівнева модель переносу електрона РЦ при сталій інтенсивності та змінній експозиції фотоактивації РЦ

Проаналізуємо кінетику електронного транспорту при сталій інтенсивності збуджуючого світла та різних тривалості фотоактивації. Для цього було отримано серію експериментальних кривих при сталій інтенсивності 6 мВт/см² та змінному часу експозиції від 10 с до 100 с з кроком 10 с. Для цих експериментальних залежностей повторювалась та ж процедура обробки та

апроксимації, яка описана у розділі 4.1. У таблицях 4.5 та 4.6 наведено параметри експоненціальних залежностей кінетики переносу електрона для такої серії експериментальних даних. У першому стовпчику подані дані про тривалість фотозбудження, а у наступних – декременти та передекспоненційні множники першої, другої та третьої експонент.

Таблиця 4.5

Експоненціальні складові кінетики переносу електрона при фотозбудженні РЦ: час експозиції 10–100 с, інтенсивність 6 мВт/см²

Експозиція, с	$d_1, \text{с}^{-1}$	$A_1, \text{в.о.}$	$d_2, \text{с}^{-1}$	$A_2, \text{в.о.}$	$d_3, \text{с}^{-1}$	$A_3, \text{в.о.}$
10	33,9860	0,8351	1,0867	0,0369	0,2443	0,0200
20	33,9860	0,8352	1,4358	0,0336	0,1135	0,0450
30	33,3163	0,8285	1,2245	0,0356	0,0583	0,0623
40	33,3163	0,8377	1,4941	0,0270	0,0638	0,0663
50	32,6599	0,8343	1,1196	0,0347	0,0473	0,0685
60	32,9865	0,8293	1,1885	0,0336	0,0403	0,0740
70	32,9865	0,8261	1,2124	0,0374	0,0341	0,0832
80	32,6599	0,8277	1,0443	0,0389	0,0308	0,0790
90	32,3365	0,8241	1,0443	0,0357	0,0305	0,0796
100	32,9865	0,8241	1,2870	0,0338	0,0334	0,0789

Таблиця 4.6

Експоненціальні складові кінетики переносу електрона у процесі релаксації РЦ: час експозиції 10–100 с, інтенсивність 6 мВт/см²

Експозиція, с	$d_1, \text{с}^{-1}$	$A_1, \text{в.о.}$	$d_2, \text{с}^{-1}$	$A_2, \text{в.о.}$	$d_3, \text{с}^{-1}$	$A_3, \text{в.о.}$
10	1,1421	0,7529	0,0704	0,1141	0,0015	0,1528
20	1,1308	0,6651	0,0818	0,1595	0,0014	0,2280
30	1,1196	0,6165	0,0859	0,1794	0,0015	0,2772
40	1,1085	0,5938	0,0912	0,1741	0,0018	0,2889
50	1,0867	0,5778	0,0921	0,1597	0,0015	0,3297
60	1,0759	0,5672	0,0912	0,1511	0,0013	0,3618
70	1,0547	0,5600	0,0885	0,1385	0,0012	0,3802
80	1,0547	0,5508	0,0949	0,1287	0,0011	0,4006
90	1,0443	0,5436	0,0988	0,1156	0,0010	0,4215
100	1,0547	0,5371	0,1102	0,1101	0,0009	0,4369

У результаті розв'язання системи чотирьох диференціальних рівнянь для цієї серії експериментальних кривих також були отримані значення констант швидкості реакції переносу та обраховано густину ймовірності для кожного із станів РЦ.

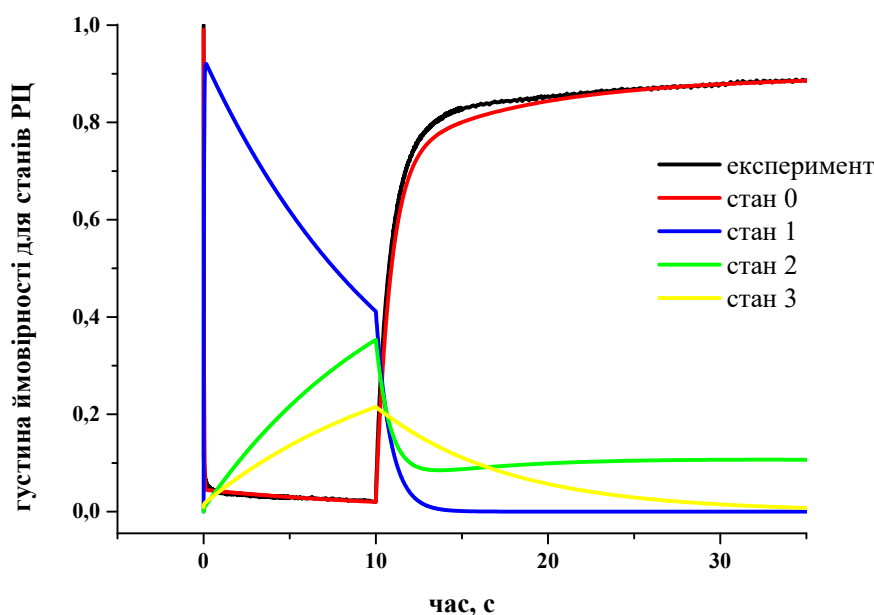


Рис. 4.9. Густина ймовірності для станів РЦ при фотозбудженні з інтенсивністю 6 мВт/см^2 та тривалістю 10 с.

При експозиції 10 с (рис. 4.9) у процесі окислення спочатку спостерігається заселення 1-го стану з 0-го, але починаючи з 0,1 с зростає заселеність у 2-му та 3-му станах, за рахунок зменшення заселеності станів 1 та 0. Після вимкнення збуджуючого світла спостерігаємо різке зменшення заселеності 1-го та 2-го станів, що були найбільшими, на момент вимкнення світла та плавне зменшення заселеності 3-го стану.

