БІОФІЗИКА СКЛАДНИХ СИСТЕМ

Оригінальна стаття
https://doi.org/10.26565/2075-3810-2019-41-05

УДК 577.32+535.34

КОМП'ЮТЕРНА МЕТОДИКА АНАЛІЗУ СТРУКТУРНО-ДИНАМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РЕАКЦІЙНИХ ЦЕНТРІВ RHODOBACTER SPHAEROIDES НА ОСНОВІ СИСТЕМИ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНИХ РІВНЯНЬ

Ю.М. Барабаш[1], Т.В. Серденко[1], П.П. Нокс[2], О.А. Голуб[3]
[1]*Інститут фізики НАН України, проспект Науки, 46, Київ, 03028, Україна*
[2]*Московський державний університет імені М.В. Ломоносова, вул. Ленінські Гори, 1, Москва, 119991, Російська Федерація*
[3]*Національний університет «Києво-Могилянська академія», вул. Григорія Сковороди, 2, Київ, 04070, Україна*
E-mail: ybar@ukr.net, tais.serdenko@gmail.com
Надійшла до редакції 13 липня 2018 р.
Прийнято 19 грудня 2018 р.

Актуальність. Реакції природних об'єктів на зовнішній вплив аналізуються за допомогою рівнянь балансу, якщо такі реакції мають мультиекспоненціальний характер, тобто такий, який можна представити у вигляді суми експонент. Такий характер реакції може бути зумовлений як впливом прихованих параметрів, так і впливом самої реакції на структуру об'єкта. Проблема полягає у тому, що часто не вдається емпірично визначити значення констант швидкостей рівнянь балансу, їх зв'язок з параметрами експоненціальних складових реакції, кінетику заселеності підстанів об'єкта.
Мета роботи. Метою роботи є розробка методики детального аналізу реакції об'єкта на зовнішній вплив, яка дозволяє визначити кінетику заселеності можливих підстанів об'єкта за допомогою побудови системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами.
Матеріали та методи. У якості об'єкта використовувались ізольовані реакційні центри (РЦ) бактерій *Rhodobacter sphaeroides*, структура яких добре вивчена. При фотозбудженні РЦ їх поведінка аналізується шляхом побудови системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами. Експериментальну кінетику циклічного переносу електрона РЦ апроксимували сумою трьох експоненціальних функцій. Параметри цих функцій використовували для визначення констант швидкостей рівнянь балансу при розв'язанні оптимізаційної задачі градієнтним методом. Задача роботи полягала у дослідженні РЦ за допомогою методу побудови системи диференціальних рівнянь та методу двох експозицій.
Результати. Розроблено комп'ютерну процедуру, яка дозволяє використовувати параметри трьох експоненціальних функцій кінетики переносу електрона для визначення значень констант швидкості чотирьох балансних рівнянь, аналізу кінетики заселеності підстанів РЦ. Експериментальна та розрахункова кінетика заселеності донора при фотозбудженні РЦ добре співпадають. Результати двох методів корелюються між собою. Вони показують, що у процесі фотозбудження максимуми заселеностей станів РЦ відповідають діапазону 3–140 с після увімкнення (вимкнення) світла.
Висновки. В такому випадку РЦ відповідають системі чотирьох електрон-конформаційних станів. Особливості кінетики заселеності підстанів РЦ характеризують просторово-часові характеристики РЦ.
КЛЮЧОВІ СЛОВА: реакційні центри; електронний транспорт; електрон-конформаційні стани; структурна саморегуляція; математична модель.

COMPUTER METHOD TO ANALYZE STRUCTURAL-DYNAMIC PROPERTIES OF RHODOBACTER SPHAEROIDES REACTION CENTERS BASED ON SYSTEM OF DIFFERENTIAL EQUATIONS

Y.M. Barabash[1], T.V. Serdenko[1], P.P. Knox[2], O.A. Golub[3]
[1]*Institute of Physics, NAS of Ukraine, 46, Prospect Nauky, Kyiv, 03028, Ukraine*
[2]*M.V. Lomonosov Moscow State University,1, Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia*
[3]*National university of "Kyiv-Mohyla academy", 2, Skovorody st., Kyiv, 04070, Ukraine*

© Барабаш Ю.М., Серденко Т.В., Нокс П.П., Голуб О.А., 2019

Background: Reactions of the natural objects to external influences can be analyzed using balance equations. If such reactions have a multi-exponential character, they can be represented as a sum of exponent components. Such kind of reaction is due both to the influence of hidden parameters, and the influence of the reaction itself on the structure of the object. The problem is that it is often not possible to determine empirically the values of the constants of the velocities of the balance equation, their relation with the parameters of the exponential components of the reaction, the kinetics of the population of the substates of the object.
Objectives: The aim of the work is to develop a method of detailed analysis of the reaction of the object to external influence, which allows to determine the kinetics of the population of possible substates of the object by constructing a system of differential equations with constant coefficients.
Materials and methods: Isolated reaction centers (RC) of *Rhodobacter sphaeroides* bacteria, the structure of which is well known, were used as an object. Behavior of the RC under photo-excitation was analyzed by constructing a system of differential equations with constant coefficients. The experimental kinetics of the cyclic electron transfer of the RC was approximated by the sum of three exponential functions. The parameters of these functions were used to determine the balance rate constants solving an optimization problem by a gradient method. The task was to study the RC using the method of constructing the system of differential equations and the method of two expositions.
Results: A computer procedure was developed to determine the values of the speed constants of four balance equations, to analyze the kinetics of the population of the bases of the RC using the parameters of three exponential functions of the kinetics of electron transfer. Experimental and calculated kinetics of the donor population after photoexcitation of the RC are in a good agreement. The results of the two methods are correlated. They show that in the process of photo-excitation the maxima of populations of RC states correspond to a range of 3–140 s after the turning on (turning off) the light.
Conclusion: RC corresponds to the system of four electron-conformational states. The features of the kinetics of population of the bases of the RC characterize the spatial-temporal characteristics of the RC.
KEY WORDS: reaction centers; electron transport; electron-conformational states; structural self-regulation of reaction; mathematical model.

