

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 544.18

**ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВОГО ОКРУЖЕНИЯ НА ВЕЛИЧИНУ СЕЧЕНИЯ
ДВУХФОТОННОГО ПОГЛОЩЕНИЯ РЕТИНАЛЬСОДЕРЖАЩИХ
БЕЛКОВ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПОВ**

**Павел Александрович Кусочек, Виктория Игоревна Назарова,
Сергей Аркадьевич Казанцев, Владислав Романович Аслоповский,
Андрей Владимирович Щербинин, Анастасия Владимировна Боченкова**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Владимировна Боченкова, bochenkova@phys.chem.msu.ru

Аннотация. Прогнозирование и оптимизация свойств ретинальсодержащих белков в условиях двухфотонного возбуждения является важной задачей для практического применения канальных родопсинов в оптогенетике. Нелинейное двухфотонное поглощение может также приводить к фотоактивации зрительных родопсинов в ИК-диапазоне в области 950–1000 нм. В настоящей работе с помощью методов квантовой химии проведен анализ факторов, влияющих на сечение двухфотонного поглощения ретинальсодержащих белков первого и второго типов при переходе в первое синглетное электронно-возбужденное состояние. Показано, что в случае родопсинов основной вклад в сечение двухфотонного поглощения при переходе $S_0 \rightarrow S_1$ вносят два канала, связанные с постоянными дипольными моментами начального и конечного состояний. Анализ сходимости N-уровневых моделей при расчете сечений с помощью суммирования по промежуточным состояниям подтверждает хорошую применимость двухуровневой модели, что в данном случае связано с большим дипольным моментом перехода и значительным перераспределением электронной плотности при переходе $S_0 \rightarrow S_1$. Однозначная корреляция между рассчитанными величинами сечения и разностью средних дипольных моментов начального и конечного состояний позволяет объяснить сильную зависимость сечения от белкового окружения хромофорной группы в различных родопсинах (340–610 ГМ) и предсказать влияние электростатического поля белка на нелинейные фотофизические свойства ретиналя.

Ключевые слова: сечение двухфотонного поглощения, ретинальсодержащие белки, бактериородопсин, зрительный родопсин, родопсин KR2, многоконфигурационная квазивыврожденная теория возмущений

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2025-66-4-279-291

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда N 23-73-01091, <https://rscf.ru/project/23-73-01091/> с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова, а также вычислительного кластера RSC Tornado лаборатории квантовой фотодинамики, закупленного по программе развития МГУ имени М.В. Ломоносова.

Для цитирования: Кусочек П.А., Назарова В.И., Казанцев С.А., Аслоповский В.Р., Щербинин А.В., Боченкова А.В. Влияние белкового окружения хромофорной группы на величину сечения двухфотонного поглощения ретинальсодержащих белков первого и второго типов // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2025. Т. 66. N 4. С. 279–291

ORIGINAL ARTICLE

IMPACT OF THE PROTEIN ENVIRONMENT ON TWO-PHOTON ABSORPTION CROSS-SECTIONS OF TYPE I AND TYPE II RETINAL-CONTAINING PROTEINS

Pavel A. Kusochech, Victoria I. Nazarova, Sergey A. Kazantsev, Vladislav R. Aslopovsky, Andrei V. Scherbinin, Anastasia V. Bochenkova

Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Corresponding author: Anastasia V. Bochenkova, bochenkova@phys.chem.msu.ru

Abstract. Predicting and optimizing the photophysical properties of retinal-containing channel proteins under two-photon absorption (TPA) conditions are required for their efficient use in optogenetics. Nonlinear two-photon excitation can also lead to photoactivation of visual rhodopsins in the IR range of 950–1000 nm. Here, by using high-level quantum chemistry calculations, we explore the factors that influence the TPA activity of the type I and type II rhodopsins upon their two-photon resonant excitation to the first singlet excited state. We show that in the case of the $S_0 \rightarrow S_1$ transition, the channels through permanent dipole moments, which are associated with the initial and final states only, make the largest contribution to the calculated TPA cross-sections. The fast numerical convergence of the sum-over-states formalism provides direct evidence for the applicability of the two-level model for calculating TPA cross-sections in rhodopsins, which are characterized by the large transition dipole moment and a significant redistribution of the electron density upon the $S_0 \rightarrow S_1$ transition. The calculated TPA cross-sections (340–610 GM) are found to be very sensitive to changes in the permanent dipole moments between the ground and excited states and highly tunable by internal electric field of the protein environment. The high tunability of the nonlinear photophysical properties of the retinal protonated Schiff-base chromophore can be used for the rational design of retinal-containing proteins with optimal photoresponse.

Keywords: two-photon absorption cross-section, retinal-containing proteins, bacteriorhodopsin, visual rhodopsin, rhodopsin KR2, multiconfiguration quasi-degenerate perturbation theory

Financial Support. This work is supported by the Russian Science Foundation grant no. 23-73-01091, <https://rscf.ru/project/23-73-01091/>. The calculations are carried out using the equipment of the shared research facilities of HPC computing resources at Lomonosov Moscow State University as well as the local resources (RSC Tornado) provided through the Lomonosov Moscow State University Program of Development.

For citation: Kusochech P.A., Nazarova V.I., Kazantsev S.A., Aslopovsky V.R., Scherbinin A.V., Bochenkova A.V. Impact of the protein environment on two-photon absorption cross-sections of type I and type II retinal-containing proteins // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Khimiya. 2025. T. 66. N 4. S. 279–291.

Посвящается памяти профессора химического факультета МГУ
Александра Владимировича Немухина.

Родопсины относятся к семейству фоторецепторных ретинальсодержащих белков, которые подразделяют на два типа: микробные (тип I) и животные (тип II) [1–5]. Некоторые авторы относят сравнительно недавно обнаруженные гелиородопсины к отдельной подгруппе внутри микробных родопсинов [6–8].

Родопсины очень разнообразны по своим свойствам и встречаются в организмах всех трех надцарств, выделяемых в биологической систематике. Микробные родопсины обнаружены в бактериях, археях, вирусах и низших эукариотах. Существует несколько классификаций родопсинов I типа по осуществляемым биологическим функциям. Так, микробные родопсины можно подразделить на белки, выполняющие фотоэнергетическую функцию (ионные насосы), и белки, несущие фотоинформационную функцию (сенсорные родопсины, катионные и анионные каналы) [3, 5, 9]. Похожей на эту является классификация, в которой помимо вышеуказанных функций дополнительно выделяют светозависимую ферментативную функцию [10]. Родопсины II типа обнаружены у высших животных. Большинство из них являются G-белок-связывающими рецепторами, которые отвечают в основном за фотоинформационные функции, например зрение [1, 3]. Некоторые животные родопсины выполняют также функции,

связанные с регуляцией термогенеза, сокращения гладких мышц, сужения зрачка, циркадных ритмов [11–14].

