

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА



*На правах рукописи*

**Кусочек Павел Александрович**

**Моделирование механизмов первичных фотохимических реакций и  
фотоиндуцированной динамики ретиналь-содержащих белков**

1.4.4 – Физическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата физико-математических наук

Москва – 2022

Работа выполнена в лаборатории квантовой фотодинамики на кафедре физической химии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

**Научный руководитель:**

**Боченкова Анастасия Владимировна**  
кандидат физико-математических наук

**Официальные оппоненты:**

**Цирельсон Владимир Григорьевич**  
доктор физико-математических наук, профессор,  
Российский химико-технологический  
университет имени Д.И. Менделеева, кафедра  
квантовой химии, заведующий кафедрой

**Черепанов Дмитрий Александрович,**  
доктор физико-математических наук,  
Федеральный исследовательский центр  
химической физики имени Н.Н. Семенова РАН,  
лаборатория нанофотоники, ведущий научный  
сотрудник

**Фельдман Татьяна Борисовна**  
доктор биологических наук, Московский  
государственный университет имени М.В.  
Ломоносова, биологический факультет, кафедра  
молекулярной физиологии, ведущий научный  
сотрудник

Защита диссертации состоится «7» октября 2022 г. в 15:00 часов на заседании диссертационного совета МГУ.014.3(МГУ.02.04) Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет МГУ, аудитория СХА (преп.).

E-mail: mish@kinet.chem.msu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27 и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/466422389/> .

Автореферат разослан «5» сентября 2022 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук, доцент

М. И. Шилина

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Родопсины – широкое семейство трансмембранных фоточувствительных белков, которые присутствуют в эукариотах, бактериях и археях. Хромофорная группа родопсинов, протонированное основание Шиффа ретиналя (РПШО), способна поглощать фотон определенной длины волны, что приводит к первичной реакции изомеризации ретиналя по двойной связи и обеспечивает возможность родопсинов использовать энергию света для выполнения различных биологических функций. Родопсины включают в себя две группы белков. Первая группа представлена микробиальными родопсинами, относимыми к типу I и присутствующими в бактериях, археях и низших эукариотах. Вторая группа обозначается как тип II и состоит из белков, называемых родопсинами животных и найденных в многоклеточных организмах. Две группы различаются аминокислотной последовательностью, но имеют схожую структуру из семи альфа-спиралей, расположенных в мембране. РПШО принимает полностью *транс* конфигурацию в микробиальных родопсинах и после фотоизомеризации становится 13-*цис* изомером. В родопсинах животных фотоизомеризация протекает из 11-*цис* конфигурации РПШО в полностью *транс*. Микробиальные родопсины используются организмами в качестве ионных насосов, каналов и светочувствительных сенсоров. Родопсины II типа ответственны за зрение и сенсорные функции у животных.

Реакция фотоизомеризации РПШО в родопсинах является сверхбыстрой и протекает на фемтосекундном временном диапазоне с высоким квантовым выходом, что является одним из самых быстрых биологических процессов. Сверхбыстрые времена фотоизомеризации, сотни фемтосекунд, заметно увеличиваются, когда РПШО подвергается фотовозбуждению в растворе вне белкового окружения. Так, например, известно, что для РПШО в метаноле время образования первичного фотопродукта составляет 15 пс. Также известно, что даже в белковом окружении сверхбыстрые реакции фотоизомеризации РПШО в разных родопсинах могут отличаться в несколько раз. Долгое время считалось, что наибольшей скоростью фотоизомеризации из всех родопсинов I и II типов обладает бычий зрительный родопсин (ЗР), который находится в фоторецепторных клетках сетчатки глаза и ответственен за сумеречное зрение. Фотоизомеризация РПШО в ЗР занимает 200 фс, в результате чего образуется первичный интермедиат. Во многом тот факт, что реакция фотоизомеризации