КОМПЬЮТЕРНАЯ МЕТОДИКА АНАЛИЗА СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ RHODOBACTER SPHAEROIDES НА ОСНОВАНИИ СИСТЕМЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ УРАВНЕНИЙ

Ю.М. Барабаш[1], Т.В. Серденко[1], П.П. Нокс[2], А.А. Голуб[3]
[1]Институт физики НАН Украины, проспект Науки, 46, Киев, 03028, Украина
[2]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, ул. Ленинские Горы, 1, Москва, 119991, Российская Федерация
[3]Национальный университет «Киево-Могилянская академия», ул. Григория Сковороды, 2, Киев, 04070, Украина

Актуальность. Если реакция природных объектов на внешнее воздействие имеет мультиэкспоненциальный характер (сумма экспоненциальных составляющих), то её анализируют с помощью уравнений баланса. Такой характер реакции может быть обусловлен как влиянием скрытых параметров объекта, так и влиянием самой реакции на структуру объекта. Проблема возникает из-за того, что часто не удается эмпирически определить значения констант скоростей уравнений баланса, их связь с параметрами экспоненциальных составляющих реакции, кинетику заселенности подсостояний объекта.
Цель работы. Целью работы является разработка методики детального анализа реакции объекта на внешнее воздействие, которая с помощью построения системы дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами позволяет определить кинетику заселенности возможных подсостояний объекта.
Материалы и методы. В качестве объекта использовались изолированные реакционные центры (РЦ) бактерий *Rhodobacter sphaeroides*. При фотовозбуждении РЦ их поведение анализировали путем построения системы дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами. Экспериментальную кинетику циклического переноса электрона РЦ аппроксимировали суммой из трех экспоненциальных функций. Параметры этих функций использовали для определения констант скоростей уравнений баланса при решении оптимизационной задачи градиентным методом. Задача заключалась в исследовании РЦ с помощью методов построения системы дифференциальных уравнений и метода двух экспозиций.
Результаты. В результате разработана компьютерная процедура, которая позволяет использовать параметры трех экспоненциальных функций кинетики переноса электрона для определения значений констант скоростей четырех балансных уравнений, анализа кинетики заселенности

подсостояний РЦ. Показано хорошее совпадение экспериментальной и расчетной кинетики заселенности донора РЦ при их фотовозбуждении. Они показывают, что в процессе фотовозбуждения РЦ максимумы заселенностей состояний РЦ соответствуют диапазону 3–140 с после включения (выключения) света.
Выводы. Сделан вывод, что в этом случае РЦ соответствуют системе четырех электрон-конформационных состояний. Особенности кинетики заселенности подсостояний РЦ характеризуют пространственно-временные характеристики РЦ.
КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: реакционные центры; электрон-конформационные состояния; структурная саморегуляция; математическая модель.

Динамічні властивості біологічних макромолекул є важливими для їх функціонування, але вони є досить складними для дослідження. Наприклад, при ферментативному каталізі велике значення мають спряжені електрон-конформаційні взаємодії у білковій глобулі фермента. Подібна ситуація спостерігається і для ізольованих реакційних центрів (РЦ) бактерій *Rhodobacter sphaeroides*, електронні стани яких одночасно впливають та залежать від конформаційного стану білкового комплексу РЦ [1–10]. Тому вони були обрані у якості об'єкта, за допомогою якого виконувалась розробка комп'ютерної процедури дослідження подібних взаємовпливів. Просторово-часові рухи макромолекул РЦ мають складну багатокомпонентну кінетику, яка експериментально проявляється у вигляді основної реакції системи на вплив керуючого параметра (інтенсивність збуджуючого світла РЦ). Кінетика основної реакції РЦ представлена сумою різних експоненціальних функцій з негативними значеннями декрементів (показників експонент), які мають постійне значення під час всього часу спостереження [11–13]. Параметри експоненціальних функцій використовуються для аналізу основної реакції, ефектів структурної саморегуляції РЦ, для ідентифікації незалежних конформаційних підсистем РЦ. Часто значення вагових коефіцієнтів та декрементів експоненціальних компонент залежать один від одного та від характеристики керуючого параметра основної реакції [14–17].

Виникає проблема переходу від параметрів експоненціальних складових основної реакції до констант швидкостей балансних рівнянь, не вдається ідентифікувати значення констант швидкості, кількість та кінетику заселеності незалежних підсистем об'єкта. Математичний вид експоненціальних залежностей через накладені на них умови не має виражених особливостей, що також ускладнює аналіз кінетики основної реакції.