Хотя родопсины I и II типов выполняют совершенно разные биологические функции и обладают разными аминокислотными последовательностями, у них одинаковая структура апобелка (опсина), который состоит из семи трансмембранных α -спиралей. Также их объединяет тот факт, что аминокислотный остаток лизина седьмой α -спирали ковалентно связан с хромофорной группой, протонированным основанием Шиффа ретиналя (РПШО), которое обеспечивает возможность поглощать кванты света и находится в полностью трансизомерной форме в родопсинах I типа и в 11-*цис* форме – в родопсинах II типа (рис. 1) [7].

Механизм действия родопсинов основан на фотохимической реакции изомеризации РПШО из полностью *транс*-формы в 13-*цис* форму в родопсинах I типа и из 11-*цис*-формы в полностью *транс*-форму в родопсинах II типа [1, 3, 15–18]. Энергия поглощенного фотона запасается в сильно скрученной стерически напряженной структуре полиеновой цепи РПШО в активном центре родопсинов [19, 20]. Первичные фотохимические реакции протекают в фемтосекундном временном диапазоне, при этом образуются первичные продукты со стерически напряженной структу-

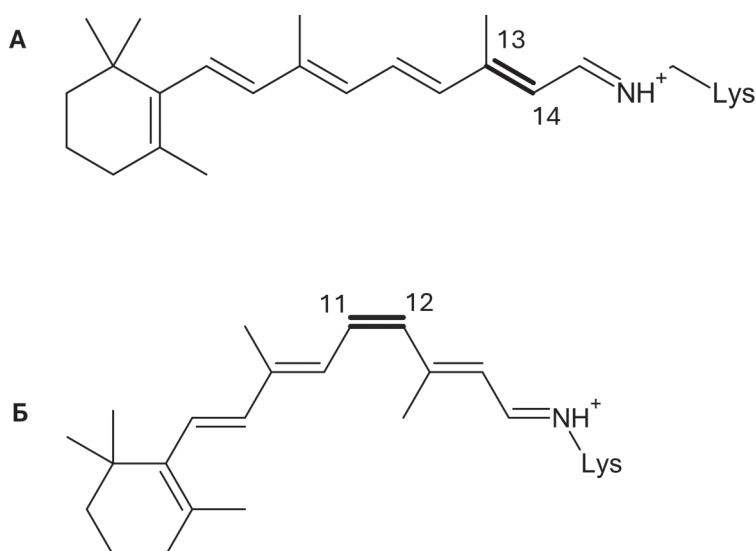


Рис. 1. Химическая структура хромофорной группы родопсинов.
А – полностью *транс* РПШО в родопсинах I типа, Б – 11-*цис* РПШО
в родопсинах II типа

рой РПШО и со смещенными (по сравнению с начальным состоянием родопсинов до поглощения фотона) в красную область спектрами поглощения. Первичные продукты в случае родопсинов I типа обозначают, как J и K [21], а в случае родопсинов II типа они называются фотородопсин и батородопсин [15, 22]. Последующая релаксация скрученной полиеновой цепи ретиналя приводит к конформационным и структурным изменениям всей белковой глобулы в целом. Эти структурные и конформационные изменения являются необходимыми для осуществления биологических функций родопсинов, протекают в диапазоне микро- и миллисекунд и влекут за собой образование последующих промежуточных продуктов – интермедиатов.

Фотоизомеризация ретиналя запускает цепь последовательных реакций как в микробных, так и животных родопсинах, при этом заключительные реакции в этих белках отличаются друг от друга. В микробных родопсинах 13-*цис* ретиналь подвергается тепловой изомеризации и превращается в исходную полностью *транс*-форму, тем самым возвращая родопсин в исходное состояние и замыкая цепь последовательных реакций в так называемый фотоцикл [3]. В животных родопсинах часто наблюдается ситуация, при которой молекула полностью *транс*-ретиналя отделяется от опсина и изомеризуется обратно в 11-*цис*-форму уже вне белка с помощью ферментативного катализа [3, 23, 24]. Для замыкания фотоцикла опсин должен соединиться с новой молекулой 11-*цис*-ретиналя.

Важно отметить, что белковое окружение хромофора в активном центре как в микробных, так и в животных родопсинах является наиболее консервативным доменом. Любое изменение структуры или аминокислотного состава ближайшего белкового окружения РПШО приводит к значительным изменениям в спектральных, фотохимических и других биологически важных свойствах родопсинов. В настоящее время взаимодействия между белком и хромофором являются важной темой современных исследований, так как успех в этой области поможет не только в улучшении понимания фундаментальных механизмов действия родопсинов, но также позволит создавать родопсины с заданными свойствами для полезных практических приложений.

Одним из таких практических приложений является усовершенствование метода оптогенетики. Оптогенетика – метод, который находится на стыке таких наук, как оптика, геновая инженерия, электрофизиология. Он используется для регу-

лирования специфической активности в клетках при использовании различных светочувствительных белков [25]. По сравнению с воздействием на клетки с помощью химических и электрических сигналов оптические сигналы, применяемые в оптогенетике, имеют более высокое временное и пространственное разрешение и приводят к меньшему повреждению клеток. Поэтому метод оптогенетики широко применяется в фундаментальных исследованиях в области нейробиологии, а также в клеточной и молекулярной биологии. С помощью методов геновой инженерии была успешно разработана целая серия белков для применения в этом методе. Микробные родопсины относятся к числу наиболее часто используемых белков. В начале этого столетия были открыты каналные родопсины (ChR) и установлены их функции. Канальный родопсин-2 (ChR2) был использован для успешной модуляции состояния активности нейронов в изолированном гиппокампе, что открыло эру нейробиологических исследований с использованием метода оптогенетики [26, 27]. С течением времени область использования этого метода значительно расширилась, и он стал применяться не только в фундаментальных, но и в прикладных исследованиях, например в медицинских. Так, в настоящее время ретинальсодержащие белки рассматриваются как оптогенетический инструмент для протезирования дегенеративной сетчатки глаза [28].

Развитие оптогенетики в значительной степени зависит от разработки новых молекулярных инструментов с заданными фотохимическими свойствами, в связи с этим прогнозирование и оптимизация свойств ретинальсодержащих белков в условиях двухфотонного возбуждения является важной задачей для практического применения родопсинов в оптогенетике. Двухфотонное возбуждение позволяет уменьшить повреждение клеток при облучении и увеличить глубину проникновения излучения внутрь тканей за счет использования более длинноволнового (по сравнению с однофотонным возбуждением) излучения [29–31]. Кроме того, нелинейное двухфотонное поглощение позволяет объяснить фотоактивацию зрительных родопсинов в ИК-диапазоне в области 950–1000 нм, что воспринимается как поглощение одного кванта света видимого диапазона [32]. Иными словами, фотоактивация зрительных рецепторов, в основе которой лежит фотоизомеризация хромофорной группы, может происходить и при нелинейном двухфотонном возбуждении $S_0 \rightarrow S_1$.