При експозиції 60 с (рис. 4.10) в процесі окислення: спочатку спостерігаємо заселення 1-го стану з 0-го, але починаючи з 0,2 с зростає заселеність у 2-му та 3-му станах, за рахунок зменшення заселеності станів 1 та 0. З 18 с зростає заселеність лише 3-го стану, за рахунок зменшення усіх

інших. Після вимкнення збуджуючого світла спостерігаємо різке зменшення заселеності 3-го та 1-го станів, що були найбільшими, на момент вимкнення світла. Заселеність 2-го, після припинення фото збудження, впродовж 22 с збільшується, а потім плавно зменшується.

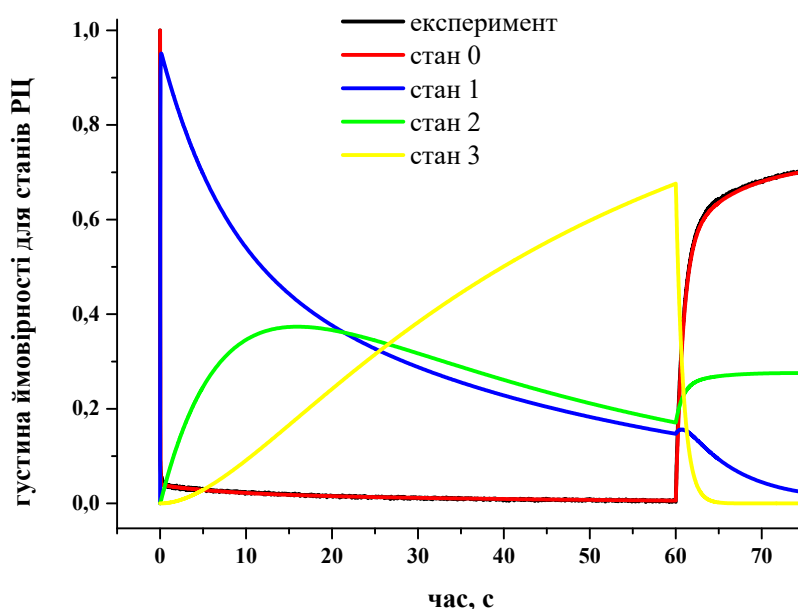


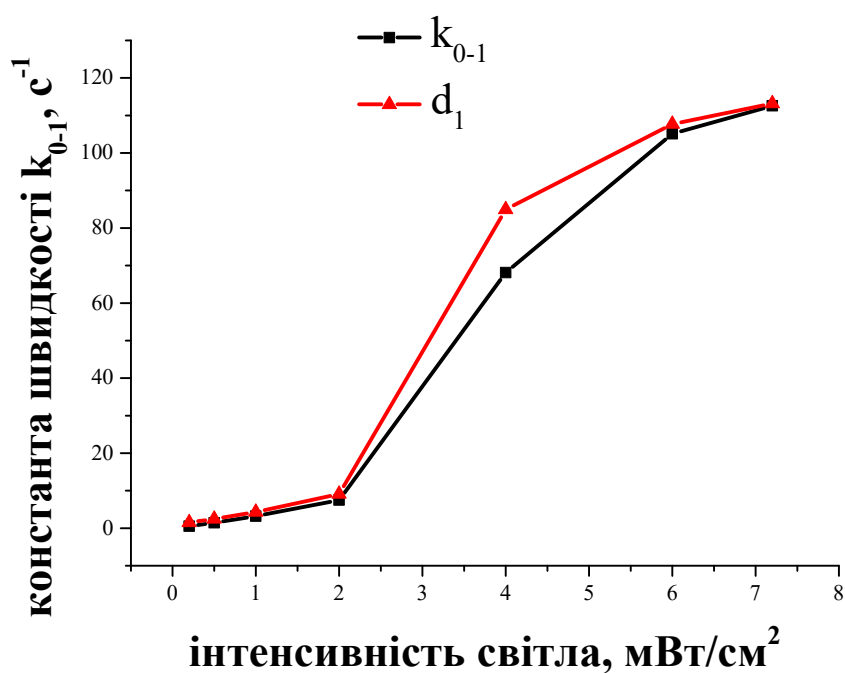
Рис. 4.10. Густина ймовірності для станів РЦ при фотозбудженні з інтенсивністю 6 мВт/см^2 та тривалістю 60 с.

4.3. Аналіз кінетики переносу електрона при різних режимах фотозбудження

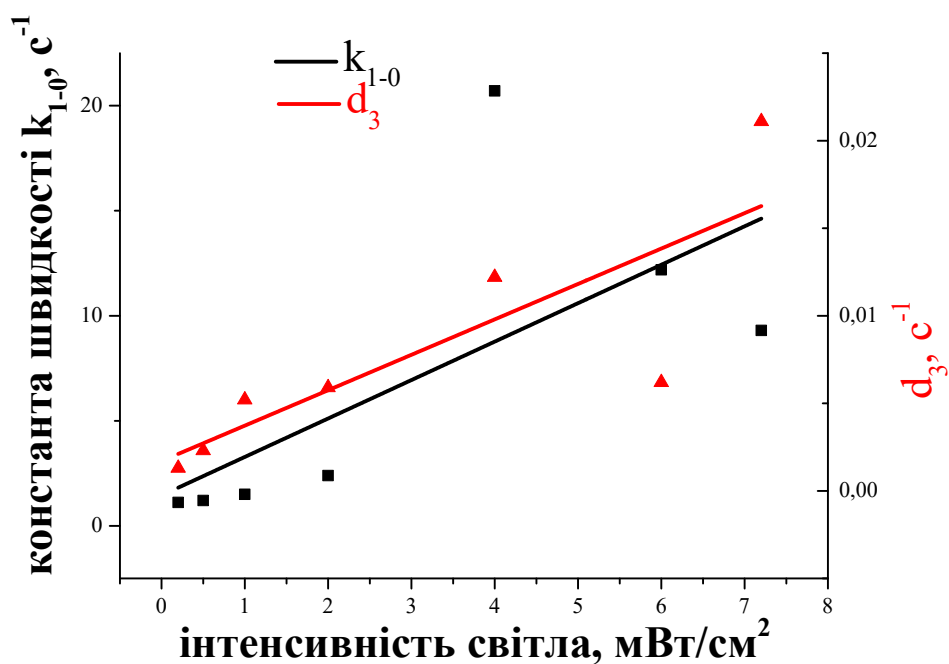
Як видно з отриманих залежностей як процес фотозбудження, так і релаксації, в межах похибки, добре співпадає з кінетикою заселеності 0-го стану, яка була одержана експериментально. Отже, ми можемо довіряти одержаним результатам для заселеності 1-го, 2-го та 3-го станів при різних режимах фотозбудження системи РЦ.