Відомо, що розв'язок системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами виражається у вигляді суми експоненціальних функцій, коли матриця коефіцієнтів не має кратних власних значень. Якщо експериментальну кінетику основної реакції можна описати у вигляді суми експоненціальних функцій, то вона може відповідати деякій системі диференціальних рівнянь. Такі диференціальні рівняння можуть відповідати незалежним підсистемам об'єкта. Експериментальну кінетику циклічного електронного транспорту РЦ апроксимували сумою трьох експоненціальних функцій, це визначає кількість диференціальних рівнянь (три балансні рівняння та рівняння стану). Параметри таких функцій використовували для визначення значень коефіцієнтів чотирьох диференціальних рівнянь, які дорівнюють алгебраїчній сумі констант швидкостей рівнянь балансу РЦ. Значення констант швидкостей рівнянь балансу знаходили шляхом розв'язання оптимізаційної задачі градієнтним методом. Розв'язок системи диференціальних рівнянь визначає кінетику заселеностей підстанів РЦ.

Задача полягала у розробці комп'ютерної процедури (*Delphi*) визначення констант швидкостей балансних рівнянь реакції РЦ та у розрахунку кінетики переносу електрона між станами РЦ. Також у роботі описано метод двох експозицій.

Метою роботи є розробка методики детального аналізу реакції об’єкта на зовнішній вплив, яка за допомогою побудови системи диференціальних рівнянь з постійними коефіцієнтами дозволяє визначити кінетику заселеності станів об’єкта.

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ СИСТЕМИ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНИХ РІВНЯНЬ

Використовувались ізольовані РЦ бактерій *Rhodobacter sphaeroides* дикого типу, які були надані кафедрою біофізики МГУ ім. М.В. Ломоносова. Вони суспендувались в 0,01 М Na-P буфері, pH 7,2, який містив 0,05% LDAO [18]. Для проведення досліджень використовували двоканальний спектрометр під управлінням ПК. У каналі вимірювання поглинання використовувалось світло частотою 5 кГц з інтенсивністю (0,2 мкВт/см^2, λ = 865±10 нм), яке забезпечувало вимірювання поглинання в діапазоні 0–1 з точністю 0,0005/см. У каналі збудження РЦ використовувалось світло з довжиною хвилі λ = 870±50 нм, з інтенсивністю 0–10 мВт/см^2 з кроком від 5 мкВт/см^2. Часова дискретність вимірювань від 0,01 с. Вимірювальна кювета мала розміри 3×1×2,5 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 фотостимулювання РЦ імпульсами світла тривалістю 100 с з інтенсивністю 7,2 мВт/см^2. Після закінчення експозиції РЦ і досягнення темнового значення поглинання, розчин РЦ додатково витримувався в темряві протягом 1500 с для досягнення рівноважного стану. 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 нормованою кінетикою переносу електрона з донора на акцептор ($X_0(t)$).

Аналіз експериментальної залежності переносу електрона РЦ виконували в декілька етапів. На першому етапі експериментальну криву ($X_0(t)$) фотоіндукованого електронного транспорту РЦ розбивали на ділянки фотозбудження (окислення донора) та рекомбінації електрона (відновлення донора) після виключення світла. Ці ділянки апроксимували сумою експоненціальних складових з додатними ваговими коефіцієнтами та від’ємними значеннями декрементів:

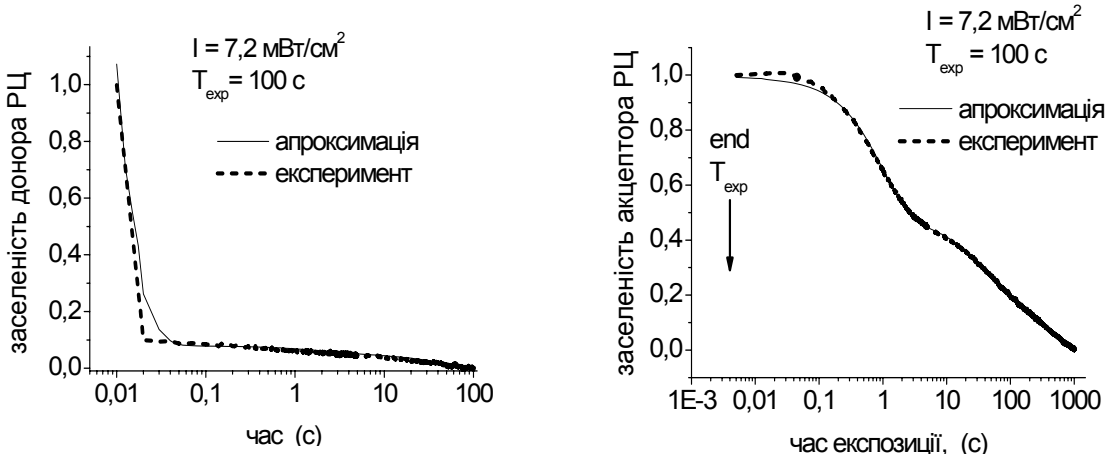
$$X_0(t) = \sum_i A_i e^{-d_i t}\ ;\ \sum_i A_i = 1,$$

де A_i – вага експоненціальної компоненти фотостимульованого переносу електрона РЦ; i = 1, 2, 3; d_i – показник степеня (декремент) компоненти фотостимульованого переносу електрона РЦ.

Застосовували програму розкладу [19] ділянок кінетичної кривої на експоненціальні складові. Програма самостійно знаходила кількість експоненціальних складових та їх параметри при мінімумі середньоквадратичної похибки апроксимації. Результати розкладу кінетичної кривої на експоненціальні компоненти представлені у вигляді сигналу для візуалізації контролю та у вигляді таблиці параметрів експонент.

