

Оригінальна стаття

БІОФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2018-40-04>

УДК 577.32+535.34

АНАЛІЗ ФОТОІНДУКОВАНИХ ОБОРІТНИХ ЗМІН В БАКТЕРІАЛЬНИХ РЕАКЦІЙНИХ ЦЕНТРАХ ПРИ НЕРІВНОВАЖНИХ УМОВАХ**Ю.М. Барабаш¹, Т.В. Серденко¹, П.П. Нокс², О.Ю. Бондаренко³**¹Інститут фізики НАН України, проспект Науки, 46, Київ, 03028, Україна²Московський державний університет імені М.В. Ломоносова, вул. Ленінські Гори, 1, Москва, 119991, Російська Федерація³Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022, Україна
e-mail: ybar@ukr.net, tais.serdenko@gmail.com

Надійшла до редакції 26 січня 2018 р.

Прийнято 15 травня 2018 р.

Актуальність. 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. Експериментальна кінетика циклічного перенесення електрона в молекулярних комплексах має мультиекспоненціальний характер з негативними значеннями декрементів, параметри яких взаємопов'язані. Для її опису використовується система балансних рівнянь.

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

Матеріали та методи. Вимірювання кінетики поглинання в РЦ виконувалося на довжині хвилі 865 нм за допомогою двоканального діодного спектрометра. Експериментальна кінетика поглинання РЦ (основна реакція системи) представлена методом фітування у вигляді суми трьох експоненціальних функцій. У першій моделі зі змінними в часі константами швидкості балансних рівнянь використовували метод вейвлет-перетворення логарифмічної похідної кінетики переносу електрона. У другій моделі використовували рівняння стану і три диференціальних рівняння з постійними коефіцієнтами у вигляді алгебраїчної суми констант швидкостей. Для визначення значень констант швидкостей в рівнянні балансу вирішували оптимізаційну задачу, у якості цільової функції використовували параметри експоненціальних функцій експериментальної кінетики. Розв'язок системи рівнянь балансу матричним методом дозволив визначити особливості кінетики заселеності підстанів РЦ.

Результати розрахунків показали, що особливості вейвлет спектра логарифмічної похідної кінетики переносу електрона в першій моделі збігалися з особливостями кінетики заселеності підстанів РЦ другої моделі РЦ. Ці особливості кінетики перебували в діапазонах 1 с, 3 с, 60 с від моменту включення (виключення) світла і залежали від параметрів фотозбудження РЦ.

Висновки. Особливості кінетики заселеності підстанів РЦ як на етапі освітлення, так і на етапі релаксації визначаються змінами структури РЦ у вигляді ефектів структурної саморегуляції РЦ (зворотного зв'язку через структуру РЦ).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: реакційні центри; перенос електрона; вейвлет аналіз; константи швидкості.

ANALYSIS OF PHOTOINDUCED REVERSE CHANGES IN BACTERIAL REACTION CENTERS**Y.M. Barabash¹, T.V. Serdenko¹, P.P. Knox², O.Y. Bondarenko³**¹Institute of Physics, NAS of Ukraine, Prospect Nauky, 46, 03028 Kyiv, Ukraine²Lomonosov Moscow State University, GSP-1, Leninskie Gory, 119991 Moscow, Russia³Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, 31/17 Vasylkivska St., 03022 Kyiv, Ukraine

Background: 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.

Objective 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.

Materials and methods: Measurement of the absorption kinetics was performed at 865 nm using a two-channel diode spectrometer. The experimental kinetics of RC absorption (the main reaction of the system) was represented by the fitting method in the form of a sum of three exponential functions. In the first model with time-variable rate constants of the balance equations, the wavelet transform method of the logarithmic derivative of the electron transfer kinetics was used. In the second model, the equation of state and three differential equations with constant coefficients were used as the algebraic sum of the rate constants. To determine the values of the rate constants in the balance equation, an optimization problem was solved. The solution of the system of balance equations by the matrix method made it possible to determine the features of the kinetics of the population of substates of the RC.

Results of calculations showed that the features of the wavelet spectrum of the logarithmic derivative of the electron transfer kinetics in the first model coincided with the features of the population kinetics of substates of the RC of the second RC model. These features were in the bands 1 s, 3 s, 60 s from the moment of switching on (off) the light and depend on the photoexcitation parameters.

Conclusions: The features of the kinetics of the populations of substates in the RC both at the stage of illumination and at the relaxation stage are determined by changes in the structure of the RC in the form of effects of hidden parameters of the structural self-regulation of the RC (feedback through the RC structure).

KEY WORDS: reaction centers; electron transport; wavelet analysis; rate constants.

АНАЛИЗ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ ОБРАТИМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРАХ

Ю.М. Барабаш¹, Т.В. Серденко¹, П.П. Нокс², О.Ю. Бондаренко³

¹Институт физики НАН Украины, проспект Науки, 46, Киев, 03028, Украина

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, ул. Ленинские Горы, 1, Москва, Российская Федерация, 119991.

³Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, ул. Васильковская, 31/17, Киев, 03022, Украина

Актуальность. Мембранные белково-пигментные комплексы фотосинтетических изолированных реакционных центров (РЦ) *Rhodobacter Sphaeroides* являются макромолекулярными системами, которые широко используются для изучения физических механизмов транспорта электронов и протонов в биологических структурах, роли молекулярной динамики. Экспериментальная кинетика циклического переноса электрона в молекулярных комплексах имеет мультиэкспоненциальный характер с отрицательными декрементами, параметры которых взаимосвязаны. Для ее описания используется система балансных уравнений.