Одной из важных характеристик родопсинов, определяющей их потенциал в оптогенетических приложениях с использованием двухфотонного возбуждения, является сечение двухфотонного поглощения. В настоящей работе проведен анализ факторов, влияющих на сечение двухфотонного поглощения ретинальсодержащих белков первого и второго типов при переходе в первое синглетное электронно-возбужденное состояние. С помощью методов квантовой химии были рассчитаны величины сечений натриевого насоса родопсина KR2 из бактерии *Krokinobacter eikastus* (KR2, I тип), G-белок-связывающего зрительного родопсина быка *B. taurus* (Rho, II тип) и протонного насоса бактериородопсина археи *H. salinarum* (BR, I тип). KR2 и Rho обладают самыми высокими скоростями фотоизомеризации среди всех известных родопсинов [33–36], что позволяет использовать их быстрый отклик в различных приложениях, в том числе для решения ряда оптогенетических задач, и делает исследования их нелинейных фотофизических свойств весьма актуальными. Другой микробный родопсин BR обладает отличной от KR2 структурой активного центра и более низкой скоростью фотоизомеризации [37–39], поэтому важно изучить, как белковое окружение влияет на фотофизические свойства белков и, в частности, на сечение двухфотонного поглощения.

Теоретическая часть

Сечение двухфотонного поглощения ($\sigma_{\text{ТРА}}$) является макроскопической характеристикой вещества. В случае двух фотонов с одинаковой частотой ω сечение может быть рассчитано из микроскопической вероятности двухфотонного перехода ($\sigma_{\text{ТРА}}$) по формуле [40, 41]:

$$\sigma_{\text{ТРА}}(\omega) = \frac{4\pi^3 a_0^5 \alpha \omega^2}{c} \langle \delta_{\text{ТРА}} \rangle g(E_n - E_0; 2\omega; \Gamma), \quad (1)$$

где a_0 – борковский радиус, α – постоянная тонкой структуры, c – скорость света в вакууме, ω – частота фотона, g – форма линии, связанная с эффектами уширения, при этом параметр затухания Γ обычно принимается равным 0,1 эВ в большинстве теоретических работ [41]. В случае двух фотонов с одинаковой энергией $\hbar\omega$ микроскопическая вероятность, усредненная по различным ориентациям молекулы, в атомных единицах принимает вид [42]:

$$\langle \delta_{\text{ТРА}} \rangle = \frac{F}{30} \delta_F + \frac{G}{30} \delta_G + \frac{H}{30} \delta_H, \quad (2)$$

где F , G , H – коэффициенты, зависящие от по-

ляризации двух фотонов. В случае одинаковых линейно поляризованных фотонов $F = G = H = 2$. Микроскопическая вероятность двухфотонного перехода выражается через компоненты тензора двухфотонного поглощения, которые могут быть рассчитаны суммированием по состояниям. Точная формула при этом выглядит следующим образом:

$$\delta_F = \sum_{\alpha, \beta} S_{n0}^{\alpha\alpha} S_{n0}^{\beta\beta*}; \quad \delta_G = \sum_{\alpha, \beta} S_{n0}^{\alpha\beta} S_{n0}^{\alpha\beta*};$$

$$\delta_H = \sum_{\alpha, \beta} S_{n0}^{\alpha\beta} S_{n0}^{\beta\alpha*}. \quad (3)$$

$$S_{n0}^{\alpha\beta} = \sum_i \frac{\mu_{ni}^{\alpha} \mu_{i0}^{\beta} + \mu_{ni}^{\beta} \mu_{i0}^{\alpha}}{E_i - E_0 - \hbar\omega}, \quad (4)$$

где $S_{n0}^{\alpha\beta}$ – декартовы компоненты моментов нелинейного двухфотонного перехода, а μ_{pq}^{γ} – декартовы компоненты дипольных моментов перехода:

$$\mu_{pq}^{\gamma} = \langle \psi_p | \mu^{\gamma} | \psi_q \rangle, \quad (5)$$

где индексы 0, n , i относятся к начальному электронному состоянию S_0 , конечному состоянию S_n и промежуточным состояниям S_i хромофора с соответствующими энергиями E_0 , E_n и E_i . Сечение двухфотонного поглощения обычно выражается в единицах Гёпперт-Майер (ГМ; 1 ГМ = 10^{-50} см⁴с/фотон). В данной работе для преобразования в единицы ГМ используется функция формы лоренцевой линии с полушириной на половине высоты 0,1 эВ.

В рамках N-уровневой модели (NLM) суммирование проводят по конечному числу состояний (в явном виде), включая начальное и конечное состояния:

$$S_{n0}^{\alpha\beta} = \frac{\mu_{n0}^{\alpha} \mu_{00}^{\beta} + \mu_{n0}^{\beta} \mu_{00}^{\alpha}}{-\hbar\omega} + \frac{\mu_{nn}^{\alpha} \mu_{n0}^{\beta} + \mu_{nn}^{\beta} \mu_{n0}^{\alpha}}{E_n - E_0 - \hbar\omega} + \sum_{i \neq 0, n} \frac{\mu_{ni}^{\alpha} \mu_{i0}^{\beta} + \mu_{ni}^{\beta} \mu_{i0}^{\alpha}}{E_i - E_0 - \hbar\omega}. \quad (6)$$

Первые два члена соответствуют каналам перехода через собственные дипольные моменты начального и конечного состояний, а последняя сумма соответствует каналам перехода через промежуточные состояния.

В случае двухфотонного резонанса $E_n - E_0 = 2\hbar\omega$, опуская все промежуточные состояния, можно получить выражение для компонент

тензора двухфотонного поглощения в рамках двухуровневой модели (TLM):

$$S_{n0}^{\alpha\beta} \approx \frac{(\mu_{nn}^{\alpha} - \mu_{00}^{\alpha})\mu_{n0}^{\beta} + (\mu_{nn}^{\beta} - \mu_{00}^{\beta})\mu_{n0}^{\alpha}}{\hbar\omega} = \frac{\Delta\mu_{n0}^{\alpha}\mu_{n0}^{\beta} + \Delta\mu_{n0}^{\beta}\mu_{n0}^{\alpha}}{\hbar\omega}, \quad (7)$$

где $\Delta\mu_{n0}^{\gamma}$ – декартовы компоненты разницы средних дипольных моментов между начальным и конечным состояниями. Данная минимальная модель включает в себя только каналы перехода через собственные дипольные моменты начального и конечного состояний. После преобразований микроскопическая вероятность в рамках модели TLM может быть выражена следующим образом:

$$\langle \delta_{\text{TLM}} \rangle = \frac{4|\Delta\mu_{n0}|^2 |\mu_{n0}|^2 (2\cos^2 \theta + 1)}{15\hbar^2 \omega^2}, \quad (8)$$

где θ – угол между векторами $\Delta\mu_{n0}$ и μ_{n0} , тогда выражение для сечения двухфотонного поглощения принимает вид:

$$\sigma_{\text{TLM}}(\omega) = C |\Delta\mu_{n0}|^2 |\mu_{n0}|^2 (2\cos^2 \theta + 1) g(E_n - E_0; 2\omega; \Gamma), \quad (9)$$

где C включает в себя комбинацию всех входящих в это выражение констант.