Аналіз різних ділянок (рис. 1) кінетичних кривих фотозбудження РЦ (окислення та відновлення донора) показав, що експериментальні криві можна добре апроксимувати сумою трьох експонент. Відомо, що система з суми N однорідних диференціальних рівнянь та рівняння матеріального балансу зводиться до системи, яка може мати розв’язок у вигляд суми N-1 експоненціальних складових. Можна зробити припущення, що кінетичні криві, представлені у вигляді суми трьох різних експоненціальних складових, можуть відповідати розв’язку системи з (3+1) диференціальних рівнянь з деякими значеннями кінетичних констант. Загальний вигляд кінетичної схеми переносу електрона РЦ показано на рис. 2, де цифри позначають електрон-конформаційні

підстани РЦ. Підстан 0 відповідає перебуванню електрона на донорі РЦ. Підстани 1, 2, 3 – перебування електрона на акцепторі РЦ.



а) б)

Рис. 1. Кінетика заселеностей донора (а) при фотозбудження РЦ світлом з довжиною хвилі 865 нм та акцептора (б) після закінчення освітлення.

Табл.1. Параметри експоненціальних складових кінетики переносу електрона РЦ

Фотозбудження РЦ	d_1 (c^{-1})	A_1 (у.о.)	d_2 (c^{-1})	A_2 (у.о.)	d_3 (c^{-1})	A_3 (у.о.)	дисперсія
Окислення донора	123,62	0,9925	0,5397	0,0249	0,0235	0,0548	0,00443
Відновлення донора	1,1003	0,512	0,0342	0,2264	0,0034	0,2538	0,00118

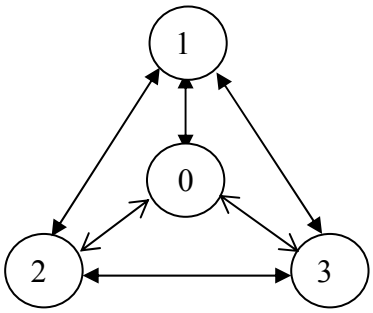


Рис. 2. Кінетична схема переносу електрона в РЦ *Rhodobacter sphaeroides*. Стрілки на схемі відображають електрон-конформаційні взаємодії комплекса РЦ. Константи швидкості (k_{ij}) диференціальних рівнянь баланса (12 шт.) на рисунку позначено стрілками. Вони відображають швидкість переносу заряду між електрон-кофнормаційними станами РЦ.

На другому етапі дослідження використовували градієнтний метод розв'язання оптимізаційної задачі, яка полягала у визначення таких значень коефіцієнтів системи диференціальних рівнянь, при яких кінетика заселеності донора (підстан 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 константи швидкості системи диференціальних рівнянь, між константами диференціальних рівнянь та розв'язком системи існує взаємно однозначна відповідність. Розв'язок системи має єдине значення. Диференціальні рівняння переносу електрона РЦ з рівнянням стану мають вигляд:

$$\frac{dX_0}{dt} = -(k_{01} + k_{02} + k_{03}) \cdot X_0 + k_{10} \cdot X_1 + k_{20} \cdot X_2 + k_{30} \cdot X_3, \quad (1)$$

$$\frac{dX_1}{dt} = k_{01} \cdot X_0 - (k_{10} + k_{12} + k_{13}) \cdot X_1 + k_{21} \cdot X_2 + k_{32} \cdot X_3, \quad (2)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{02} \cdot X_0 + k_{12} \cdot X_1 - (k_{20} + k_{22} + k_{23}) \cdot X_2 + k_{30} \cdot X_3, \quad (3)$$

$$X_1 + X_2 + X_3 = 1. \quad (4)$$

Загальний розв'язок системи має вигляд:

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

де $X_i(t)$ – заселеність підстанів РЦ ($i = 1, 2, 3$), $C_{i,1}$; $C_{i,2}$; $C_{i,3}$ – константи, які визначались значеннями власних векторів матриці констант диференціальних рівнянь та початковими умовами підсистем для процесів збудження та релаксації РЦ, k_{ij}– кінетичні константи швидкості диференціальних рівнянь балансу, які задають швидкість переносу електрона між підстанами РЦ.

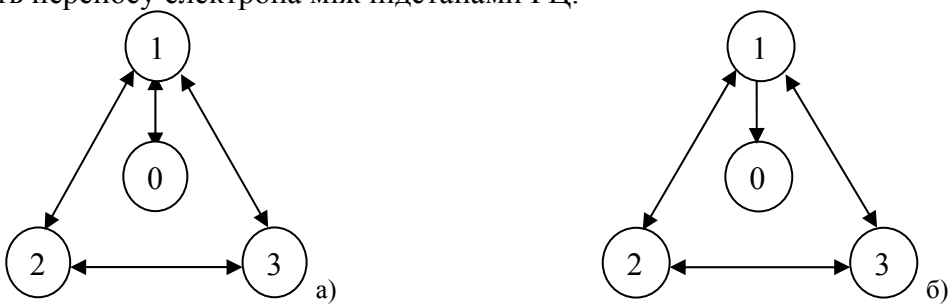


Рис. 3. Кінетична схема початку процесу визначення констант швидкості рівнянь балансу. Крок зміни констант dk_{01}, dk_{10}=0.01 с$^{-1}$, dk_{ij}=10^{-4} с$^{-1}$ (для k_{ij}≠0).
а) окислення донора, початкові значення констант швидкості рівнянь балансу: $k_{02}= k_{03}=0$, $k_{01}= k_{10}$=0.01 с$^{-1}$, $k_{20}= k_{30}=k_{21}= k_{31}$=10^{-8} с$^{-1}$, $k_{12}= k_{13}= k_{12}= k_{12}$=10^{-9} с$^{-1}$.
б) відновлення донора, початкові значення констант швидкості рівнянь балансу: $k_{02}= k_{03}= k_{01}=0$, k_{10}=0.01 с$^{-1}$, $k_{20}= k_{30}=k_{21}= k_{31}$=10^{-8} с$^{-1}$, $k_{12}= k_{13}= k_{12}= k_{12}$=10^{-9} с$^{-1}$.