протекает наиболее быстро именно в животных родопсинах, связывали с исходной 11-*цис* конфигурацией хромофорной группы. Так как в родопсинах I типа находится полностью *транс* ретиналь, то на протяжении всего времени изучения этого белкового семейства считалось, что микробиальные родопсины не могут достичь скорости фотоизомеризации, сопоставимой с таковой в ЗР. Действительно, одним из самых изученных и репрезентативных микробиальных родопсинов является протонный насос из археи *Halobacterium salinarum*, бактериородопсин (БР), для которого время образования первичного интермедиата более чем двукратно уступает таковому в ЗР и составляет 500 фс, что является характерным для других родопсинов I типа. Тем не менее, недавно был открыт микробиальный родопсин KR2 (KR2) из бактерии *Krokinobacter eikastus*, который обладает двумя характеристиками, меняющими представление о функционировании родопсинов и микробиальных родопсинов, в частности. Во-первых, данный белок является первым открытым родопсином, обладающим функцией натриевого насоса, что раньше считалось невозможным. И второй отличительной чертой KR2 является время образования первичного интермедиата, которое составляет 180 фс и сопоставимо со временем образования первичного интермедиата в зрительном родопсине. Таким образом, окружение, в котором находится хромофорная группа, существенным образом влияет на ее фотохимические свойства.

Задача по установлению факторов, которые влияют на скорость и специфичность изомеризации РПШО в различных средах, имеет фундаментальное значение для объяснения механизмов высокоэффективного функционирования родопсинов, что и определяет ее актуальность. Решение данной задачи с теоретической точки зрения требует комплексного подхода, который предполагает проведение расчетов свойств изомеров РПШО как в изолированном состоянии, так и в белковом окружении. Для корректного сравнения результатов расчеты в различном окружении должны быть выполнены на одном уровне теории с использованием методов квантовой химии, позволяющих сбалансированно описывать большие области поверхностей потенциальной энергии (ППЭ) основного и возбужденных электронных состояний, в том числе вблизи их пересечений, что особенно важно для исследования механизмов фотоизомеризации биологических хромофоров.

**Степень разработанности темы исследования.** Теоретические исследования

свойств РПШО, проведенные ранее, обладают несколькими недостатками. При моделировании механизмов фотохимических реакций хромофорных групп родопсинов в основном использовались либо однореференсные методы квантовой химии, которые не подходят для исследования широких областей изменения геометрических параметров молекулярных систем, либо многоконфигурационный метод самосогласованного поля в полном активном пространстве (CASSCF), не учитывающий динамическую электронную корреляцию, что в случае систем, содержащих РПШО, может приводить к некорректным результатам даже на качественном уровне. Также во многих исследованиях отсутствовало комплексное рассмотрение свойств изомеров РПШО в изолированном состоянии и белковом окружении на одном уровне теории. В таком случае невозможно правильно оценить роль и вклад белкового окружения в изменение фотофизических и фотохимических свойств РПШО по сравнению с газовой фазой.

В данной работе для описания первичных фотохимических реакций и фотофизических свойств РПШО в изолированном состоянии и белковом окружении предлагается использовать инвариантный метод многоконфигурационной квазивырожденной теории возмущений второго порядка (ХМСQDPT2) и комбинированный метод квантовой и молекулярной механики (КМ/ММ) на его основе. Инвариантность метода относительно ортогональных преобразований базиса модельного пространства является одним из его главных достоинств и позволяет исследовать области ППЭ вблизи пересечения электронных состояний, характеризующихся сильным смешением векторов нулевого приближения.

Механизмы фотоизомеризации РПШО в зрительном родопсине и бактериородопсине изучаются уже давно, однако ни в одной из теоретических работ не проводилось сравнение фотоиндуцированной динамики первичных фотохимических реакций данных белков на ранних временах с явным учетом вибронных взаимодействий при фотовозбуждении. Родопсин KR2 открыт недавно и исследован в значительно меньшей степени, чем ЗР и БР. В литературе отсутствуют теоретические работы, посвященные изучению динамики первичной фотохимической реакции белка KR2 на ранних временах с явным учетом вибронных взаимодействий при фотовозбуждении, а также ни в одной из теоретических работ не изучался вопрос о природе реакционноспособных и нереакционноспособных форм белка, приводящих к

существенно различным временам жизни электронно-возбужденного состояния.