Целью работы является определение особенностей кинетики циклического переноса электрона в РЦ с использованием двух моделей электронного переноса и связь таких особенностей с пространственно-временными движениями в РЦ.

Материалы и методы. Измерение кинетики поглощения в РЦ выполнялось на длине волны 865 нм с помощью двухканального диодного спектрометра. Экспериментальная кинетика поглощения (основная реакция системы) была представлена в виде суммы трех экспоненциальных функций. В первой модели с переменными во времени константами скорости балансных уравнений использовали метод вейвлет-преобразования логарифмической производной кинетики переноса электрона. Во второй модели использовали уравнение состояния и три дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами в виде алгебраической суммы констант скоростей. Для определения значений констант скоростей в уравнении баланса решали оптимизационную задачу, в которой использовали в качестве целевой функции параметры экспоненциальных функций экспериментальной кинетики переноса электрона. Решение системы уравнений баланса матричным методом позволило определить особенности кинетики населенности подсостояний РЦ. **Результаты** расчетов показали, что особенности вейвлет спектра логарифмической производной кинетики переноса электрона в первой модели совпадали с особенностями кинетики населенностей подсостояний РЦ второй модели РЦ. Особенности кинетики находились в диапазонах 1 с, 3 с, 60 с от момента включения (выключения) света и зависели от параметров фотовозбуждения.

Выводы. Особенности кинетики населенностей подсостояний РЦ как на этапе освещения, так и на этапе релаксации определяются изменениями структуры РЦ в виде эффектов скрытых параметров структурной саморегуляции РЦ (обратной связи через структуру РЦ).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: реакционные центры; перенос электрона; вейвлет анализ; константы скорости.

Білково-пігментні комплекси фотосинтетичних ізольованих РЦ *Rhodobacter Sphaeroides* є макромолекулярними системами, які широко використовуються для вивчення фізичних механізмів транспорту електронів і протонів в біологічних структурах, вивчення ролі молекулярної динаміки у визначенні структури та властивостей білків, прогнозуванні їх конформаційних характеристик. Часто експериментальна кінетика циклічного перенесення електрона має мультиекспоненціальний характер з негативними значеннями декрементів, а для її опису використовуються різні системи диференціальних рівнянь балансу з константами швидкості перенесення електрона.

Структура РЦ добре вивчена. При фотозбужденні РЦ поглинений квант світла викликає утворення екситона димера бактеріохлорофіла (донора електрона). Електрон димера бактеріохлорофіла через мономер бактеріохлорофіла переходить на феофітин, з феофітина на акцептори (хінони Q_A , Q_B), долаючи відстань 40\AA . На кожному з цих кофакторів ланцюга перенесення електрона структурно-динамічні властивості РЦ відіграють значну роль [1-8]. Не меншу роль вони відіграють і в процесах релаксації РЦ, коли після вимикання світла електрон повертається на димер бактеріохлорофіла. При тривалому фотозбужденні РЦ, процес перенесення електрона повторюється, стає циклічним. При цьому математичний вид експоненціальних складових кінетики не має виражених особливостей, їх параметри взаємопов'язані і залежать від режиму фотозбуждження [4-9].

Проблема полягала в тому, що в цих умовах параметри експоненціальних складових кінетики переносу електрона РЦ важко пов'язати з константами швидкостей рівнянь балансу. Складно визначити кількість незалежних підсистем РЦ, що ускладнює фізичну інтерпретацію експоненціальних компонент кінетики переносу електрона, їх зв'язок з просторово-часовими рухами макромолекул.

Завданням роботи є аналіз кінетики окислення і відновлення донора РЦ за допомогою комп'ютерного аналізу двох моделей електронного переносу. В одній моделі розглядалася дворівнева схема диференціальних рівнянь зі змінними в часі константами швидкості перенесення електрона. Аналіз моделі виконували за допомогою методу вейвлет-перетворення логарифмічної похідної кінетики переносу електрона РЦ. Вейвлет-перетворення полягає в згортанні вейвлета з досліджуваною функцією і дозволяє виявити її частотно-часові особливості. Однак особливості вейвлет-спектра досліджуваної функції важко інтерпретуються, їх вид залежить від типу і параметрів використовуваних вейвлетів [9-11]. У другій моделі розглядалася чотирьох рівнева схема диференціальних рівнянь з постійними в часі константами швидкості перенесення електрона. Аналіз полягав у визначенні кінетики заселеностей підстанів РЦ в результаті розв'язання матричним методом системи диференціальних рівнянь. Рівняння були отримані шляхом аналізу параметрів експоненціальних функцій, якими апроксимували кінетику переносу електрона. Використання системи диференціальних рівнянь дозволяє побудувати кінетичну схему переносу заряду в РЦ, визначити її параметри (константи швидкості), кількість електронно-комформаційних підстанів РЦ, кінетику їх заселеності. Однак, визначення значень коефіцієнтів системи диференціальних рівнянь є непростим завданням багатопараметричної оптимізації. Метою роботи є визначення в різних моделях особливостей кінетики переносу електрона РЦ, перевірки припущення про те, що вони обумовлені проявом прихованих параметрів структурної саморегуляції основний реакції РЦ.