Початкові умови при розрахунку заселеностей 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. Декременти (d_i) дорівнюють власним значенням матриць коефіцієнтів диференціальних рівнянь для процесів фотозбудження та релаксації РЦ. При цьому визначник обернених матриць констант диференціальних рівнянь не повинен дорівнювати нулю. Це накладає обмеження на початкове значення констант диференціальних рівнянь (рис. 3 а, б), які використовуються у процесі оптимізації. Процес був побудований наступним чином. У процесі оптимізації спочатку знаходили значення констант диференціальних рівнянь для процесу фотозбудження електрона РЦ. Для цього використовували початкові значення констант швидкості k_{ij}, розв'язували пряму задачу та знаходили значення параметрів експоненціальних складових загального розв'язку системи диференціальних рівнянь, в тому числі для підсистеми *0*. Маючи експериментальні (A_i^0, d_i^0) та розраховані (A_i^x, d_i^x) значення параметрів експоненціальних складових, визначали їх середньоквадратичну різницю, яка використовувалась у якості критерія оптимізації (Δ_x) який мав вигляд:

$$\Delta_x = \sum \frac{(A_i^0 - A_i^x)^2}{(A_i^0)^2} + \frac{(d_i^0 - d_i^x)^2}{(d_i^0)^2} \quad i = 1,2,3. \tag{5}$$

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} при 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 множиною локальних мінімумів. Повторювали 50 разів у тій самій послідовності роботи з k_{ij}, 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 у якості початкової умови для процесу релаксації РЦ. Подібним чином розв’язувалась задача значень k_{ij} для процесу релаксації РЦ, для якого використовували свій набір параметрів, експоненціальних складових кінетики рекомбінації електрона.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 4 показано меню програми для розрахунку констант швидкості системи диференціальних рівнянь фотостимульованого переносу електрона.

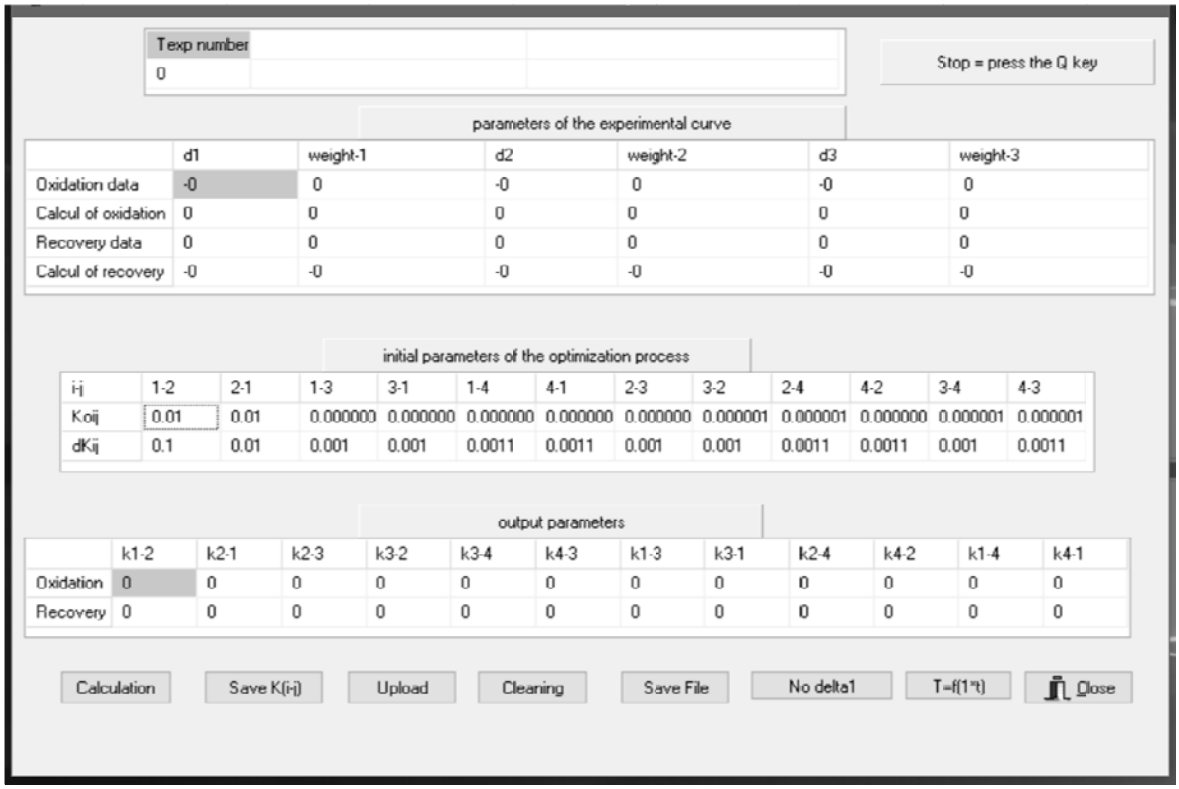


Рис. 4. Меню програми «розрахунок констант швидкості системи диференціальних рівнянь» фотостимульованого переносу електрона.