**Целью работы** является определение роли белкового окружения в механизме первичных фотохимических реакций и фотоиндуцированной динамике ретиналь-содержащих белков первого и второго типов с помощью современных методов молекулярного моделирования.

**Объектами исследования** в данной работе являются изомеры РПШО и их химические модификации в изолированном состоянии, а также изомеры РПШО в белковом окружении родопсинов первого и второго типов.

**Предметом исследования** являются первичные фотохимические реакции РПШО в различном окружении.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Построение и анализ поверхностей потенциальной энергии низшего синглетного электронно-возбужденного состояния *9-цис*, *11-цис*, *13-цис* и полностью *транс* изомеров РПШО в газовой фазе. Определение кинетических параметров реакции фотоизомеризации изолированных хромофорных групп ретиналь-содержащих белков и интерпретация экспериментальных данных по фемтосекундной спектроскопии с временным разрешением.

2. Определение факторов, влияющих на скорость фотоизомеризации изолированного РПШО, путем введения химических модификаций в структуру хромофорной группы и интерпретация экспериментальных данных по фемтосекундной спектроскопии с временным разрешением.

3. Расчет и анализ колебательной структуры полос поглощения при переходе в первое синглетное электронно-возбужденное состояние активных центров родопсинов первого и второго типов и определение роли белкового окружения в фотоиндуцированной динамике ретиналь-содержащих белков на ранних временах.

4. Изучение структурной гетерогенности активного центра родопсина KR2 в реальном окружении и исследование природы реакционноспособных и нереакционноспособных состояний данного микробального родопсина.

#### **Научная новизна.**

1. Показано, что динамика релаксации первого синглетного электронно-возбужденного состояния *11-цис* изомера РПШО сопоставима с характеристическими временами фотоизомеризации в белках зрительной рецепции, тогда как специфичность

реакции и средние времена жизни в возбужденном состоянии полностью *транс* изомера РПШО значительно различаются в изолированном состоянии и белковом окружении микробильных родопсинов.

2. Определены факторы, влияющие на скорость реакции фотоизомеризации РПШО, и предложен модифицированный аналог полностью *транс* изомера, время жизни возбужденного состояния которого на порядок меньше по сравнению с исходным хромофором, что подтверждается экспериментальными данными.

3. На основе систематического анализа вибронной структуры электронно-колебательных спектров различных изомеров РПШО в изолированном состоянии и белковом окружении родопсинов первого и второго типов установлена связь фотоиндуцированной динамики на ранних временах со сверхбыстрой скоростью изомеризации в белках с определенной структурой активного центра.

4. Показано, что активный центр родопсина KR2 является структурно гетерогенным и установлена связь структуры его активного центра и фотоиндуцированной динамики РПШО на ранних временах, что позволяет объяснить наличие реакционноспособных и нереакционноспособных состояний в данном белке.

**Теоретическая значимость.** В данной работе с применением высокоточных неэмпирических методов квантовой химии изучена реакция фотоизомеризации РПШО, что является одним из ключевых процессов, лежащих в основе человеческого зрения и разных биологических функций ряда организмов. Результаты исследования позволяют оценить влияние факторов среды на фотофизические и фотохимические свойства изомеров РПШО, что имеет фундаментальный интерес для понимания механизмов и динамики сверхбыстрых первичных фотохимических реакций.

**Практическая значимость.** Разработанная методология расчета фотофизических и фотохимических свойств изомеров РПШО в разных окружениях может быть использована для описания свойств РПШО в новых открываемых родопсинах и свойств РПШО, содержащих разные структурные модификации. Полученные в рамках диссертационной работы результаты могут быть использованы в практических целях для создания сверхбыстрых молекулярных моторов и улучшения свойств оптических устройств для хранения, записи и передачи информации, в качестве активной среды которых выступают родопсины.