Аналіз залежностей окислення, при освітленні з різною інтенсивністю, дозволив встановити, що декремент d_I (з процедури апроксимації експериментальних кривих) якісно співпадає з мікрошвидкістю k_{0I} (рис. 4.11

а). Це дозволяє припустити, що ці параметри характеризують швидкі електронні процеси, за відсутності будь-яких конформаційних змін.



а)



б)

Рис. 4.11. Показники кінетики переносу електрона в процесі фотозбудження рЦ: а) константа швидкості реакції k_{01} та декремент d_1 експоненціальної складової; б) константа швидкості реакції k_{10} та декремент d_3 експоненціальної складової.

Як видно з графіка (рис. 4.11 б), мікрошвидкість k_{10} , що характеризує повернення електрона в процесі окислення з стану 1 в стан 0, майже не змінюється при освітленні з інтенсивністю світла в діапазоні від 0,2 до 2 мВт/см² і росте, зі збільшенням інтенсивності світла в діапазоні від 2 до 6 мВт/см². Тобто, чим сильніше ми свіtimo, тим менше електрон затримується на хіноні. Це можна пояснити тим, що в напівкласичному наближенні (електрон розглядаємо, як квантову частинку, а світло, як електромагнітну хвилю), коли електрон знаходиться на хіноні – система знаходиться в нерівноважному стані: в таких умовах електромагнітна хвиля в результаті нерезонансної взаємодії може збуджувати коливання електронної підсистеми частинок білкової макромолекули РЦ, яка є частково впорядкованою (розділ 1.1). А вона в свою чергу може збуджувати коливання ядерної підсистеми цих частинок. Це призведе до виникнення локальних колективних збуджень – локальних фононів (фрактонів). Такі колективні збудження можуть полегшувати процес повернення електрона на донор (розділ 1.6). Отже, така нерезонансна взаємодія електромагнітної хвилі з РЦ в нерівноважному стані, призведе до структурних змін в РЦ, при освітленні розчину.

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. 4.11), часових параметрів максимумів ймовірності станів РЦ (рис. 4.12) від інтенсивності збуджуючого світла характеризують властивості РЦ. У режимі фотозбудження РЦ максимумами ймовірності станів 1, 2 знаходяться на 0,06 с та 6 с після початку фотозбудження. У режимі релаксації РЦ максимумами 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.

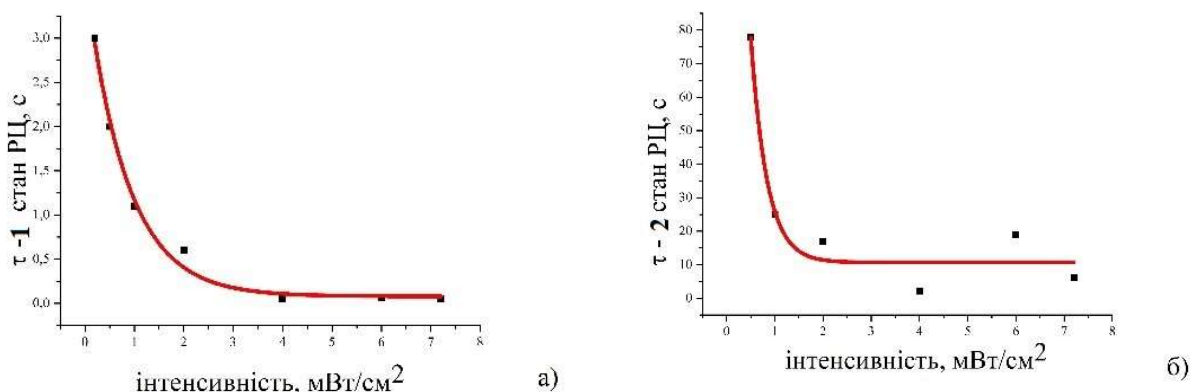


Рис. 4.12. Залежність часу τ досягнення максимуму ймовірності від інтенсивності збуджуючого світла: а) та б) на етапі збудження для станів 1 та 2.

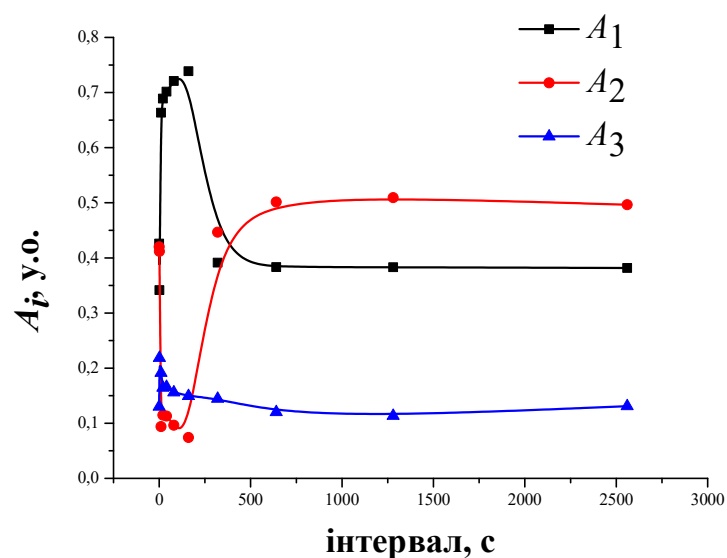
Аналізуючи кінетику відновлення можна зробити висновки: якщо заселеність стану, на момент вимкнення світла найбільша, то і швидкість повернення з нього, теж найбільша. Після вимкнення збуджуючого світла, крім повернення в стан 0 з 1-го, 2-го та 3-го станів, можливими залишаються переходи між станами 1, 2, 3. По аналогії з процесом окислення, теж можемо виділити 2 процеси і припустити, що перший характеризує лише електронний транспорт, що відповідає релаксації заселеності того стану, що був найбільш заселений в момент вимкнення світла, а другий відображає кінетику структурних змін, він характеризується зміною концентрації РЦ в інших станах з меншою заселеністю. У процесі відновлення 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 по часу відновлення, який характеризує структуру РЦ. Тобто процеси переходу з одного стану інший відбуваються за характером аномальної дифузії (розділ 1.7). Дана ситуація відповідає субдифузії, коли ми можемо зробити нескінченно великий стрибок і потім дуже довго знаходитись в тому стані (другий момент по зміщенням скінченний, а перший момент по часу розбігається: $E\{x_n^2\} = \sigma^2 < \infty$, $E\{\tau_n\} = \tau = \infty$). Така дифузія може