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ

Ізольовані РЦ *Rhodobacter Sphaeroides* дикого типу були надані кафедрою біофізики МГУ ім. М.В. Ломоносова. Вони суспендувались в $0,01\text{ M Na-P}$ буфері, рН

7,2, який містив 0,05% LDAO [12]. Для проведення досліджень РЦ використовувався двокальний спектрометр під управлінням ПК. У каналі виміру поглинання використовувалися світло частотою 5 кГц з інтенсивністю ($0,2 \text{ мВт/см}^2$, $\lambda = 865 \pm 10 \text{ нм}$), яке забезпечувало вимірювання поглинання в діапазоні $0 \div 1$ з точністю 0,0005. У каналі збудження РЦ використовувалось світло з довжиною хвилі $\lambda = 870 \pm 50 \text{ нм}$, з інтенсивністю $0 \div 10 \text{ мВт/см}^2$ з кроком від 5 мВт/см^2 . Часова дискретність вимірювань від 0,01с. Вимірювальна кювета мала розміри $3 \times 1 \times 2,5 \text{ см}$ при товщині стінок 2 мм. Після розведення суспензія РЦ з концентрацією 10^{-6} М витримувалися в темряві при кімнатній температурі протягом 12 годин (темноадаптований стан). Світлоадаптований стан досягався шляхом висвітлення РЦ імпульсами світла різної тривалості (1 с, 5 с, 50 с, 120 с, 300 с, 600 с) з інтенсивністю $0,5 \text{ мВт/см}^2$, $1,5 \text{ мВт/см}^2$, $3,5 \text{ мВт/см}^2$. Після закінчення освітлення РЦ і досягнення темного значення поглинання, розчин РЦ додатково витримувався в темряві протягом 1500 с для досягнення рівноважного стану [13]. Потім повторювали освітлення РЦ наступним імпульсом світла. Відносна кількість центрів поглинання, швидкість переходу РЦ з одного стану в інший визначалося по кінетиці вицвітання лінії 865 нм спектра поглинання РЦ і пов'язувалася з кінетикою перенесення електрона з донора на акцептор [5]. Заселення донора електрона розраховувалась безпосередньо зі зміни максимального поглинання суспензії РЦ на довжині хвилі 870 нм. Нормування робили зі зміни поглинання РЦ у стаціонарному стані при інтенсивності збуджуючого світла $7,2 \text{ мВт/см}^2$.

Для аналізу електронно-конформаційних процесів в РЦ використовувалися дві моделі переносу електрона: дворівнева модель [5, 7] і модель з чотирма підстанами [13]. Згідно дворівневої моделі, РЦ знаходяться в основному (1) стані, коли електрон локалізований на донорі Р. При поглинанні кванта світла РЦ переходить в збуджений стан, а електрон переміщується на акцептор Q_B – стан (2). Кінетика переносу електрона в такій моделі задається постійним коефіцієнтом швидкості прямого (k_{12}) і коефіцієнтом зворотного (k_{21}) перенесення електрона на етапі освітлення РЦ, і коефіцієнтом зворотного переносу (k_{21}^T) на етапі релаксації РЦ після припинення освітлення. Останні коефіцієнти можуть залежати від часу. Тоді кінетика фотоіндукованого перенесення електрона в РЦ може бути описана диференціальними рівняннями балансу і стану:

$$\frac{dp(t)}{dt} = -k_{12}(I) \cdot p(t) + k_{21}(I, t) \cdot (1 - p(t)), \quad (1)$$

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

$p(t)$, $q(t)$ – ймовірності знаходження електрона на донорі, акцепторі (заселеності) з початковою умовою $p(1) = 1$.

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

$$\frac{dp(t)}{dt} = -k_{21}^T(t) \cdot q(t), \quad \text{або} \quad \frac{dq(t)}{q(t)dt} = -k_{21}^T(t), \quad (2)$$

де $k_{21}^T(t)$ константа швидкості перенесення електрона з акцептора(Q) надонор (P) після виключення світла.

Ліва частина виразу (2) дорівнює логарифмічній похідній ймовірності $q(t)$ знаходження електрона на акцепторі. Вона визначає залежність швидкості перенесення електрона з акцептора на донор від часу після виключення світла. Особливості часової залежності логарифмічної похідної кінетики більш виражені, ніж особливості самої кінетики електронного транспорту з акцептора на донор РЦ. Для виявлення цих

особливостей кінетику відновлення донора РЦ у процесі релаксації апроксимували сумою трьох експоненціальних функцій $\sum A_i e^{-d_i t}$, де A_i – ваговий коефіцієнт, d_i – декремент [14]. Потім по формулі (2) знаходили часову залежність логарифмічної похідної, яку аналізували за допомогою неперервного вейвлет перетворення (НВП). Таку ж операцію використовували при аналізі процесу кінетики окислення донора РЦ при освітленні імпульсом світла. У цьому випадку логарифмічна похідна ймовірності $p(t)$ знаходження електрона на донорі (його заселеність) при освітленні РЦ виражається не тільки через величини констант швидкості електронного транспорту. Цю кінетику можна апроксимувати сумою трьох експоненціальних функцій. Це дозволяє також дослідити її особливості за допомогою логарифмічної похідної $p(t)$. НВП має властивості масштабування, виявляє особливості сигналу, їх частотну та часову локалізацію. НВП має вигляд:

$$W(a, b) = \frac{1}{\sqrt{|a|}} \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \psi\left(\frac{t-b}{a}\right) dt \quad (3)$$

де $s(t)$ – функція, що аналізується, $\psi(t)$ – вейвлет, a – параметр, який визначає ширину вейвлета, b – параметр зсуву вейвлета по часовій осі.