**Методология и методы исследования.** В работе применялся широкий арсенал

современных методов квантовой химии, а также метод молекулярной динамики и метадинамики. Методы молекулярной динамики и метадинамики применялись для поиска различных структур активного центра ретиналь-содержащих белков. Комбинированный метод КМ/ММ с использованием теории функционала электронной плотности (DFT) в варианте PBE0/(aug)-cc-pVDZ/AMBER использовался для оптимизации геометрических параметров активных центров родопсинов, расчета матрицы Гессе и проведения колебательного анализа в основном электронном состоянии. Для расчета профилей ППЭ в возбужденном электронном состоянии и поиска конических пересечений различных электронных состояний РПШО в газовой фазе, а также для расчета энергий вертикальных электронных переходов и градиентов энергии на ППЭ основного и возбужденного состояний РПШО в различном белковом окружении использовался метод ХМСQDPT2. Для учета белкового окружения использовался метод потенциалов эффективных фрагментов (EFP), позволяющий учесть поляризацию электронной плотности основного и возбужденного состояний под действием электростатического поля, создаваемого окружением. Метод CASSCF применялся для построения референсных волновых функций модельного пространства метода ХМСQDPT2. Для моделирования электронно-колебательных спектров в приближении Кондона использовался метод расчета перекрытия колебательных волновых функций различных состояний в модели смещенных многомерных гармонических поверхностей с параллельными нормальными модами.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Динамика релаксации возбужденного состояния изолированного 11-*цис* изомера протонированного основания Шиффа ретиналя (РПШО) является сопоставимой с характеристическими временами фотоизомеризации в белках зрительной рецепции, тогда как специфичность реакции и пикосекундные средние времена жизни изолированного полностью *транс* изомера РПШО значительно отличаются от данных параметров в белковом окружении микробиальных родопсинов.
2. Предложенная химическая модификация полностью *транс* изомера РПШО за счёт значительного понижения энергетического барьера при вращении вокруг двойной связи в возбужденном состоянии приводит к снижению среднего времени жизни данного состояния на порядок, которое становится сопоставимым с временами релаксации в бактериородопсине.

3. Родопсины первого и второго типов с определенным структурным мотивом активного центра, в котором присутствует водородная связь между основанием Шиффа и его противоионом, уже на ранних этапах фотоиндуцированной динамики приводят к возбуждению именно тех колебательных мод изомеров РПШО, которые способствуют сверхбыстрой реакции фотоизомеризации.

4. Активный центр микробиального родопсина KR2 обладает структурной гетерогенностью в основном электронном состоянии, что позволяет объяснить природу реакционноспособных и нереакционноспособных состояний данного белка.

**Личный вклад автора** состоит в изучении и систематизации литературных данных, разработке стратегии решения поставленных задач, реализации расчетов методами молекулярной динамики и метадинамики, методами КМ/ММ и методами квантовой химии, обработке полученных данных, в написании статей и подготовке докладов по теме диссертационной работы.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность полученных в диссертационной работе результатов гарантируется применением современных методов квантовой химии, подходящих для описания электронно-возбужденных состояний биологических хромофоров в различном окружении и в широком диапазоне изменения геометрических параметров, а также верификацией полученных результатов путем сопоставления с экспериментальными данными.

**Апробация работы и публикации.** Основное содержание работы в полной мере изложено в 9 публикациях: из них 4 статьи в международных рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.4 – «Физическая химия», и 5 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях. В работах, опубликованных в соавторстве, вклад Кусочка П.А. является основным в части квантовохимического моделирования. Основные результаты диссертационной работы представлены на 14 международных и всероссийских конференциях: международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва 2018, 2019, 2020, 2021, 2022), XXXVI всероссийском симпозиуме молодых ученых по химической кинетике (Московская область 2019), международной школе-конференции Hybrid QM/MM Approaches to Biochemistry and Beyond (Лозанна 2019), научных молодежных школах-конференциях

«Химия, физика, биология: пути интеграции» (Москва 2019, 2022), The CataLight Young Scientist Symposium (Германия 2020), Virtual Winter School on Computational Chemistry (Швейцария 2021), ACS Spring Meeting 2021 (США 2021), ACS Fall Meeting 2021 (США 2021) и 64-й Всероссийской научной конференции МФТИ (Москва 2021).