проходити, коли перехід відбувається по моделі дисперсійних стрибків, шляхом тунелювання між пастками, що розділені невеликим енергетичним бар'єром.

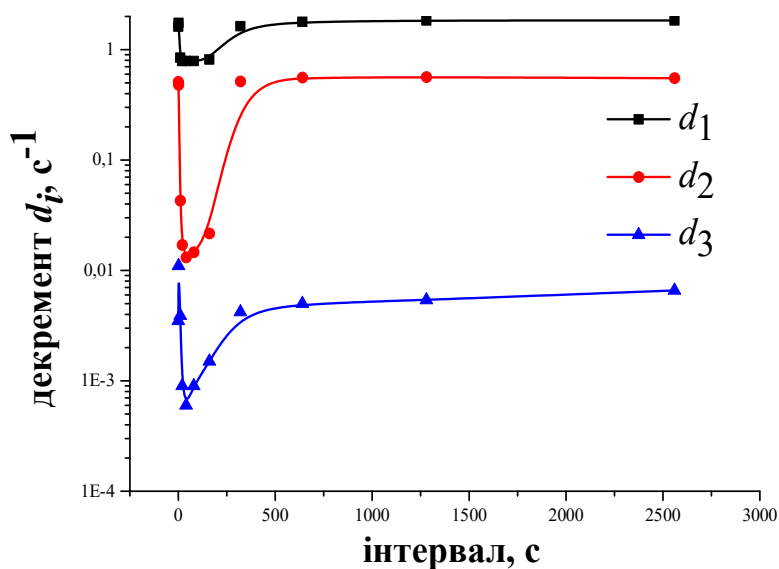
4.4. Дослідження кінетики фотостимульованого перенесення заряду в РЦ з використанням двох послідовних імпульсів

Кінетика поглинання відповідає кінетиці електронного транспорту, але досягнення темноадаптованого значення поглинання у процесі релаксації РЦ після виключення світла не гарантує припинення структурних змін в реакційному центрі. У зв'язку з цим було проведено дослідження кінетики поглинання РЦ при їх фотостимулюванні двома послідовними імпульсами [9]. Цей метод дозволяє визначити час досягнення рівноважного стану білка РЦ після його фотозбудження. Другий імпульс фотозбудження дає можливість визначити кінетику релаксації реакційного центру після деякого часу (інтервалу) після фотозбудження. При величині інтервалу, коли кінетика електронного транспорту другого імпульсу буде співпадати з кінетикою першого імпульсу, РЦ досягне рівноважного стану. Тривалість освітлення 100 с при інтенсивності 7 мВт/см^2 , інтервал між імпульсами змінювався від 0 до 2500 с.

Дослідження показали (рис. 4.13), що при інтервалах між імпульсами фотостимулювання РЦ менше 40 с відбувається значна зміна значень параметрів експоненціальних функцій кінетики переносу заряду. Ваговий коефіцієнт A_1 швидкої компоненти кривої відновлення РЦ збільшується, а ваговий коефіцієнт A_2 середньої компоненти зменшується, ваговий коефіцієнт A_3 повільної компоненти збільшується несуттєво. Декременти $d_1 > d_2 > d_3$ швидко зменшуються, що свідчить про вплив на РЦ його попереднього стану.



a)



б)

Рис. 4.13. а, б – залежність зміни параметрів A_i , d_i експоненціальних компонент кінетичної кривої відновлення РЦ при освітленні другим імпульсом у залежності від величини інтервалу між двома послідовними імпульсами фотостимулювання РЦ. Інтенсивність імпульсу 7 мВт/см^2 , тривалість – 100 с .

При тривалості інтервалу між імпульсами $t_{imp}=40\text{--}100 \text{ с}$ відбувається повільна зміна параметрів. При збільшенні інтервалу між імпульсами $t_{imp}>100 \text{ с}$, відбувається повернення значень параметрів експонент у початковий стан. При інтервалі більше 700 с параметри процесу відновлення РЦ після

виключення другого імпульси не змінюються, імпульси фотостимулювання стають незалежними один від одного.

Дослідження кінетики фотостимульованого перенесення заряду в РЦ з використанням двох послідовних імпульсів світла зі змінним інтервалом між ними показало немонотонну залежність параметрів експоненціальних складових кінетики від величини інтервалу між імпульсами. Дана методика, так як і попередня, дозволяє визначити часові параметри електрон-конформаційних взаємодій РЦ. Порівняння результатів цих методик показує їх співпадіння. Так, інтервал часу (3 с, 47 с, 140 с), який відповідає максимуму заселеностей (0) та (1) в процесі релаксації РЦ, співпадає по порядку величини з інтервалом часу (4–100 с) між імпульсами світла збудження РЦ, при якому параметри експоненціальних складових процесу релаксації РЦ мають екстремуми. Це підтверджує припущення про те, що поява особливостей кінетики заселеності підстанів РЦ при фотостимульованому перенесенні заряду пов'язано зі зміною в їх структурі.

Висновки до розділу 4

1. У процесі окислення виявлено два ефекти: прискорення відновлення донора при освітленні та сповільнення відновлення після вимкнення збуджуючого світла. РЦ знаходиться у нерівноважному стані при фотозбудженні та на першому етапі процесу релаксації (перші 10 с).
2. У режимі фотозбудження РЦ максимума ймовірності станів 1, 2 знаходяться на 0,06 с та 6 с після початку фотозбудження. У режимі релаксації РЦ максимума 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.
3. 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.