Експериментальна залежність кінетики фотостимульованого переносу електрона як суми експоненційних складових повинна мати вигляд, як показано на рис. 5. Сигнал має вигляд двох колонок з точкою у якості символу розділення цілої та дробової частин. У першій колонці присутня часова частина (вісь-X) в секундах, друга колонка – амплітуда сигналу у довільних одиницях. Для запуску програми розрахунків необхідно у верхньому лівому полі меню програми (рис. 4) ввести час кінця експозиції РЦ в цифровому коді. У таблиці «параметри експоненціальної кривої» у верхньому рядку вводиться значення декрементів (зі знаком «мінус») в діапазоні 0,0001–50 c^{-1} та вагових коефіцієнтів (зі знаком «плюс») експоненціальних функцій для процесу окислення донора РЦ. У передостанньому рядку цієї таблиці (для процесу релаксації РЦ) вводиться значення декрементів та вагів (зі знаком «мінус»). Якщо значення декремента $d_1 > 50$, то необхідно замінити діапазон значень у 10 разів, натискаючи «T=f(1*t)». Потім натиснути кнопку «Calculation» і ввести адресу файла з сигналом, що

аналізується. Почнеться процедура знаходження значень констант диференціальних рівнянь. Процес виконання розрахунків відображається на полях верхньої таблиці.

По закінченню розрахунків значення констант диференціальних рівнянь відобразяться у таблиці «output parameters». Значення параметрів експоненціальних складових, розрахованих на основі значень констант диференціальних рівнянь, відобразяться в таблиці «parameters of the experimental curve». Результати розрахунків зберігаються у двох файлах текстового формату шляхом натискання кнопок “Save Ai=K(i-j)” та ”Save File”. Перша кнопка створює файл таблиці значень констант диференціальних рівнянь (таблиця 2), похибка розрахунків фіксується у правому полі таблиці. Друга кнопка – файл кінетики заселеності підстанів РЦ.

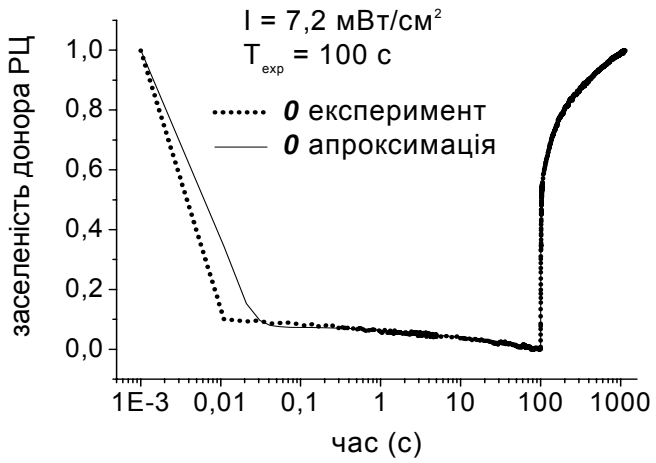


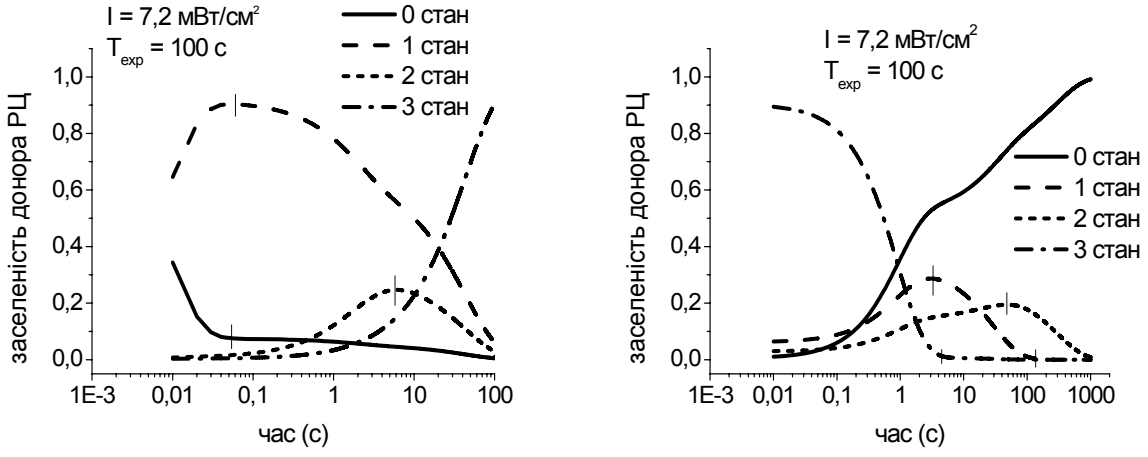
Рис. 5. Кінетика фотостимульованого переносу електрона РЦ. Експериментальна та розрахована залежності заселеності донора (*0* підстан) РЦ в результаті розв’язання системи диференціальних рівнянь.