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, выводов, списка сокращений, списка цитируемой литературы из 194 наименований, благодарности, 2 приложений. Работа изложена на 150 страницах машинописного текста и включает 50 рисунков и 10 таблиц.

**Финансовая поддержка работы.** Работа поддержана грантом РФФИ «Аспиранты» 19-33-90254.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Введение

Во **введении** обоснована актуальность исследований, проводимых в рамках представляемой диссертационной работы, сформулирована цель и изложены задачи данной работы, рассмотрена научная новизна, методология, теоретическая и практическая значимость проведенных исследований, представлены положения, выносимые на защиту диссертации, данные об апробации работы и публикациях по теме диссертации.

### Глава 1. Обзор литературы

**Глава 1** содержит обзор литературы, который состоит из трех разделов.

**Раздел 1.1** посвящен описанию выбранных для исследования родопсинов I и II типов. Описаны характеристики фотоциклов родопсина KR2, бактериородопсина и зрительного родопсина. Рассмотрены кристаллические структуры данных белков, которые были использованы при проведении расчетов.

**Раздел 1.2** посвящен рассмотрению теоретических и экспериментальных работ, в которых исследованы фотофизические свойства РПШО в разных средах. Описаны характеристики реакции фотоизомеризации изомеров РПШО в растворе и газовой фазе. Изложены факторы, влияющие на спектральные свойства рассматриваемого хромофора. Описаны механизмы влияния стерических и электростатических факторов на эффективность и специфичность фотоизомеризации РПШО в белковом окружении. Рассмотрены факторы, которые могут быть ответственны за возникновение нереакционноспособных состояний в родопсинах.

В разделе 1.3 описаны теоретические подходы и методы, которые были использованы в диссертационной работе. Приведены теоретические основы метода EFP. Рассмотрен метод CASSCF. Описаны основы метода XMCQDPT2.

## Глава 2. Расчетная часть

В главе 2, состоящей из двух разделов, подробно описаны все этапы моделирования и параметры расчетов.

Раздел 2.1 посвящен описанию процедуры расчетов методом XMCQDPT2 фотофизических и фотохимических свойств изолированных изомеров и модифицированных форм РПШО в газовой фазе. Представлена методика расчета констант скоростей фотоизомеризации данных молекул при помощи теории активированного комплекса (ТАК) с явным учетом ангармоничности потенциала внутреннего вращения в возбужденном состоянии.

Раздел 2.2 относится к описанию процедуры расчетов свойств изомеров РПШО в белковом окружении. Рассмотрены параметры молекулярно-динамического моделирования и следующей за ним процедуры оптимизации геометрических параметров и колебательного анализа в основном электронном состоянии комбинированным методом КМ/ММ с использованием метода DFT. Описаны параметры моделирования с помощью метода метадинамики для поиска различных структур активного центра родопсина KR2. Представлены параметры КМ/ММ расчетов с использованием метода XMCQDPT2 в сочетании с методом EFP для расчета электронно-колебательных спектров РПШО в белковом окружении.

## Глава 3. Обсуждение результатов

В главе 3 приведено обсуждение результатов диссертационной работы.

В разделе 3.1 представлены результаты расчетов, выполненных для изомеров РПШО в газовой фазе. Выполнено построение профилей ППЭ для изомеров РПШО вдоль координаты изомеризации в первом возбужденном состоянии ( $S_1$ ) с использованием метода XMCQDPT2/SA-CASSCF(12,12)/cc-pVDZ. Рассчитаны профили ППЭ в состоянии  $S_1$  для реакций изомеризации из полностью *транс* РПШО в 9-*цис* РПШО, 11-*цис* РПШО, 13-*цис* РПШО, а также для реакций изомеризации 9-*цис* РПШО, 11-*цис* РПШО, 13-*цис* РПШО в полностью *транс* РПШО (рис.1).