4. Досягнення початкового стану поглинання після фотозбудження РЦ не гарантує повернення структури у початковий стан. Було розроблено спеціальний двоекспозиційний протокол вимірювання поглинання, який показує, що досягнення темноадаптованого стану РЦ відбувається через 500–1000 с (залежно від умов фотозбудження) після повернення до темного рівня поглинання.

Результати, викладені в цьому розділі, опубліковані у роботах: [9–11, 26–30].

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 (електрон на донорі – стан 0 та електрон на окцепторі – стан 1) переносу електрона зі змінними в часі параметрами та чотирирівнева модель з постійними коефіцієнтами (стан 0 – електрон, стани 1, 2 та 3 – відсутність електрона на донорі). Структура РЦ може бути описана за допомогою системи чотирьох електрон-конформаційних станів. Отримані особливості кінетики для дворівневої та чотирірівневої моделей переносу електрона співпадають.
3. Залежності швидкості переносу електрона для процесу окислення 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 окислення 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.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ТА ЛІТЕРАТУРИ

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.
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.
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.
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., Zabokotny 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.
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.
7. 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.

8. 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.
9. 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.
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. Т. 5. P. e02108.
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. Т. 5. P. 057–064.
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.
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.
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.

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.
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.
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.
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.
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.
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.
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.
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.
 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.
 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.
 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.
 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.
 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. *Nanotechniligy and Nanomaterials (NANO-2017)* : abstract International research and practice conference, 23-26 Aug. 2017. Chernivtsi. P. 589.

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.
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.
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.
31. Blankenship R. E. *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. Oxford: Blackwell Science, 2002. 312 p.
32. Duysens L. N. M. Transfer of light energy within the pigment systems present in photosynthesizing cells. *Nature*. 1951. Vol. 168, № 4274. P. 548–550.
33. Reed D. W. Clayton R. K. Isolation of reaction center fraction from *Rhodospseudomonas sphaeroides*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1968. – Vol. 30. P. 471–475.
34. Clayton R. K. Wang R. T. Photochemical reaction centers from *Rhodobacter sphaeroides* in *Methods in Enzymology. Photosynthesis*. New York-London: Academic Press. 1971. Vol. XXIII. P. 696–704.
35. Deisenhofer J. Michel H. Nobel lecture. The photosynthetic reaction centre from the purple bacterium *Rhodospseudomonas viridis*. *EMBO J.* 1989. Vol. 8, № 8. P. 2149-2170.

36. Deisenhofer J., Epp O., Miki K., Huber R., Michel H. Structure of the protein subunits in the photosynthetic reaction center of *Rhodospseudomonas viridis* at 3Å resolution. *Nature*. 1985. Vol. 318, № 6047. P. 618-624.
37. Allen J. P., Feher G. Crystallization of reaction center from *Rhodospseudomonas sphaeroides*: preliminary characterization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1984. Vol. 81, № 15. P. 4795-4799.
38. Allen J. P., Feher G., Yeates T. O., Komiya H., Rees D. C. Structure of the reaction center from *Rhodobacter sphaeroides* R-26: the protein subunits. *Proc. Nat. Acad. Sci USA*. 1987. Vol. 84, № 17. P. 6162-6166.
39. Chang C. H., El-Kabbani O., Tiede D., Norris J., and Marianne Schiffer Structure of the membrane-bound protein photosynthetic reaction center from *Rhodobacter sphaeroides*. *Biochemistry*. 1991. Vol. 30, № 22. P. 5352-5360.
40. Koepke J.Krammer E. M., Klingen A. R., Sebban P., Ullmann G. M., Fritzsche G. pH modulates the quinone position in the photosynthetic reaction center from *Rhodobacter Sphaeroides* in the neutral and charge separated states. *J.Mol.Biol*. 2007. Vol. 371, № 2. P. 396–409.
41. Feher G., Okamura M. Y., Kleinfeld D. Electron transfer reaction in bacterial photosynthesis: charge-recombination kinetics as a structure proe. *Proceeding in life sciences. Protein structure*. New York: Springer-Verlag. 1987. P. 399–421.
42. Clayton R.K. Yau H. F. Kinetics of the oxidation and reduction of P-870 as affected by external factors. *Biophysical J*. 1972. Vol. 12, № 7. P. 867–881.
43. Feher G., Allen J. P., Okamura M. Y., Rees D. C. Structure and function of bacterial photosynthesis reaction senters. *Nature*. 1989. Vol. 339, № 6220. P. 111–116.
44. Kirmaier C. Holten D. An assesement of the mechanism of Initial electron transfer in bacterial reaction centers. *Biochemistry*. 1991. Vol. 30, № 3. P. 609–613.

45. Moser C. C., Keske J. M., Warncke K., Farid R. S., Dutton P.L. Nature of biological electron transfer. *Nature*. 1992. Vol. 355, № 6363. P. 796–802.
46. Okamura M. Y., Paddock M. L., Graige M. S., Feher G. Proton and electron transfer in bacterial reaction centers. *Biochim. Biophys. Acta*. 2000. Vol. 1458. P. 148–163.
47. Sebban P., Maroty P., Hanson D. K. Electron and proton transfer to the quinones in bacterial photosynthetic reaction centers: insight from combined approaches of molecular genetics and biophysics. *Biochimie*. 1995. Vol. 77, № 7–8. P. 677–694.
48. Williams R. J. P., Concar D. Biological chemistry: Long-range electron transfer. *Nature*. 1986. V. 322, № 6076. P. 213–214.
49. Paddock M. L., Rongey S. H., Abresch E. C. Reaction centers from three herbicide-resistant mutants of *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1: sequence analysis and preliminary characterization. *Photosynthesis Research*. 1988. Vol. 17. P. 17–96.
50. Williams J. C., Steiner L. A., Feher G. Primary structure of the M subunit of the reaction center from *Rhodospseudomonas sphaeroides*. *Pros. Nat. Acad. Sci. USA*. 1983. V. 80, № 21. P. 6505–6509.
51. Michel-Beyerle M. E., Plato M., Deisenhofer J. Unidirectionality of charge separation in reaction centers of photosynthetic bacteria. *J. Biochem. Biophys. Acta, Bioenergetics*. 1988. Vol. 932, № 1. P. 52–70.
52. de Boer A. L., Neerken S., de Wijn R. B-branch electron transfer in reaction centers of *Rhodobacter sphaeroides* assessed with site-directed mutagenesis. *Photosynth Res*. 2002. Vol. 71, № 3. P. 221–239.
53. de Boer A. L., Neerken S., de Wijn R. High yield of B-branch electron transfer in a quadruple reaction center mutant of the photosynthetic bacterium *Rhodobacter sphaeroides*. *Biochemistry*. 2002. V. 41, № 9. P. 3081–3088.