У роботі використовували комплексний вейвлет Морле, який є гармонічною функцією з гаусовою огинаючою:

$$\psi_{Morlet}(t, a, b) = \frac{1}{\pi \sqrt{a}} \left[\exp\left(-i\varepsilon\left(\frac{t-b}{a}\right)\right) - \exp\left(-\frac{\varepsilon^2}{2}\right) \cdot \exp\left(-\left(\frac{t-b}{a}\right)^2 \cdot \varepsilon\right) \right]. \quad (4)$$

Такий вейвлет має гарну збіжність спектрограми аргумента до точок зміни сигналу. Він мінімізує частотно-часову невизначеність, неоднозначність інтерпретації отриманих вейвлет спектрів [11]. Тим не менше, параметри особливостей спектра залежать від вигляду вейвлета, що використовується [10, 11]. Це вносить суб'єктивність в методику дослідження сигналів. У зв'язку з цим для опису кінетики поглинання суспензії РЦ використовували модель у вигляді системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами, яка дозволяє визначити кількість підстанів РЦ, кінетику їх населеності в процесі циклічного електронного транспорту. Кількість диференціальних рівнянь дорівнює збільшеній на одиницю кількості експоненціальних компонент досліджуваної функції. Кінетична схема електронного транспорту при її апроксимації трьома експоненціальними функціями показана на рис. 1.

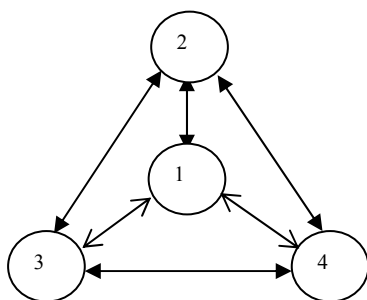


Рис.1. Кінетична схема електронного транспорту в РЦ *Rhodobactersphaeroides*. Стрілки відображають електронно-конформаційну взаємодію комплексу РЦ. Кінетичні константи (12 шт) диференціальних рівнянь пов'язані зі стрілками і відображають перенесення заряду між підстанами РЦ.

Цифри позначають електронно-конформаційні підстані РЦ. Підстан 1 відповідає перебуванню електрона на донорі РЦ. Підстані 2, 3, 4 відповідають перебуванню електрона на акцепторі РЦ. У багатопараметричній оптимізаційній задачі визначення коефіцієнтів двох систем диференціальних рівнянь (двох етапів перенесення) в якості цільової функції використовували отримані параметри експоненціальних складових кінетики, окремо для процесу окислення донора РЦ, окремо для процесу його відновлення (релаксації РЦ) [13]. Розв'язок диференціальних рівнянь (визначення їх

коефіцієнтів) дає кінетику заселеності таксономічних станів РЦ. Отримані дані про населеність підстанів РЦ порівняли з даними вейвлет аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

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. Такий часовий режим вимірювань забезпечує точність апроксимації поглинання експоненціальних функцій при розмірі файлу, який впливає на час розрахунку апроксимації. На рис. 2 а, б, в показано кінетику заселеності донора РЦ, отриману на основі експериментальної залежності показника поглинання суспензії РЦ при різних параметрах фотозбудження.