Обнаружено, что для полностью *транс* РПШО существуют барьеры вращения вокруг двойных связей  $C_9=C_{10}$ ,  $C_{11}=C_{12}$  и  $C_{13}=C_{14}$ , при этом наименьшее значение в

0,037 эВ имеет барьер вращения вокруг связи  $C_{11}=C_{12}$ . Это свидетельствует о специфичности протекания реакции фотоизомеризации в газовой фазе для полностью *транс* изомера РПШО, однако, важно подчеркнуть, что в белковом окружении реакция фотоизомеризации идёт по другой двойной связи. Показано, что 9-*цис*, 11-*цис* и 13-*цис* изомеры претерпевают безбарьерный переход из состояния  $S_1$  в основное состояние ( $S_0$ ).

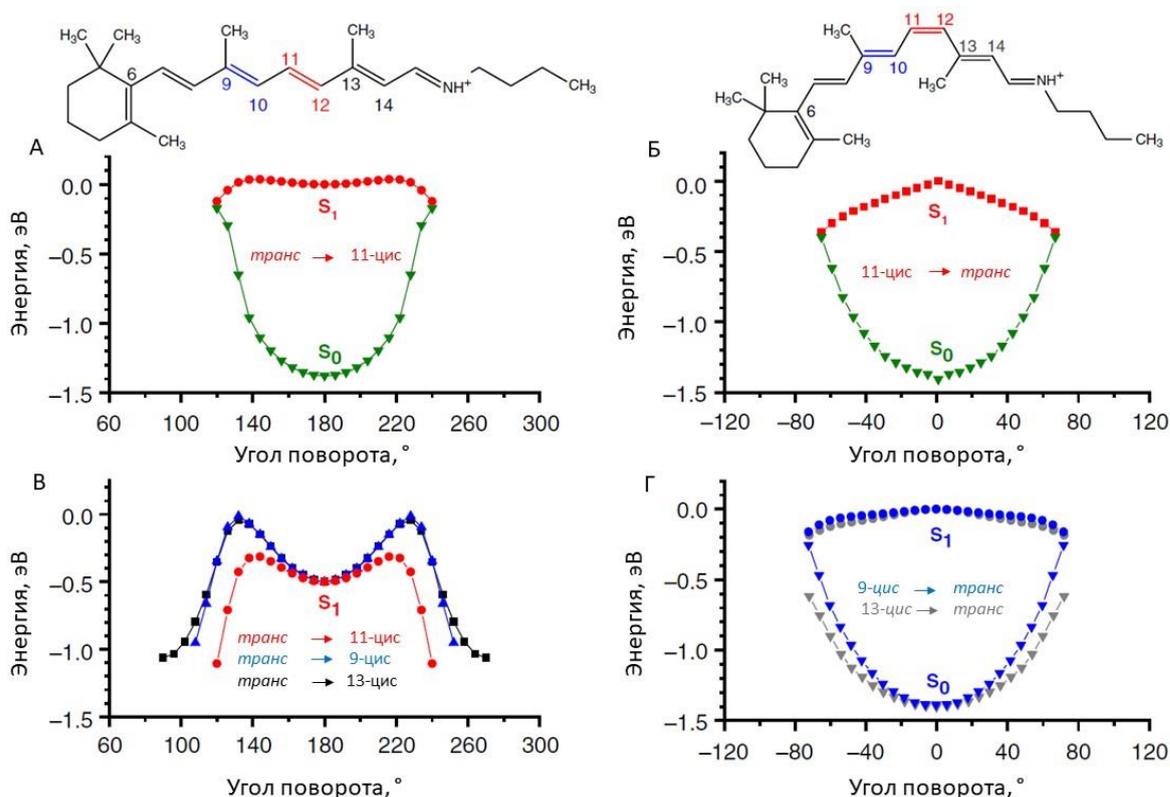
При помощи ТАК определены константы скорости реакции фотоизомеризации для полностью *транс* РПШО, полученные исходя из найденных энергетических барьеров на поверхности состояния  $S_1$ . Рассчитанное время жизни полностью *транс* РПШО составляет 4 пс при 300К и 92 пс при 100 К, что согласуется с экспериментальными данными по фемтосекундной спектроскопии действия (ФСД) с временным разрешением (3 пс при 300 К и 77 пс при 100 К)<sup>1</sup>. Отсутствие барьера вращения на поверхности  $S_1$  для 11-*цис* изомера также согласуется с экспериментальными данными<sup>1</sup>.