54. Wang H., Lin S., Woodbury N. W. Electronic transitions of the Soret band of reaction centers from *Rhodobacter sphaeroides* studied by femtosecond transient absorbance spectroscopy. *J. Phys. Chem. B*. 2006. V. 110, № 13. P. 6956–6961.
55. Katilius E., Bever J. L., Katiliene Z. Manipulations of the B-side charge-separated states energetics in the *Rhodobacter sphaeroides* reaction center. *J. Phys. Chem. B*. 2003. V. 107, № 43. P. 12029–12034.
56. Haffa A. L. M., Lin S., Williams J. C. High yield of long-lived B-side charge separation at room temperature in mutant bacterial reaction centers. *J. Phys. Chem. B*. 2003. V. 107, № 45. P. 12503–12510.
57. Katilius E., Katiliene Z., Lin S. B-side electron transfer in a *Rhodobacter sphaeroides* reaction center mutant in which the B-side monomer bacteriochlorophyll is replaced with bacteriopheophytin: low temperature study and energetics of charge separated states. *J. Phys. Chem. B*. 2002. V. 106, №6. P. 1471–1475.
58. Katilius E., Katiliene Z., Lin S. B-side electron transfer in the HE (M182) reaction center mutant from *Rhodobacter sphaeroides*. *Phys. Chem. B*. 2002. V. 106, № 47. P. 12344–12350.
59. Kee H. L., Laible P. D., Bautista J. A. Determination of the rate and yield of B-side quinine reduction in *Rhodobacter capsulatus* reaction centers. *Biochemistry*. 2006. Vol. 45, № 23. P. 7314–7322.
60. Красильников П.М., Горохов В.В., Горячева Е.А., Нокс П.П., Пащенко В.З., Рубин А.Б. Исследование электрон-транспортных реакций и окислительно-восстановительных свойств фотоактивного бактериохлорофилла в реакционных центрах *Rhodobacter sphaeroides*, модифицированных и криорастворителями. *Биологические мембраны*. 2000. Т. 17, № 3, с. 271–281

61. Оленчук М.В. Дослідження кінетики фотозбудження та релаксації біологічних макромолекул у просторово розподілених системах : дис. канд. фіз.-мат. наук : 03.00.02 / Київ, 2005. 160 с.
62. Кононенко А. А., Нокс П. П., Чаморовский С. К. Перенос електрона и внутримолекулярная динамика фотосинтетических реакционных центров. *Хим. Физика*. 1986. Т. 5. С. 795–804.
63. Andreasson U., Andreasson L.-E. Characterization of a semi-stable, charge-separated state in reaction centers from *Rhodobacter sphaeroides*. *Photosynthesis Research*. 2003. V. 75, №3. P. 223–233.
64. Stuchebrukhov A. A. Electron tunneling in many-electron systems. Effective one-electron approximation. *J.Chem.Phys.* 2003. V. 118, № 17. P. 7898–7906.
65. Gudowska-Nowak E. Effects of heterogeneity on relaxation dynamics and electron-transfer rates in photosynthetic reaction centers. *J.Phys.Chem.* 1994. V. 98, № 20. P. 5257–5264.
66. Bixon M., Jortner J. Solvent relaxation dynamics and electron transfer. *Chem. Phys.* 1993. V. 176, № 2-3. P. 467–481.
67. Marcus R. A. On the theory of oxidation-reduction reactions involving electron transfer. *J.Chem. Phys.* 1956. V. 24, № 5. P. 966–978.
68. Xu D. Coupling of protein motion to electron transfer in a photosynthetic reaction center: investigation the low temperature behavior in the framework of spin-boson model. *Chem. Phys.* 1994. V. 182, № 2-3. P. 91–117.
69. Frauenfelder H., Sligar S.G., Wolynes P.G. The energy landscapes and motions of proteins. *Science*. 1991. V. 254, Issue 5038. P. 1598–1603.
70. Frauenfelder, H, Wolynes, P G. Biomolecules: Where the physics of complexity and simplicity meet. *Physica Today*. 1994. V. 47, № 2. P. 58.

71. Gafert J., Friedrich J., Vanderkooi J. M., Judit Fidy J. Structural Changes and Internal Fields in Proteins: A Hole-Burning Stark Effect Study of Horseradish Peroxidase. *J. Phys. Chem.* 1995. V. 99, № 15, 5223–5227.
72. Frauenfelder H., Ben McMahon B. Dynamics and function of proteins: The search for general concepts. *PNAS*. 1998 V. 95, № 9. P. 4795–4797
73. Fenimore P. W., Frauenfelder H., McMahon B. H., Parak F. G. Slaving: Solvent fluctuations dominate protein dynamics and functions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002. V. 99, № 25. P. 16047–16051.
74. Kleinfeld D., Okamura M.Y., Feher G. Electron transfer in reaction centers of *Rhodospseudomonas sphaeroides*. I. Determination of the charge recombination pathway of D+Q(A)Q-(B) and free energy and kinetic relations between Q-(A)Q(B) and Q(A)Q-(B). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1984. № 766 (1). P. 126–140.
75. Kleinfeld D., Okamura M.Y., Feher G. Electron transfer in reaction centers of *Rhodospseudomonas sphaeroides*. II. Free energy and kinetic relations between the acceptor states Q(A)-Q(B)- and Q(A)Q2-(B). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1985. № 809(3). – P. 180603-1–180603-4.
76. Arata H., Parson W. Delayed fluorescence from *Rhodospseudomonas sphaeroides* reaction centers. Enthalpy and free energy changes accompanying electron transfer from P-870 to quinones. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1981. V. 638, Issue 2. P. 201–209.
77. Sivakumar V., Wang R., Hastings G. Photo-Oxidation of P740, the Primary Electron Donor in Photosystem I from *Acaryochloris marina*. *Biophysical Journal*. 2003. V. 85, Issue 5. P. 3162–3172
78. Kleinfeld D., Okamura M. Y. Electron transfer kinetics in photosynthetic reaction centers cooled to cryogenic temperatures in the charge-separated state: Evidence of light-induced structural changes. *Biochemistry*. 1984. V. 23. P. 5780–5786.