В настоящей работе была исследована применимость модели TLM для расчета сечений двухфотонного поглощения родопсинов первого и второго типов, а также изучена сходимость N-уровневых моделей с увеличением числа промежуточных состояний, по которым проводится суммирование:

$$S_{n0}^{\alpha\beta} \approx \frac{\Delta\mu_{n0}^{\alpha}\mu_{n0}^{\beta} + \Delta\mu_{n0}^{\beta}\mu_{n0}^{\alpha}}{\hbar\omega} + \sum_{i \neq 0, n}^{N-2} \frac{\mu_{ni}^{\alpha}\mu_{i0}^{\beta} + \mu_{ni}^{\beta}\mu_{i0}^{\alpha}}{E_i - E_0 - \hbar\omega}. \quad (10)$$

В случае двухфотонного резонанса при переходе $S_0 \rightarrow S_1$ знаменатель в последней сумме отвечает за разницу между энергией промежуточного состояния и средним значением энергий состояний S_0 и S_1 , определяя так называемую энергию отстройки для промежуточного состояния S_i . Вклад высоко возбужденных состояний зависит от энергии отстройки и значительно уменьшается при ее увеличении, что обуславливает применимость N-уровневых моделей,

где суммирование проводится по конечному числу состояний.

Детали квантово-химических расчетов

Параметры для расчета сечений двухфотонного поглощения получены с помощью квантово-химических расчетов. Исходные геометрии молекул родопсинов были взяты из банка данных белковых кристаллических структур (PDB). Для KR2 в качестве начальной была использована структура с идентификатором PDB ID 6YC3 [43], для Rho – PDB ID 1L9H [44], для BR – PDB ID 1M0L [45]. Полные атомистические модели белков KR2 и Rho были получены ранее с помощью молекулярно-динамического моделирования в NPT-ансамбле с использованием периодических граничных условий при давлении 1 атм, температуре 300 К и последующей оптимизации геометрических параметров с использованием комбинированного метода квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ) в варианте PBE0/(aug)-cc-pVDZ/AMBER с добавлением диффузных функций только на атомы кислорода [46–47]. Аналогичная методика получения равновесной геометрической структуры была также использована в настоящей работе для белка BR.

Метод КМ/ММ с применением расширенной многоконфигурационной квазивыврожденной теории возмущений (ХМЦДПТ2) [48] был использован для расчета энергий вертикальных переходов, средних дипольных моментов и дипольных моментов перехода между различными электронными состояниями в родопсинах первого и второго типов. Метод ХМЦДПТ2 основан на технике построения эффективного гамильтониана в модельном пространстве небольшого числа референсных электронных состояний. Его основное достоинство – инвариантность относительно ортогональных преобразований базиса модельного пространства. Многоконфигурационный метод самосогласованного поля в полном активном пространстве с применением процедуры усреднения по нескольким состояниям (SA-CASSCF) был использован для получения референсных волновых функций. Эффективный гамильтониан метода ХМЦДПТ2 строился в рамках модельного пространства, натянутого на референсные волновые функции первых семи синглетных состояний. В процедуру усреднения SA-CASSCF включалось такое число состояний (3 для KR2 и Rho, 4 для BR), которое было необходимо для корректного описания волновой функции первого синглетного электронно-

возбужденного состояния хромофорной группы в белковом окружении. Необходимое число состояний, включаемых в процедуру усреднения, определяли на основании анализа собственных векторов матрицы эффективного гамильтониана и отражало взаимодействие референсных состояний и их релаксацию (вращение и смещение) в рамках модельного пространства при учете динамической электронной корреляции в процессе диагонализации матрицы эффективного гамильтониана. Средние дипольные моменты в начальном (S_0) и конечном (S_1) состояниях, а также дипольные моменты переходов между различными электронными состояниями рассчитывали в нулевом порядке теории XMCQDPT2 на собственных векторах эффективного гамильтониана с учетом релаксации референсных состояний в модельном пространстве.

Влияние белкового окружения было учтено с помощью метода потенциалов эффективных фрагментов (EFP) [49], в рамках которого взаимодействие с электростатическим полем белка, в данном случае создаваемым частичными зарядами на всех атомах ММ части, включалось в одноэлектронную часть электронного гамильтониана квантовой подсистемы. Частичные заряды были заимствованы из силового поля AMBER. Таким образом, метод КМ/ММ в варианте электронного внедрения был реализован на уровне XMCQDPT2[7]/SA-CASSCF(12,12)/(aug)-cc-pVDZ // EFP.

Результаты и обсуждение

Оптимизированные структуры активных центров родопсинов приведены на рис. 2. В случае белков KR2 и Rho полностью *транс*- и 11-*цис*-изомеры протонированного основания Шиффа ретиналя образуют водородные связи непосредственно со своими первичными противоионами – отрицательно заряженными аминокислотными остатками Asp116 и Glu113 соответственно. Родопсины как первого, так и второго типов с таким структурным мотивом активного центра обладают наибольшей скоростью первичного фотоотклика, так как уже на ранних этапах фотоиндуцированной динамики приводят к возбуждению именно тех колебательных мод хромофорной группы, которые способствуют сверхбыстрой реакции фотоизомеризации по определенной двойной связи [46]. Бактериородопсин обладает другим структурным мотивом активного центра, и заряд его хромофорной группы стабилизируется

в белковом окружении комплексным первичным противоионом, состоящим из двух отрицательно заряженных аминокислотных остатков Asp85 и Asp212, связанных с протонированным шиффовым основанием не напрямую, а с помощью сети водородных связей через молекулы воды. Необходимо отметить, что в зритель-

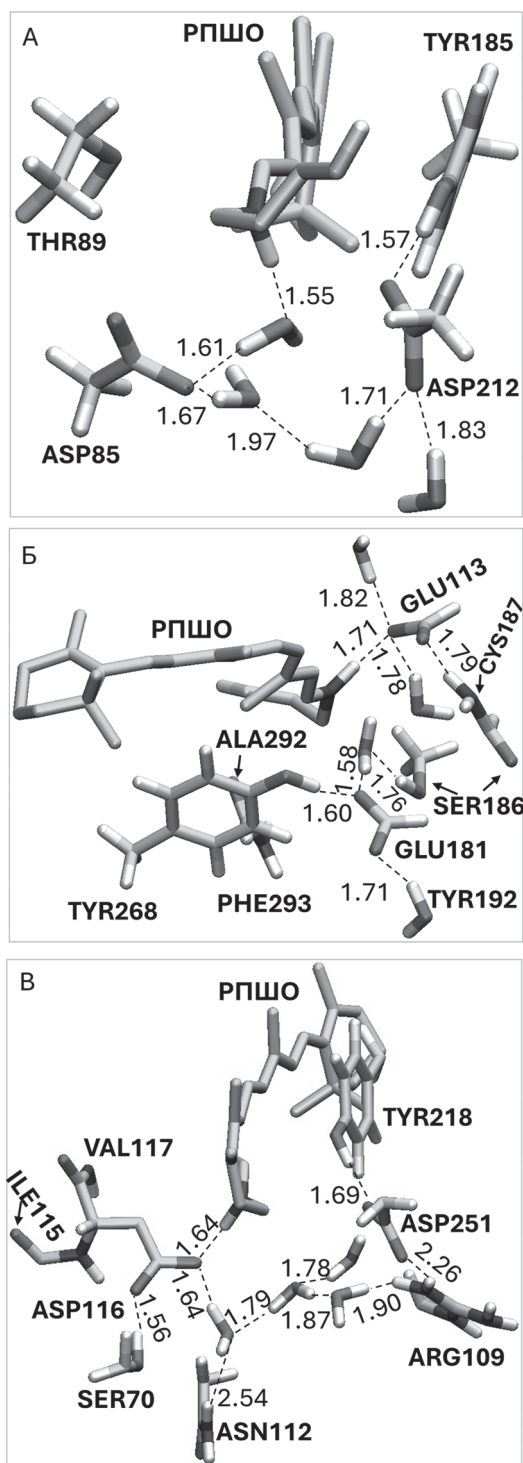


Рис. 2. Полученные после оптимизации методом КМ/ММ структуры активных центров родопсинов: А – BR, Б – Rho, В – KR2. Расстояния приведены в Å