Табл. 2. Значення констант швидкості диференціальних рівнянь балансу для етапів окислення донора РЦ (рядок 2) та відновлення донора РЦ (рядок 3). Інтенсивність збуджуючого світла 7,2 мВт/см^2, час експозиції РЦ (T_{exp}) 100 с

k_{ij} (c^{-1})	k_{01}	k_{10}	k_{12}	k_{21}	k_{23}	k_{32}	k_{02}	k_{20}	k_{13}	k_{31}	k_{03}	k_{30}	дисперсія
окислення	112,6	9,3	0,07	0,375	1E-5	1E-5	1,18	1E-6	1E-5	1E-5	0,446	1E-5	4E-5
відновлення	0	0,01	0,007	1E-6	1E-6	0,143	0	0,003	0,024	0,315	0	0,635	2,1E-6

На рис. 5 наведено експериментальну кінетику заселеності донора РЦ (підстан *0*) у процесі його окислення та відновлення. Також наведено кінетику заселеності цього ж підстану, отриману в результаті роботи програми «розрахунок значень констант диференціальних рівнянь». Середньоквадратична похибка розрахунків ($disp = 4{,}5 \cdot 10^{-5}$) для ділянки окислення та $disp = 2{,}1 \cdot 10^{-4}$ для ділянки відновлення донора РЦ. Час роботи програми приблизно 10 хвилин. За допомогою цієї програми було визначено значення констант для матриць диференціальних рівнянь, кінетика заселеності підстанів РЦ для інших режимів фотозбудження РЦ [20]. У більшості випадків вдається отримати хорошу апроксимацію експериментальної та розрахункової кінетики заселеності донора РЦ (підстан 0) на всьому інтервалі фотостимулювання РЦ. Типовий випадок показано на рис. 6 а, б, де наведено експериментальну та розрахункову залежності 0 підстану та розрахункові кінетики заселеностей чотирьох підстанів при фотозбудженні РЦ одним імпульсом світла протягом 100 с з інтенсивністю 7,2 мВт/см^2. Як правило, кінетика заселеностей підстанів РЦ має особливості, характер яких залежить від параметрів режиму фотостимулювання РЦ. Аналіз цього параметру показує, що кінетика підстанів 1, 2, 3 на відміну від підстану 0 має виражені особливості. У режимі фотозбудження РЦ максимуми заселеностей підстанів 1, 2 знаходяться на 0,06 с та 6 с після початку фотозбудження. У режимі релаксації РЦ максимуми заселеності підстанів фіксуються через 3 с, 47 с, зменшення

заселеності підстану 3 до нуля відбувається через 3 с, підстану 1 – через 140 с після закінчення фотозбудження при загальному часу релаксації РЦ > 1000 с.



а) б)

Рис. 6. Кінетика заселеності підстанів РЦ:
а) ділянка фотозбудження РЦ; б) ділянка релаксації РЦ.

Наявність максимумів заселеності підсистем РЦ дозволяє говорити про присутність протилежних процесів в кінетиці підстанів при їх фотозбудженні та релаксації. Такі процеси можуть бути зумовлені структурними змінами в РЦ при фотостимульованому переносі електрона.

а)

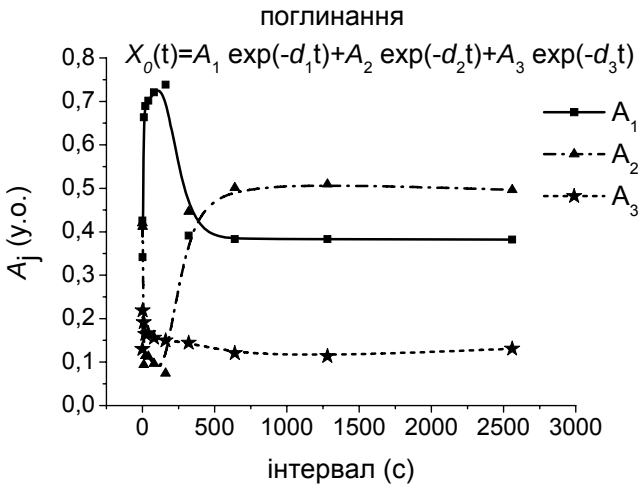
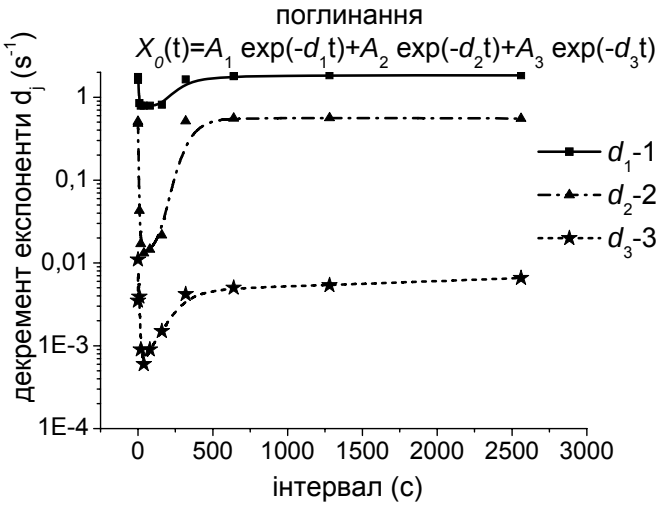


Рис. 7. Метод двох експозицій при фотозбудженні РЦ. Зміна параметрів експоненціальних компонент фотоіндукованого переносу електрона:
а) зміна значень вагів (A_i) та
б) декрементів (d_i) експоненційних складових релаксації донора РЦ після другого збуджуючого імпульсу в залежності від значення інтервалу між першим та другим імпульсами фотостимуляції РЦ. Інтенсивність імпульсу 7 мВт/см^2, тривалість – 100 с [20].