79. Kleinfeld D., Okamura M. Y., Feher G. Electron-transfer kinetics in photosynthetic reaction centers cooled to cryogenic temperatures in the charge-separated state: evidence for light-induced structural changes. *Biochemistry*. 1984. № 23 (24). P. 5780–5786.
80. McMahon B. H., Müller J. D., Wraight C.A., Nienhaus G. U. Electron Transfer and Protein Dynamics in the Photosynthetic Reaction Center. *Biophysical Journal*. 1998. V. 74, Issue 5. P.2567–2587.
81. De Vault D., Parkes J. H., Chance B. Electrone tunneling in cytochromes. *Nature*. 1967. Vol. 215, № 5101. P. 642–644.
82. Peskin U., Edlind A., Bar-On L. Transient resonance structures in electron tunneling through water. *J. Chem. Phys.* 1999. Vol. 111, № 16. P. 7558–7566.
83. Galperin M., Nitzan A. Inelastic effects in electron tunneling through water layers. *J. Chem. Phys.* 2001. Vol. 115. P. 2681–2694.
84. Galperin M., Nitzan A., Ratner M. A. Resonant inelastic tunneling in molecular junctions. *Phys. Rev. B*. 2006. Vol. 73. P. 045314-1–045314-13.
85. Balabin I. A., Onuchic J. N. Dynamically controlled protein tunneling paths in photosynthetic reaction centers. *Science*. 2000. Vol. 290, № 5489. P. 114–117.
86. Skourtis S. S., Archontis G., Xie Q. Electron transfer through fluctuating bridges: on the validity of the superexchange mechanism and time-dependent tunneling matrix elements. *J. Chem. Phys.* 2001. Vol. 115, № 20. P. 9444–9462.
87. Tang J. Effects of a fluctuating electronic coupling matrix element on electron transfer rate. *J. Chem. Phys.* 1993. Vol. 98, № 8. P. 6263–6266.
88. Kuznetsov A. M., Sokolov V. V., Ulstrup J. A semiclassical theory of electron transfer reactions in Condon approximation and beyond. *J. Electroanal. Chem.* 2001. Vol. 502, № 1. P. 36–46.

89. Pudlak M. Electron transfer driven by conformational variations. *J. Chem. Phys.* 1998. Vol. 108, №13. P. 5621–5625.
90. Шайтан К. В., Упоров В., Лукашёв Е. П. Фотоконформационный переход – причина температурных и световых эффектов при рекомбинации зарядов в реакционных центрах фотосинтезирующих бактерий. *Молекулярная биология*. 1991. Т. 25. С. 695–705.
91. Котельников А. И. Белки как природные наноструктуры. Роль квантовых и динамических факторов в дистанционном переносе электронов в белках. *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И.Менделеева)*. 2002. Т. XLVI, №5. С. 42–49.
92. Шайтан К. В. Диффузия лигандов в белках. *Соросовский образовательный журнал*. 2000. Т. 6, № 6. С. 8–13.
93. Шайтан К. В. Каким образом электрон движется по белку. *Соросовский образовательный журнал*. 1999. №3. С. 55–62.
94. Шайтан К. В. Конформационная динамика и новые подходы к физическим механизмам элементарных актов переноса массы, трансформации энергии и передачи информации в биомacroмолекулярных структурах. *Молекулярная биология*. 1994. Т. 28, № 3. С. 670–678.
95. Шайтан К. В. Конформационная подвижность белка с точки зрения физики. *Соросовский образовательный журнал*. 1999. №5. С. 8–13.
96. Рубин А. Б. Кинетика биологических процессов / А. Б. Рубин // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – №10. – С. 84–91.
97. Рубин А. Б., Пытьева Н. Ф., Ризниченко Г. Ю. Кинетика биологических процессов. М. : Изд-во МГУ, 1987. 304 с.
98. Лахно В. Д. Компьютеры и суперкомпьютеры в биологии / Под. ред. В.Д. Лахно и М.Н. Устинина. Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2002. 528 с.

99. Lakhno V. D. Dynamical Theory of Primary Processes of Charge Separation in the Photosynthetic Reaction Center. *Journal of Biological Physics*. 2005. V. 31. P. 145–159.
100. Воробьев А.Х. Теория элементарного акта химических реакций в конденсированной фазе. Москва : МГУ им. Ломоносова, 2017. 102 с.
101. Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Динамические модели процессов в клетках и субклеточных наноструктурах / Под об. ред. Ризниченко Г.Ю. и Рубина А.Б. Ижевск : Издательство «РХД», 2010. 448 с.
102. Skourtis S. S., Mukamel S. // *Chemical Phys.*, 1995, v. 197, p. 367.
103. Cukier R. I., Jianjun Zhu. Simulation of Proton Transfer Reaction Rates: The Role of Solvent Electronic Polarization. *The Journal of Physical Chemistry B*. 1997. V. 101, № 36. P. 7180–7190.
104. Zakharova N. I. Churbanova I. Y. Methods of isolation of reaction center preparations from photosynthetic purple bacteria. *Biochemistry*. 2000. Vol. 65. P. 181–193.
105. Olenchuk M. V., Barabash Yu. M., Christophorov L. N., Kharkyanen V. N. Peculiarities of light propagation through the media of molecules with long-lived photoexcited states. *Chem.Phys.Letters*. 2007, V. 447. P. 358–363.
106. Olenchuk M., Barabash Y., Kharkyanen V. Sample size effects in photoexcitation of biological molecules. *Evolution from Cellular to Social Scales: NATO ASI 2007.*: book of abstract, Geilo (Norway), 10-20 Apr 2007. P. 11.
107. Olenchuk M. V., Barabash Y. M., Christophorov L. N. Light propagation through solutions of molecules with long-lived photoexcited states. *Physics of Liquid Matter: Modern Problems*: the 4 Intl. Conf., 23-26 May 2008.: book of abstract, Kiev, 2008. P. 191.