ном родопсине Rho также присутствует второй отрицательно заряженный остаток Glu181, который может опосредованно участвовать в стабилизации заряда РПШО, тогда как в белке KR2 отрицательно заряженный остаток Asp251 в ретинальсвязывающем кармане стабилизируется положительно заряженным Arg109.

Наличие противоионов в ближайшем белковом окружении РПШО оказывает сильное влияние на его фотофизические свойства. Так, энергия вертикального перехода значительно сдвигается в синюю сторону при переходе от изолированного хромофора к белковому окружению (таблица). Важно отметить, что наибольший синий сдвиг, который варьирует в диапазоне 0.5–0.8 эВ, во всех трех случаях наблюдается при учете только ближайшего окружения хромофора, входящего в КМ-подсистему. Учет вклада электростатического поля всего остального белкового окружения, входящего в ММ-подсистему, напротив приводит к небольшому красному сдвигу по сравнению с энергией вертикального перехода в КМ-подсистему. Белок KR2 обладает наименьшим синим сдвигом, что обусловлено наличием только одного противоиона, стабилизирующего заряд на РПШО в его ближайшем белковом окружении.

Характер перехода $S_0 \rightarrow S_1$ не меняется при переходе от изолированного хромофора к белковому окружению. Оптически яркий переход в первое синглетное электронно-возбужденное состояние отвечает одноэлектронному возбуждению $\pi\pi^*$ и характеризуется значительной степенью переноса заряда, о чем можно судить по изменению средних дипольных моментов начального и конечного состояний (таблица). Изменения энергии вертикального перехода $S_0 \rightarrow S_1$ и разности средних дипольных моментов происходят симбатно при переходе от изолированного хромофора (в геометрии из белкового окружения) к КМ-части и далее ко всему белку: синий сдвиг сопровождается уменьшением величины $\Delta\mu_{10}$, а красный сдвиг – ее увеличением. Это обусловлено стабилизацией основного состояния РПШО в белковом окружении из-за взаимодействия с первичным противоионом и характером перераспределения электронной плотности при возбуждении. На рис. 3 показаны направления векторов $\Delta\mu_{10}$ для родопсинов BR, Rho и KR2, при этом данные направления сохраняются для всех рассмотренных в настоящей работе модельных систем. При переходе $S_0 \rightarrow S_1$ электронная плотность сдвигается от β -ионового кольца к протонированному основанию Шиффа вдоль сопряженной π -системы

хромофора, а вектор разницы средних дипольных моментов направлен в обратную сторону.

Наличие противоиона рядом с протонированным шиффовым основанием приводит к

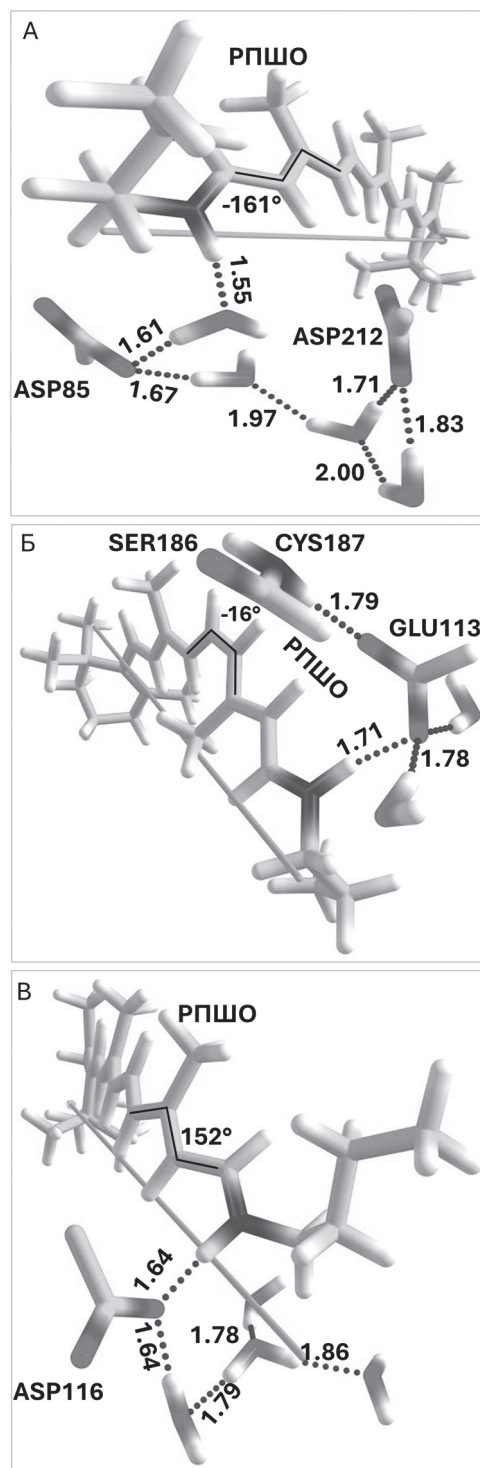


Рис. 3. Направление вектора разности средних дипольных моментов конечного и начального состояний $\Delta\mu_{10}$ при переходе $S_0 \rightarrow S_1$ в активных центрах: А – BR, Б – Rho, В – KR2. Стрелка обозначает только направление, а не длину вектора $\Delta\mu_{10}$. Расстояния приведены в Å

появлению индуцированного дипольного момента на хромофоре в дополнение к его собственному дипольному моменту. Если одну из декартовых осей направить вдоль вектора $\Delta\mu_{10}$, то разницу средних дипольных моментов с учетом поля, создаваемого белковым окружением, можно выразить через проекцию напряженности поля на эту ось (E) и разность значений поляризуемости хромофора вдоль этой оси в возбужденном и основном состояниях ($\Delta\alpha$): $\Delta\mu = \Delta\mu_0 + \Delta\alpha E$. Вектор разницы наведенных дипольных моментов в возбужденном и основном состояниях оказывается направленным в противоположную сторону по отношению к вектору разницы дипольных моментов изолированного хромофора, так как рассчитанное значение $\Delta\alpha$ вдоль вектора $\Delta\mu_{10}$ для всех рассмотренных изомеров РПШО является положительной величиной, а проекция поля, создаваемого отрицательно заряженным противоионом, направлена в сторону шиффа основания и является отрицательной величиной. Таким образом, внешнее поле, которое направлено противоположно направлению вектора $\Delta\mu_{10}$ изолированного хромофора, будет уменьшать его величину, а поле, направленное так же, как и $\Delta\mu_{10}$, наоборот, увеличивать. Приведенный анализ позволяет заключить, что электростатическое поле всего остального белка, не включенного в квантовую часть, действует в противоположном направлении по отношению к ближайшему окружению хромофора, увеличивая значение разницы средних дипольных моментов при возбуждении и приводя к красному сдвигу энергии вертикального перехода для всех трех рассмотренных родопсинов.