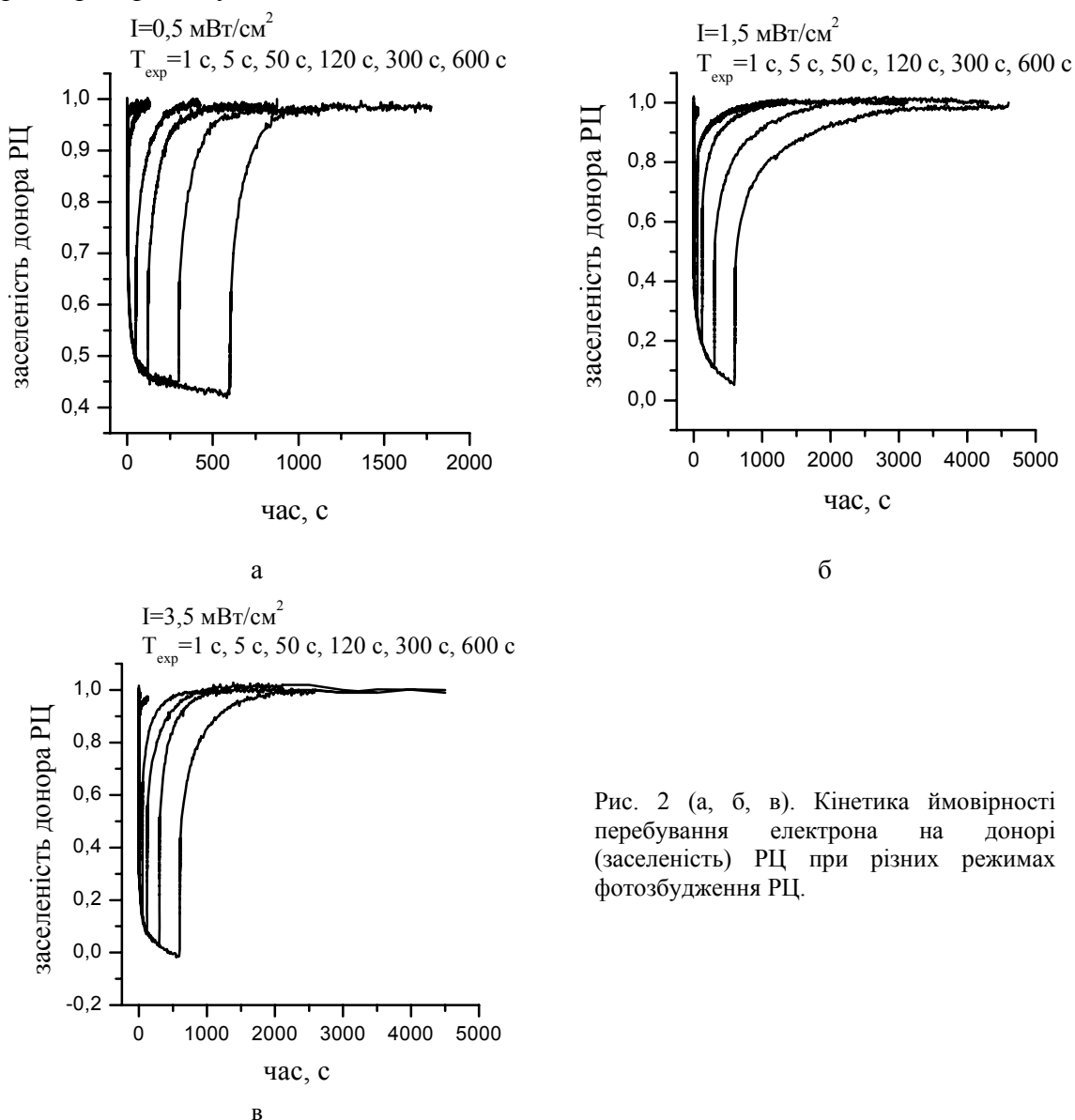


Рис. 2 (а, б, в). Кінетика ймовірності перебування електрона на донорі (заселеність) РЦ при різних режимах фотозбудження РЦ.

Апроксимація кінетики заселеності донора та акцептора при фотозбудженні РЦ за допомогою трьох експоненціальних функцій, кількість яких відповідає мінімуму середньоквадратичної похибки [14] показана на рис. 3. 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 1-4) були використані для вейвлет-аналізу та при побудові системи диференціальних рівнянь електронного транспорту РЦ.

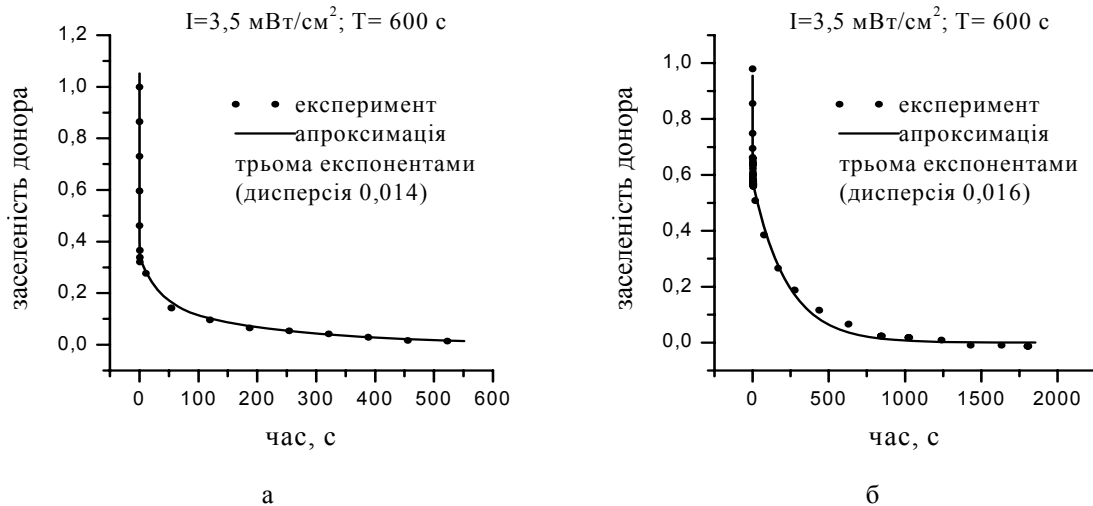


Рис. 3. Апроксимація експериментальної кінетики заселеності;
а) донора при фотозбудженні РЦ, б) акцептора після фотозбудження РЦ.

Таблиця 1. Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ при їх освітленні протягом 600 с з різною інтенсивністю.

I , [мВт/см ²]	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]
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

Таблиця 2. Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ після вимкнення фотозбуджуючого світла різної тривалості з інтенсивністю 0.5 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	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. Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ після вимкнення фотозбуджуючого світла різної тривалості з інтенсивністю 1.5 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	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

Таблиця 4. Параметри експоненціальних компонент кінетики поглинання РЦ після вимкнення фотозбуджуючого світла різної тривалості з інтенсивністю 3.5 мВт/см².

T _{exp} , [с]	d ₁ , с ⁻¹	A ₁	d ₂ , с ⁻¹	A ₂	d ₃ , с ⁻¹	A ₃
	декремент	вага[відн.од]	декремент	вага[відн.од]	декремент	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

Дані таблиць 2-4 показали (рис. 4), 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.