108. Барабаш Ю. М. Программно-апаратний комплекс для дослідження біомолекулярних систем з фотопереносом заряду. *Биофизика*. 1987. № 32, вып. 5. С. 814–829.
109. Дьяконов В.П., Абраменкова И.В. Mathcad 8 PRO в математике, физике и Internet. М.: «Нолидж», 2000. 512 с.
110. Barabash Y. M., Lyamets A. K. A method of decomposition of the basic reaction of biological macromolecules into exponential components. *Nanoscale Res. Lett.* 2016. V. 11, № 1. P. 1–5.
111. Gen M., Cheng R. Genetic algorithms and engineering design. John Wiley & Sons, 1997. 352 p.
112. Холл Д. Рао К. Фотосинтез. Пер. с английского А. О. Ганаго. М. : Мир, 1983. 134 с.
113. Чуи К. Введение в вэйвлеты. М.: Мир, 2001. 412 с.
114. Астафьева Н.М. Вейвлет-анализ: Основы теории и примеры применения. *Успехи физических наук*. 1996. Т. 166, № 11. С. 1145–1170.
115. Штарк Г.-Г. Применение вейвлетов для ЦОС. М.: Техносфера, 2007. 192 с.
116. Воробьев В.И., Грибунин В.Г. Теория и практика вейвлет-преобразования. СПб.: ВУС. 1999. 204 с.
117. Дьяконов В.П. Вейвлеты. От теории к практике. Изд. 2-е перераб. и доп. М.: СОЛОН- Пресс, 2004. 400 с.
118. Дремин И., Иванов О., Нечитайло В. Вейвлеты и их использование. *Успехи физических наук*. 2001. Т. 171, № 5. С. 465–501.
119. Мала С. Вэйвлеты в обработке сигналов: Пер. с англ. М.: Мир, 2005. 671 с.

120. Переберин А.В. О систематизации вейвлет-преобразований. *Вычислительные методы и программирование*. 2001. Т. 2, № 2. С. 133–158.
121. Ситніков В.С., Біленко А.О. Класифікація вейвлет-функцій. *Труды Одесского политехнического университета*. 2007. № 2(28). С. 168–171.
122. Torrence G., Compo G. P. A practical guide to wavelet analysis. *Bull. Amer. Meteorol. Soc.* 1998. V. 79, № 1. P. 61–78.
123. Pereberin A. V. From Photon Map to Irradiance Function via Wavelet Transform. *GraphiCon '97 Proceedings*. 1997. P. 38–43.
124. Deshmukh S. S., Williams J. C., Allen J. P., Kalman L. Light-induced conformational changes in photosynthetic reaction centers: dielectric relaxation in the vicinity of the dimer. *Biochemistry*. 2011. V. 50, № 3. P. 340–348.
125. Kharkyanen V. N., Barabash Y. M., Berezetskaya N. M., Lukashev E. P., Knox P. P., Christophorov L. N. Peculiarities of light-induced slow protein dynamic in the photosynthetic reaction center. *Chemical Physics Letters*. 2011. V. 512. P. 113–117.
126. Golbeck J., Art van der Est. *The Biophysics of Photosynthesis*. Springer, 2014. 465 p.
127. Е. П. Лукашев, П. П. Нокс, А. Б. Рубин Анализ кинетики рекомбинации фоторазделенных зарядов в реакционных центрах *Rhodobacter sphaeroides* методом изучения распределения времен релаксации. *Биофизика*. 2009. Т. 54, № 3. С. 425–433.
128. Пискунов Н. С. Дифференциальное и интегральное исчисления. М.: Наука, Главная редакция физико-математической литературы, 1985. 560 с.

129. Кочубей С. М. Организация фотосинтетического аппарата высших растений. Киев: «Алтерпрес», 2001. 204 с.
130. Gousha A. O., Kharkyanen V. N., Scott G. N., Alfred R., Holzwarth A. R. Self- regulation phenomena in bacterial reaction centers. *Biophysical Journal*. 2000. V. 79, P. 1237–1252.
131. Барабаш Ю. М., Гуца А. О., Капустина М. Т., Оленчук М. В., Харкянен В. Н. Медленная конформационная динамика фотовозбужденных реакционных центров Rb.sphaeroides при различных температурах. *Біополімери та клітина*. 2002. Т. 18, № 3. С. 196–205.
132. Скулачев В. П. Законы биоэнергетики. *Соросовский образовательный журнал*. 1997. № 1. С. 9–14.
133. Скулачев В. П. Эволюция механизмов запасаения энергии. *Соросовский образовательный журнал*. 1997. № 5. С. 11–19.
134. Нокс П. П., Красильников П. М., Мамонов П. А., Сейфулина Н. Х., Учоа А. Ф., Баптиста М. С. О стабилизации электрона в хинонной акцепторной части реакционных центров бактерий *Rhodobacter sphaeroides*. *Биофизика*. 2008. Т. 53, № 4. С. 624–631.
135. Chamorovsky S. K., Chamorovsky C. S., Knox P. P., Chizhov I. V., Zubov B. V. Dynamics of Electron Transfer from High-Potential Cytochrome c to Bacteriochlorophyll Dimer in Photosynthetic Reaction Centers as Probed using Laser-Induced Temperature Jump. *Eur. Biophys. J.* 2007. V. 36. P. 601–608.

Додаток А. Список публікацій здобувача за темою 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).*

Публікації у виданнях наукометричних баз SCOPUS

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. *Nanotechniligy 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).