Однозначная корреляция между изменениями величины $\Delta\mu_{10}$ и энергией вертикального перехода связана с эффектом Штарка, впервые рассмотренного на примере флуоресцентных белков [53]. Этот эффект связывает изменение энергий вертикального перехода с разницей квадратов величин $\Delta\mu_{10}$ без поля и с его учетом: $(E_1 - E_0) - (E_1 - E_0)_0 = 1/2 (\Delta\mu_0^2 - \Delta\mu^2)/\Delta\alpha$. На практике это означает, что введение полярных и отрицательно заряженных аминокислотных остатков в белковом окружении β -ионового кольца и положительно заряженных остатков в области шиффа основания с помощью точечных мутаций будет увеличивать значение разницы средних дипольных моментов при переходе $S_0 \rightarrow S_1$, тем самым приводя к красному сдвигу в поглощении родопсинов.

В таблице приведены рассчитанные величины сечений двухфотонного поглощения для перехода $S_0 \rightarrow S_1$ в родопсинах первого и второго типов, полученные с использованием N-уровневых моделей при увеличении числа состояний N, по которым проводится суммирование, а также экспериментальное значение сечения для канального родопсина ChR2 [51]. Для полученных результатов проведено сравнение с данными статьи [50], в которой было рассчитано сечение двухфотонного поглощения для зеленого флуоресцентного белка EGFP с использованием аналогичного уровня теории. Как и в случае флуоресцентных белков, основной вклад в сечение двухфотонного поглощения родопсинов первого и второго типов при переходе $S_0 \rightarrow S_1$ вносят начальное и конечное состояния, а величина сечения хорошо описывается в рамках двухуровневой модели TLM с учетом только двух каналов, связанных с постоянными дипольными моментами состояний S_1 и S_0 , а именно $0 \rightarrow 0 \rightarrow 1$ и $0 \rightarrow 1 \rightarrow 1$ (см. первое и второе слагаемые в ур. 6). Модель TLM применима в данном случае, так как переход $S_0 \rightarrow S_1$ является ярким при однофотонном возбуждении, а также характеризуется значительным перераспределением электронной плотности (см. ур. 9). В рамках классического двухфотонного поглощения сечение определяется разностью средних дипольных моментов этих состояний, и наблюдается однозначная корреляция между увеличением сечения двухфотонного поглощения и увеличением средних дипольных моментов при переходе (табл. 1).

Однако в случае родопсинов состояние S_2 и соответствующий канал перехода через промежуточное состояние $0 \rightarrow 2 \rightarrow 1$ вносят бо́льший вклад в величину сечения, что связано с различием в энергетическом спектре катионного хромофора родопсинов и анионного хромофора флуоресцентных белков. В случае молекулярных анионов состояние S_1 хорошо отделено по энергии от более высоко лежащих состояний, тогда как в случае катиона состояния S_1 и S_2 лежат значительно ближе друг к другу, так что энергетический знаменатель для вклада $0 \rightarrow 2 \rightarrow 1$ не слишком велик (а вклад в рассчитанную величину сечения, соответственно, не слишком мал) по сравнению с каналами $0 \rightarrow 0 \rightarrow 1$ и $0 \rightarrow 1 \rightarrow 1$. Кроме того, компоненты дипольного момента перехода $0 \rightarrow 2$ и $2 \rightarrow 1$ являются существенно ненулевыми.

Рассчитанные значения энергий вертикального перехода E_1-E_0 (эВ), сил осциллятора f , длин векторов дипольных моментов перехода μ_{10} (Д) и разностей средних дипольных моментов конечного и начального состояний $\Delta\mu_{10}$ (Д) и сечений двухфотонного поглощения σ_{TPA} (ГМ) в зависимости от числа состояний N , включенных в N -уровневую модель, для перехода $S_0 \rightarrow S_1$ в родопсинах первого (KR2 и BR) и второго (Rho) типов

Переход	KR2			BR			Rho			EGFP
	хромофор	КМ	белок	хромофор	КМ	белок	хромофор	КМ	белок	
E_1-E_0	2,31	2,80	2,72	2,34	2,98	2,80	2,34	3,11	2,9	2,52
f	1,89	1,11	1,17	1,86	1,09	1,18	1,36	1,10	1,06	1,04
μ_{10}	14,7	10,2	10,7	14,5	9,8	10,6	12,4	9,7	9,8	10,5
$\Delta\mu_{10}$	15,5	14,1	14,9	15,8	9,1	11,3	15,6	9,7	12,8	4,4
N	σ_{TPA}									
2	1076	428	522	1085	162	294	774	181	329	45
3	1083	527	609	1095	201	338	672	192	362	45
4	1108	529	610	1109	202	340	699	193	363	45
5	1094	529	611	1100	202	340	696	193	363	45
6	1094	528	609	1101	202	340	686	193	363	45
7	1095	528	609	1101	202	340	690	193	362	44
Эксперимент [ГМ]	260									42

Примечания. Показаны рассчитанные значения для изолированных хромофоров в геометрии из белкового окружения, КМ части и всего белка. Экспериментальные данные приведены для канального родопсина первого типа ChR2 [51]. Для сравнения в таблице также приведены рассчитанные [50] и экспериментальные [52] значения сечений для белка EGFP.

Хорошая применимость модели TLM для описания переходов $S_0 \rightarrow S_1$ во флуоресцентных белках и родопсинах обусловлена характером этих электронных переходов, в обоих случаях сопровождающихся переносом заряда при возбуждении. Необходимо отметить, что в случае протонированного основания Шиффа ретиналя перенос заряда имеет ярко выраженный характер, что приводит к существенно большему сечению классического двухфотонного поглощения родопсинов ($\Delta\mu_{10} = 11\text{--}16$ Д, $\sigma_{TPA} = 300\text{--}700$ ГМ) по сравнению с флуоресцентными белками ($\Delta\mu_{10} = 3\text{--}4$ Д, $\sigma_{TPA} = 20\text{--}45$ ГМ) [50]. Наибольшая величина сечения наблюдается у микробного родопсина KR2, который характеризуется наибольшей величиной изменения средних дипольных моментов при возбуждении. Рассчитанные значения сечений двухфотонного поглощения родопсинов хорошо согласуются по порядку величины с имеющимися экспериментальными данными по канальному родопсину ChR2 (260 ГМ) [51], а также с предыдущими теоретическими оценками сечений классического двухфотонного поглощения зрительного родопсина Rho (472 ГМ), полученными в рамках альтернативного метода КМ/ММ на основе теории