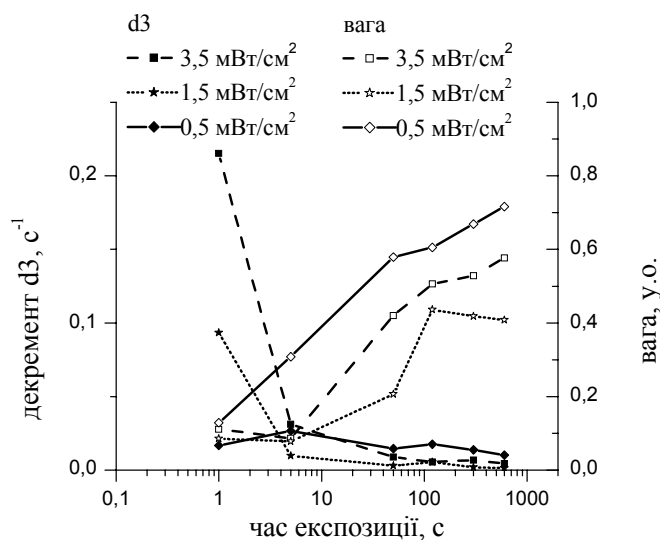
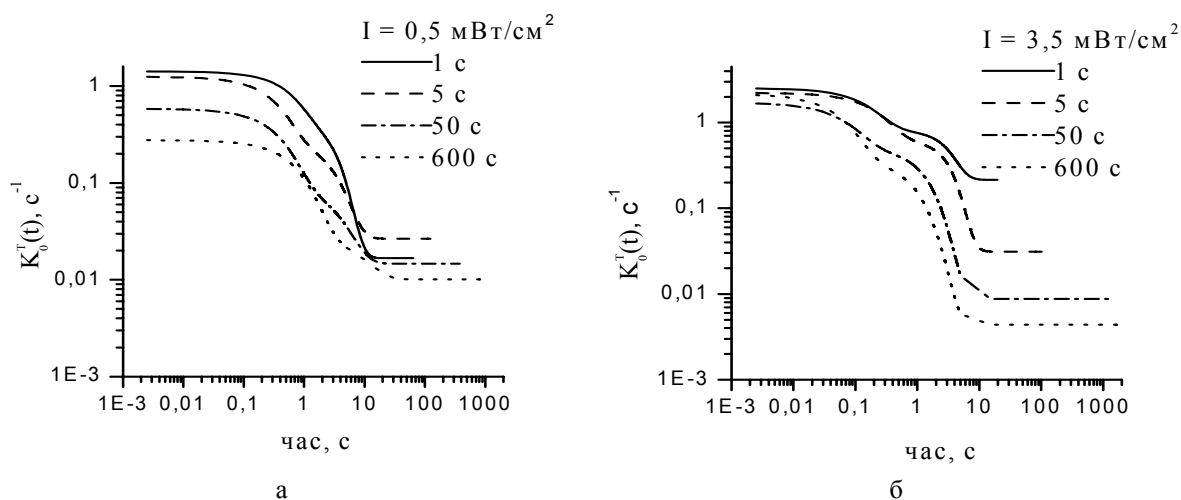


Рис. 4. Значення декременту і ваги повільної експоненціальної компоненти кінетики рекомбінації електрона РЦ з різними параметрами фото-збудження.

Рис. 5. Константа швидкості $k_{10}^T(t)$ електронного транспорту з акцептора (Q) на донор (P) після виключення 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. 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. 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. 6) при різних режимах фотозбудження РЦ показує їх задовільне співпадіння. Це дозволяє розглядати РЦ як систему з 4-х електрон-конформаційних підстанів.