б)



Дослідження кінетики фотостимульованого переносу заряду в РЦ з використанням двох послідовних імпульсів світла зі змінним інтервалом між ними [20] показало немонотонну залежність параметрів експоненціальних складових кінетики від величини інтервалу між імпульсами. Дана методика, так як і попередня, дозволяє визначати часові параметри електрон-конформаційних взаємодій РЦ. Порівняння результатів цих методик (рис. 6 б та рис.7 а, б) показує їх співпадіння. Інтервали 3, 47, 140 с, що відповідають максимумам заселеності підстанів 1 та 2 у процесі релаксації РЦ, співпадають по порядку величини з інтервалом часу (4–100 с) між імпульсами світла збудження РЦ, при якому параметри експоненціальних складових процесу релаксації РЦ мають екстремальні значення. Це підтверджує припущення про те, що поява особливостей у кінетиці заселеностей підстанів РЦ при фотостимульованому переносі заряду пов’язана зі змінами у їх структурі.

ВИСНОВКИ

Кінетика фотостимульованого електронного переносу електрона в ізольованих реакційних центрах *Rhodobacter sphaeroides* добре описується системою з рівнянням стану та трьох диференціальних рівнянь балансу з двома наборами постійних коефіцієнтів.

Процес фотостимульованого переносу заряду в РЦ задовольняє модель чотирьох незалежних підстанів РЦ, які відповідають чотирьом пов’язаним електрон-конформаційним підстанам.

Кінетика заселеності підстанів РЦ у процесі фотозбудження та релаксації має добре виражені екстремуми (0,06, 3–140 с), що зумовлені ефектами структурної саморегуляції основної реакції у результаті просторово-часових рухів макромолекули РЦ. Екстремуми служать маркерами структурних змін РЦ.

Розроблено програму для визначення констант швидкостей диференціальних рівнянь, коли реакція системи представлена у вигляді трьох різних експоненціальних складових.

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 конфлікта 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.A. Golub https://orcid.org/0000-0003-1823-2523

REFERECES

1. Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, R., Huber, R., & Michel, H. (1985). Structure of the protein subunits in the photosynthetic reaction centre of Rhodopseudomonas viridis at 3Å resolution. *Nature*, *318*, 618–624.
2. Allen, J. P., Feher, G., Yeates, T. O., Komiya, H., & Rees, D. C. (1987). Structure of the reaction center from Rhodobacter sphaeroides R-26: the protein subunits. *PNAS, 84*(17), 6162–6166.
3. Feher, G., Allen, J. P., Okamura, M. Y., & Ree, D. C. (1989). Structure and function of bacterial photosynthetic reaction centres. *Nature*, (339), 111-116.
4. Graige, M. S., Feher, G., & Okamura, M. Y. (1998). Conformational gating of the electron transfer reaction $Q_a^-Q_b \rightarrow Q_aQ_b^-$ in bacterial reaction centers of Rhodobacter sphaeroides determined by a driving force assay. *PNAS*, *95*(20), 11679-11684.
5. Qiang, Xu, & Gunner, M. R. (2001). Trapping Conformational Intermediate States in the Reaction Center Protein from Photosynthetic Bacteria. *Biochemistry*, *40*(10), 323–324.
6. 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.
7. Deshmukh, S. S., Akhavein, H., Williams, J. C., Allen, J. P., & Kalman, L. (2011). Light-induced conformational changes in photosynthetic reaction centers: Impact of Detergent sand Lipids on the Electronic Structure of the Primary Electron Donor. *Biochemistry, 50*(3), 5249–5262.
8. 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.
9. Rubin, A.B. (2017). *Compendium of Biophysics*. New York: John Wiley & Sons.
10. Croce, R., van Grondelle, R., van Amerongen, H., van Stokkum, I. (2018). *Light Harvesting in Photosynthesis*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
11. Goushcha, A. O., Kharkyanen, V. N., Scott, G. W., & Holzwarth, A.R. (2000). Self-regulation phenomena in bacterial reaction centers 1. Generaltheory. *Biophys. J.*, *79*, 1237–1252.
12. Christophorov, L. N., & Kharkyanen, V. N. (2005). Synergetic Mechanisms of Structural Regulation of the Electron Transfer and Other Reactions of Biological Macromolecules. *Chemical Physics, 319*, 330–341.
13. Maroti, P., & Wraight, C. A. (2008). The redox midpoint potential of the primary quinone of reaction center sinchromatophores of Rhodobacter sphaeroides isp. Hindependent. *Eur Biophys J.,* 37, 1207–1217.
14. Goushcha, A. O., Manzo, A. J., Kharkyanen, V. N., van Grondelle, R., & Scott G. W. (2004). Light-induced equilibration kinetic sinmembrane-bound photosynthetic reaction centers: non linear dynamic effects in multiple scattering media. *J Phys Chem B., 108*(8), 2717–2725.
15. 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.
16. Manzo, A. J., Goushcha, A. O., Berezetska, N. M., Kharkyanen, V. N., & Scott, G. W. (2011). Charge recombination time distribution sinphotosynthetic reaction centers exposed to alternating intervals of photoexcitation and dark relaxation. *J. Phys. Chem. B.,115*(26), 8534–8544.
17. Sipka, G., & Maroti, P. (2018). Photoprotection in intact cells of photosynthetic bacteria: quenching of bacteriochlorophyll fluorescence by carotenoid triplets. *Photosynth Res., 136*, 17–30.
18. Zakharova, N. I., & Churbanova, I. Yu. (2000). Methods of isolation of reaction center preparations from photosynthetic purple bacteria. *Biochemistry*, *65*, 181-193.
19. 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.
20. 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.