XMCQDPT2 [54]. Необходимо подчеркнуть, что расчеты в рамках теории квадратичного отклика на уровне TDDFT приводят к сильно заниженным оценкам величины сечения Rho (2 ГМ) [32] из-за некорректного расчета свойств в электронно-возбужденных состояниях. Как было сказано выше, электростатическое поле белкового окружения сильно влияет на разницу средних дипольных моментов хромофорной группы при возбуждении, тем самым изменяя величину сечения двухфотонного поглощения в широких пределах. В родопсинах первого типа рассчитанные значения сечений варьируют в диапазоне от 340 до 610 ГМ, в то время как зрительный родопсин характеризуется не очень большим сечением двухфотонного поглощения, которое сопоставимо по своей величине со значением для бактериородопсина. Основной эффект наблюдается за счет электростатического поля ближайшего окружения хромофора в белке, которое включает влияние первичного противоиона. При этом сечения двухфотонного поглощения мутантных форм определенного типа родопсинов будут зависеть от остального поля белкового окружения. Анализ такого влияния показывает, что мутантные

формы родопсинов, характеризующиеся сдвигом максимума поглощения в длинноволновую область, должны также обладать большим сечением двухфотонного поглощения. Необходимо отметить, что обратная зависимость наблюдается в случае флуоресцентных белков [50], что связано с различными знаками в изменениях поляризуемости хромофорных групп этих белков при возбуждении: в случае хромофора EGFP поляризуемость возбужденного состояния вдоль направления, совпадающего с вектором разницы дипольных моментов при возбуждении, меньше, чем поляризуемость основного состояния, тогда как в родопсинах как первого, так и второго типа это изменение для различных изомерных форм РПШО противоположно.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что сильная зависимость величин сечения двухфотонного поглощения от локальной структуры активного центра родопсинов I и II типов связана с электростатическим полем белка и его влиянием на поляризацию электрон-

ной плотности хромофора РПШО в основном и электронно-возбужденном состояниях. Наибольшее значение наблюдается у микробного родопсина KR2 (610 ГМ), при этом величины сечений у родопсинов первого типа могут варьировать в широких пределах в зависимости от структурного мотива активного центра белка и влияния ближайшего белкового окружения, в первую очередь, противоионов, стабилизирующих положительный заряд на хромофоре. Введение точечных мутаций в родопсины первого и второго типов, приводящих к сдвигу максимумов поглощения в более длинноволновую область, будут приводить к увеличению сечения двухфотонного поглощения. Влияние электростатического поля белка в родопсинах первого и второго типов противоположно влиянию белкового окружения на нелинейные фотофизические свойства хромофорной группы флуоресцентных белков из-за разной относительной поляризуемости возбужденного и основного электронных состояний хромофоров этих белков вдоль направления переноса заряда при их возбуждении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Spudich J.L., Yang C.-S., Jung K.-H., Spudich E.N. // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2000. Vol. 16. N 1. P. 365–392.
2. Spudich J.L., Jung K. // *Handbook of Photosensory Receptors*. Weinheim. 2005. P. 1–23.
3. Ernst O.P., Lodowski D.T., Elstner M., Hegemann P., Brown L.S., Kandori H. // *Chem. Rev.* 2014. Vol. 114. N 1. P. 126–163.
4. Nagata T., Inoue K. // *J. Cell Sci.* 2021. Vol. 134. N 22. P. jcs258989.
5. Kandori H. // *Biophys. Rev.* 2020. Vol. 12. N 2. P. 355–361.
6. Pushkarev A., Inoue K., Larom S., Flores-Urbe J., Singh M., Konno M., Tomida S., Ito S., Nakamura R., Tsunoda S.P., Philosof A., Sharon I., Yutin N., Koonin E. V., Kandori H., Bèjà O. // *Nature*. 2018. Vol. 558. N 7711. P. 595–599.
7. Rozenberg A., Inoue K., Kandori H., Bèjà O. // *Annu. Rev. Microbiol.* 2021. Vol. 75. N 1. P. 427–447.
8. Ostrovsky M.A., Smitienko O.A., Bochenkova A.V., Feldman T.B. // *Biochem.* 2023. Vol. 88. N 10. P. 1528–1543.
9. Govorunova E.G., Sineshchekov O.A., Li H., Spudich J.L. // *Annu. Rev. Biochem.* 2017. Vol. 86. N 1. P. 845–872.
10. Mukherjee S., Hegemann P., Broser M. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2019. Vol. 57. P. 118–126.
11. Nayak G., Zhang K.X., Vemaraju S., Odaka Y., Buhr E.D., Holt-Jones A., Kernodle S., Smith A.N., Upton B.A., D'Souza S., Zhan J.J., Diaz N., Nguyen M.-T., Mukherjee R., Gordon S.A., Wu G., Schmidt R., Mei X., Petts N.T., Batie M., Rao S., Hogenesch J.B., Nakamura T., Sweeney A., Seeley R.J., Van Gelder R.N., Sanchez-Gurmaches J., Lang R.A. // *Cell Rep.* 2020. Vol. 30. N 3. P. 672–686.e8.
12. Sato M., Tsuji T., Yang K., Ren X., Dreyfuss J.M., Huang T.L., Wang C.-H., Shamsi F., Leiria L.O., Lynes M.D., Yau K.-W., Tseng Y.-H. // *PLOS Biol.* 2020. Vol. 18. N 2. P. e3000630.
13. Wu A.D., Dan W., Zhang Y., Vemaraju S., Upton B.A., Lang R.A., Buhr E.D., Berkowitz D.E., Gallos G., Emala C.W., Yim P.D. // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2021. Vol. 64. N 1. P. 59–68.
14. Lucas R.J., Allen A.E., Milosavljevic N., Storchi R., Woelders T. // *Annu. Rev. Vis. Sci.* 2020. Vol. 6. N 1. P. 453–468.
15. Gozem S., Luk H.L., Schapiro I., Olivucci M. // *Chem. Rev.* 2017. Vol. 117. N 22. P. 13502–13565.
16. Kandori H. // *Supramolecular Photochemistry*. Hoboken. 2011. P. 571–595.
17. Diller R. // *Ultrashort laser pulses in biology and medicine. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering*. Berlin. 2008. P. 243–277.
18. Wand A., Gdor I., Zhu J., Sheves M., Ruhman S.