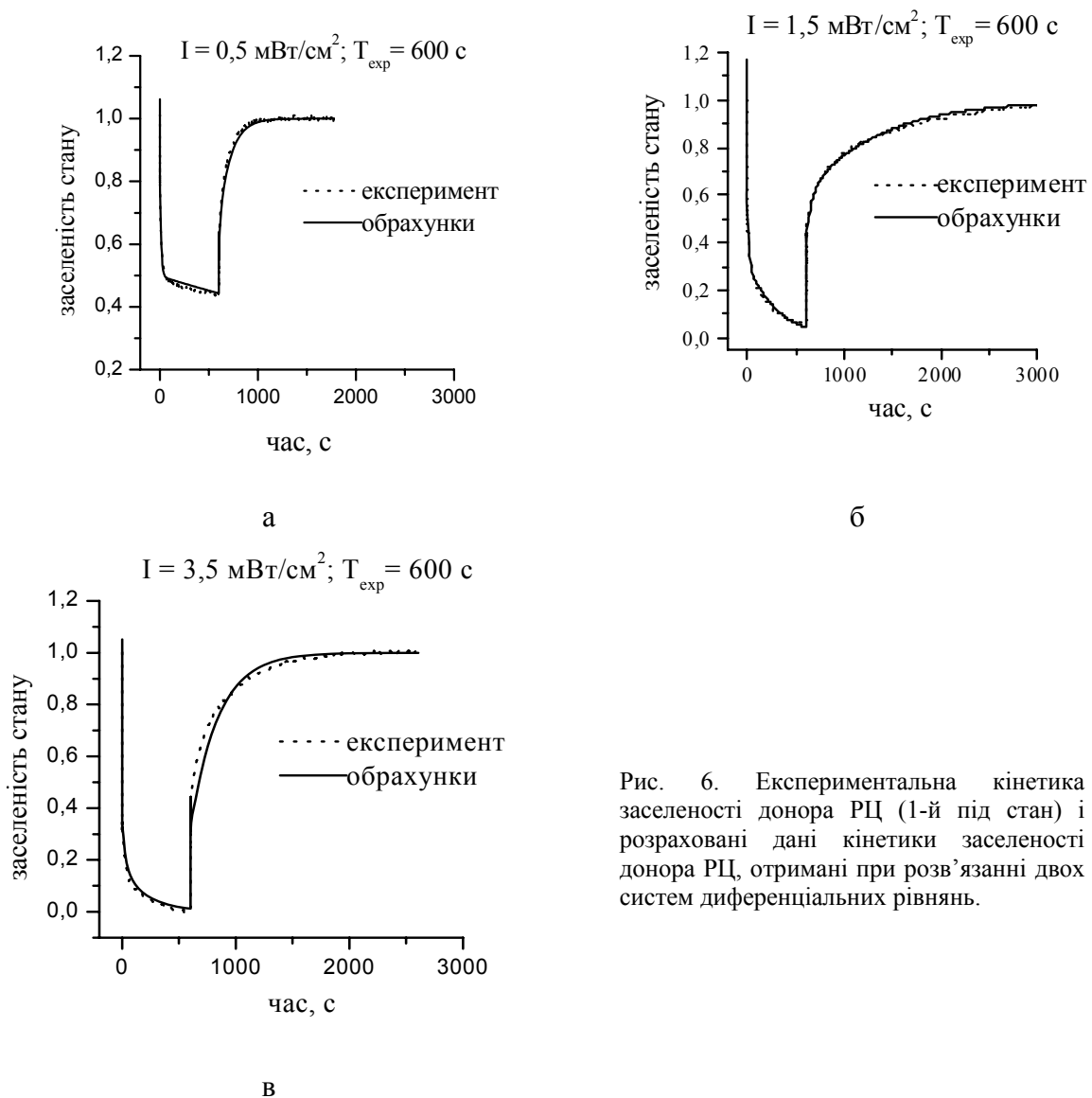


Рис. 6. Експериментальна кінетика заселеності донора РЦ (1-й під стан) і розраховані дані кінетики заселеності донора РЦ, отримані при розв'язанні двох систем диференціальних рівнянь.

На рис. 7 показані вейвлет-спектри логарифмічної похідної експериментальної кінетики заселеності донора РЦ і розрахункова кінетика таксономічних

станів РЦ. Вони мають виражені особливості як на етапі фотозбудження електрона при освітленні РЦ (окислення донора), так і на етапі рекомбінації електрона (відновлення донора РЦ) після виключення світла. 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. 7. а, в, е). На етапі рекомбінації електрона після виключення світла (рис. 7. 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 окислення (відновлення) донора РЦ.