- // Annu. Rev. Phys. Chem. 2013. Vol. 64. N 1. P. 437–458.
19. Birge R.R., Cooper T.M., Lawrence A.F., Masthay M.B., Vasilakis C., Zhang C.F., Zidovetzki R. // J. Am. Chem. Soc. 1989. Vol. 111. N 11. P. 4063–4074.
20. Birge R.R., Vought B.W. // Methods Enzymol. 2000. Vol. 315. P. 143–163.
21. Feldman T.B., Smitienko O.A., Shelaev I. V., Gostev F.E., Nekrasova O. V., Dolgikh D.A., Nadtochenko V.A., Kirpichnikov M.P., Ostrovsky M.A. // J. Photochem. Photobiol. B Biol. 2016. Vol. 164. P. 296–305.
22. Kandori H., Shichida Y., Yoshizawa T. // Biochem. 2001. Vol. 66. N 11. P. 1197–1209.
23. Yamada D., Dokainish H.M., Iwata T., Yamamoto J., Ishikawa T., Todo T., Iwai S., Getzoff E.D., Kitao A., Kandori H. // Biochemistry. 2016. Vol. 55. N 30. P. 4173–4183.
24. Chan S.K., Kawaguchi H., Kubo H., Murakami M., Ihara K., Maki K., Kouyama T. // Biochemistry. 2016. Vol. 55. N 29. P. 4092–4104.
25. Kim C.K., Adhikari A., Deisseroth K. // Nat. Rev. Neurosci. 2017. Vol. 18. N 4. P. 222–235.
26. Boyden E.S., Zhang F., Bamberg E., Nagel G., Deisseroth K. // Nat. Neurosci. 2005. Vol. 8. N 9. P. 1263–1268.
27. Nagel G., Brauner M., Liewald J.F., Adeishvili N., Bamberg E., Gottschalk A. // Curr. Biol. 2005. Vol. 15. N 24. P. 2279–2284.
28. Ostrovsky M.A., Kirpichnikov M.P. // Biochem. 2019. Vol. 84. N 5. P. 479–490.
29. Oron D., Papagiakoumou E., Anselmi F., Emiliani V. // Prog. Brain Res. 2012. Vol. 196. P. 119–143.
30. Lehtinen K., Nokia M.S., Takala H. // Front. Cell. Neurosci. 2022. Vol. 15. P. 778900.
31. Forli A., Pisoni M., Printz Y., Yizhar O., Fellin T. // Elife. 2021. Vol. 10. P. e63359.
32. Palczewska G., Vinberg F., Stremplewski P., Bircher M.P., Salom D., Komar K., Zhang J., Cascella M., Wojtkowski M., Kefalov V.J., Palczewski K. // Proc. Natl. Acad. Sci. 2014. Vol. 111. N 50. P. E5445–E5454.
33. Hontani Y., Inoue K., Klotz M., Kato Y., Kandori H., Kennis J.T.M. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2016. Vol. 18. N 35. P. 24729–24736.
34. Tahara S., Takeuchi S., Abe-Yoshizumi R., Inoue K., Ohtani H., Kandori H., Tahara T. // J. Phys. Chem. Lett. 2015. Vol. 6. N 22. P. 4481–4486.
35. Schoenlein R.W., Peteanu L.A., Mathies R.A., Shank C. V. // Science. 1991. Vol. 254. N 5030. P. 412–415.
36. Ernst O.P., Bartl F.J. // ChemBioChem. 2002. Vol. 3. N 10. P. 968–974.
37. Ashwini R., Vijayanand S., Hemapriya J. // Curr. Microbiol. 2017. Vol. 74. N 8. P. 996–1002.
38. Dobler J., Zinth W., Kaiser W., Oesterheld D. // Chem. Phys. Lett. 1988. Vol. 144. N 2. P. 215–220.
39. Schmidt B., Sobotta C., Heinz B., Laimgruber S., Braun M., Gilch P. // Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg. 2005. Vol. 1706. N 1–2. P. 165–173.
40. Macak P., Luo Y., Ågren H. // Chem. Phys. Lett. 2000. Vol. 330. N 3–4. P. 447–456.
41. Beerepoot M.T.P., Frieze D.H., List N.H., Kongsted J., Ruud K. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2015. Vol. 17. N 29. P. 19306–19314.
42. Monson P.R., McClain W.M. // J. Chem. Phys. 1970. Vol. 53. N 1. P. 29–37.
43. Kovalev K., Astashkin R., Gushchin I., Orekhov P., Volkov D., Zinovev E., Marin E., Rulev M., Alekseev A., Royant A., Carpentier P., Vaganova S., Zabelskii D., Baeken C., Sergeev I., Balandin T., Bourenkov G., Carpena X., Boer R., Maliar N., Borshchevskiy V., Büldt G., Bamberg E., Gordeliy V. // Nat. Commun. 2020. Vol. 11. N 1. P. 2137.
44. Okada T., Fujiyoshi Y., Silow M., Navarro J., Landau E.M., Shichida Y. // Proc. Natl. Acad. Sci. 2002. Vol. 99. N 9. P. 5982–5987.
45. Schobert B., Cupp-Vickery J., Hornak V., Smith S.O., Lanyi J.K. // J. Mol. Biol. 2002. Vol. 321. N 4. P. 715–726.
46. Kusochev P.A., Scherbinin A.V., Bochenkova A.V. // J. Phys. Chem. Lett. 2021. Vol. 12. N 35. P. 8664–8671.
47. Kusochev P.A., Logvinov V.V., Bochenkova A.V. // Moscow Univ. Chem. Bull. 2021. Vol. 76. N 6. P. 407–416.
48. Granovsky A.A. // J. Chem. Phys. 2011. Vol. 134. N 21. P. 214113.
49. Gordon M.S., Slipchenko L., Li H., Jensen J.H. // In Annual Reports in Computational Chemistry; Elsevier. 2007; pp. 177–193.
50. Aslopovsky V.R., Scherbinin A.V., Kleshchina N.N., Bochenkova A.V. // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol. 24. N 14. P. 11266.
51. Rickgauer J.P., Tank D.W. // Proc. Natl. Acad. Sci. 2009. Vol. 106. N 35. P. 15025–15030.
52. Stoltzfus C.R., Barnett L.M., Drobizhev M., Wicks G., Mikhaylov A., Hughes T.E., Rebane A. // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. N 1. P. 11968.
53. Molina R.S., Tran T.M., Campbell R.E., Lambert G.G., Salih A., Shaner N.C., Hughes T.E., Drobizhev M. // J. Phys. Chem. Lett. 2017. Vol. 8. N 12. P. 2548–2554.
54. Gholami S., Pedraza-González L., Yang X., Granovsky A.A., Ioffe I.N., Olivucci M. // J. Phys. Chem. Lett. 2019. Vol. 10. N 20. P. 6293–6300.

Информация об авторах

Павел Александрович Кусочек – мл. науч. сотр. лаборатории квантовой фотодинамики кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (paul_kus@mail.ru);

Виктория Игоревна Назарова – мл. науч. сотр. лаборатории квантовой фотодинамики кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (nazarovavictoria194@gmail.com);

Сергей Аркадьевич Казанцев – аспирант лаборатории квантовой фотодинамики кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (kazancevs977@gmail.com);

Владислав Романович Аслоповский – аспирант лаборатории квантовой фотодинамики кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (aslopovskiyvladislav@gmail.com);

Андрей Владимирович Щербинин – ст. науч. сотр. лаборатории квантовой фотодинамики кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (andrei.scherb@gmail.com);

Анастасия Владимировна Боченкова – зав. лабораторией квантовой фотодинамики кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, доцент кафедры физической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (bochenkova@phys.chem.msu.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 10.05.2024;
одобрена после рецензирования 15.05.2024;
принята к публикации 25.12.2024.