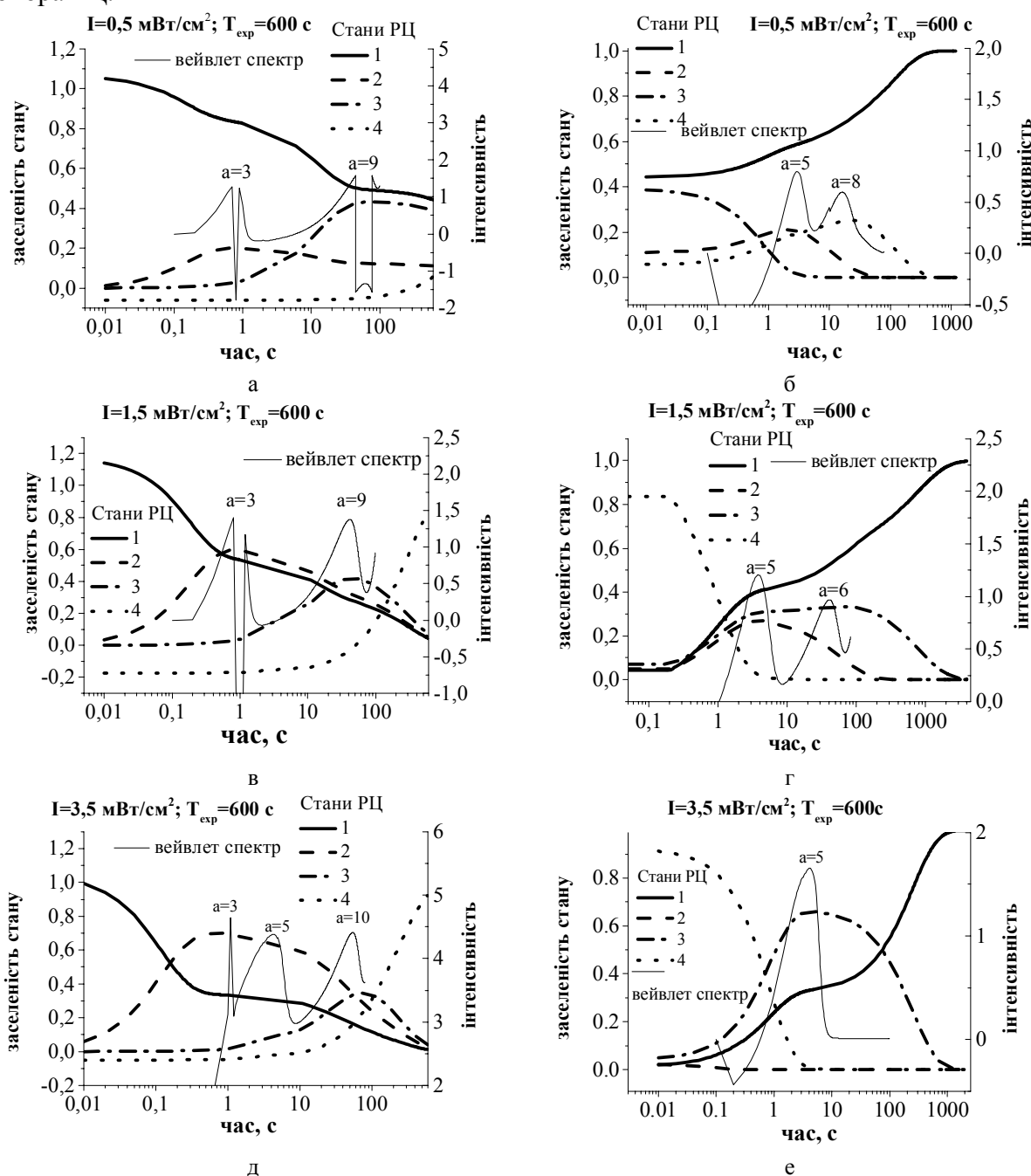


Рис. 7. Кінетика заселеності 4-х підстанів РЦ, отримана в результаті розв'язку системи диференціальних рівнянь та вейвлет спектр логарифмічної похідної експериментальної кінетики заселеності донора

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

Запропонована модель РЦ у вигляді системи з 4-х електрон-конформаційних підстанів, кінетична схема процесу фотоіндукованого перенесення електрона РЦ. Вона описується двома системами диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами.

Розрахована кінетика заселеності підстанів РЦ та експериментальний вейвлет-спектр логарифмічної похідної кінетики має екстремуми, часові параметри яких співпадають між собою при різних режимах фотозбудження. Особливості кінетики заселеності підстанів лежать у діапазоні 1 с, 3 с, 60 с і служать маркерами вейвлет спектру та динаміки структурних змін РЦ.

Вони характеризують просторово-часові рухи молекул РЦ та зумовлені ефектами саморегуляції основної реакції.


ПОДЯКА


Стаття містить результати досліджень НДР «Дослідження структурних та динамічних властивостей природних та штучних наносистем, що містять біологічні макромолекули та їх комплекси» (№ держреєстрації 0113U000838, 2012-2017).


КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ


Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Authors' ORCID ID

Y.M. Barabash  <https://orcid.org/0000-0002-5596-5550>

T.V. Serdenko  <https://orcid.org/0000-0002-1157-6115>

P.P. Knox  <https://orcid.org/0000-0002-7038-5386>

O.Y. Bondarenko  <https://orcid.org/0000-0002-6859-7136>

REFERENCES

1. Feher, G., Allen, J.P., Okamura, M.Y., Rees, D.C. (1989). Structure and function of bacterial photosynthetic reaction centres. *Nature*, 339, 111-116.
2. Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, R., Huber, R., Michel, H. (1985). Structure of the protein subunits in the photosynthetic reaction centre of *Rhodospseudomonasviridis* at 3Å resolution. *Nature*, 318, 618-624.
3. Andreasson, U., Andreasson, L.E. (2003). Characterization of a semi-stable, charge-separated state in reaction centers from *Rhodobacter sphaeroides*. *Photosynth Res.*, 75(3), 223-233.
4. Qiang, Xu, and Gunner M.R. (2001) Trapping Conformational Intermediate States in the Reaction Center Protein from Photosynthetic Bacteria. *Biochemistry*, 40(10), 3232-324.
5. Rubin, A.B. (2017). *Compendium of Biophysics*. Wiley. 666 p.
6. Deshmukh, S.S., Williams, J.C., Allen, J.P., Kalman, L. (2011). Light-induced conformational changes in photosynthetic reaction centers: dielectric relaxation in the vicinity of the dimer. *Biochemistry*. 50(3), 340-834.

7. Kharkyanen, V.N., Barabash, Y.M., Berezetskaya, N.M., Lukashev, E.P., Knox, P.P., Christophorov, L.N. (2011). Peculiarities of light-induced slow protein dynamic in the photosynthetic reaction center. *Chemical Physics Letters*, 512, 113–117.
8. Golbeck, J., Art van der Est. (2014). *The Biophysics of Photosynthesis*. Springer.
9. D'jakonov, V.P. (2000). *Vejvlety. Ot teorii k praktike*. Moscow: SOLON-Press. (in Russian)
10. Stark, H.-G. (2005). *Wavelets and Signal Processing*. Springer.
11. Maks, Zh. (1983). *Metody i tehnika obrabotki signalov pri fizicheskikh izmerenijah*. Moscow: Mir. (in Russian)
12. Zakharova, N.I., Churbanova, I.Yu. (2000). Methods of isolation of reaction center preparations from photosynthetic purple bacteria. *Biochemistry*, 65, 181-193.
13. Serdenko, T.V., Barabash, Y.M., Knox, P.P., Seifullina, N.Kh. (2016). The kinetic model for slow photoinduced electron transport in the reaction centers of purple bacteria. *Nanoscale Research Letters*, 11, 286. URL: <https://nanoscalereslett.springeropen.com/articles/10.1186/s11671-016-1502-x>.
14. Barabash, Y.M., Lyamets, A.K. (2016). A method of decomposition of the basic reaction of biological macromolecules into exponential components. *Nanoscale Research Letters*, 11, 544. URL: <https://nanoscalereslett.springeropen.com/articles/10.1186/s11671-016-1758-1>.