Рассчитанные силы осцилляторов вертикальных переходов из состояния  $S_1$  в более высоколежащие состояния вдоль координаты реакции изомеризации по двойной связи  $C_{11}=C_{12}$  для полностью *транс* и 11-*цис* изомеров РПШО выявили, что переход  $S_1 \rightarrow S_3$  является наиболее ярким вдоль всего пути реакции. Полосы поглощения зондирующего импульса в ФСД, наблюдающиеся при 720 нм и 660 нм<sup>1</sup>, согласуются с энергиями  $S_1 \rightarrow S_3$  вертикальных переходов в геометриях полностью *транс* РПШО, соответствующих минимуму и переходному состоянию на поверхности  $S_1$ , соответственно.

Таким образом, в данном разделе получены важные для формирования системы сравнения референсные значения средних времен жизни первого возбужденного состояния изомеров РПШО в газовой фазе. Показано, что динамика релаксации состояния  $S_1$  в белках зрительной рецепции, связанная с фотоиндуцированной реакцией изомеризации 11-*цис* хромофорной группы (200 фс), характеризуется временами, сравнимыми с динамикой релаксации изолированной хромофорной группы (400 фс). Бактериальные родопсины, содержащие полностью *транс* хромофорную группу, напротив, значительно уменьшают величину барьера в первом возбужденном состоянии и, более того, меняют специфичность реакции изомеризации, приводя к образованию 13-*цис* изомера на временах порядка 500 фс. В изолированном состоянии

<sup>1</sup>Kiefer H. et al. // Nat. Commun. — 2019. — Vol. 10, № 1. — P. 1210.

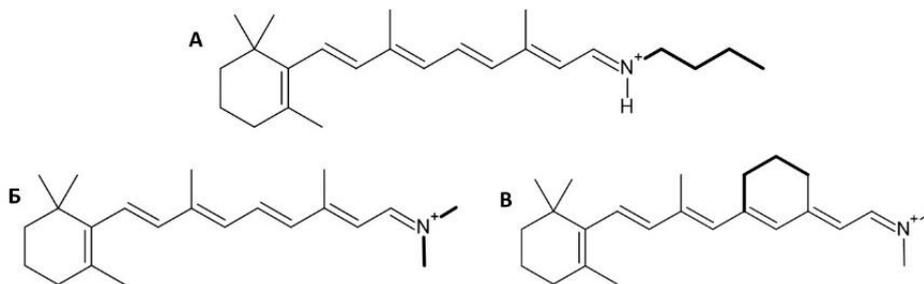
полностью *транс* изомер характеризуется временами жизни в возбужденном состоянии порядка 3 пс, и изомеризация происходит преимущественно по центральной связи, приводя к образованию 11-*цис* изомера. Данные результаты свидетельствуют о наличии эффективных механизмов управления фотооткликом хромофорной группы в белковом окружении.



**Рисунок 1.** Рассчитанные профили ППЭ в первом возбужденном состоянии  $S_1$  вдоль координаты вращения вокруг определенной двойной связи для полностью *транс* (А,В), 9-*цис* (Г), 11-*цис* (Б) и 13-*цис* (Г) изомеров РПШО в газовой фазе. Показаны также энергии основного состояния  $S_0$ , рассчитанные для оптимизированных геометрий РПШО в  $S_1$  состоянии вдоль пути наименьшей энергии.

Фотоизомеризация 11-*цис* формы РПШО в газовой фазе протекает с более высокой скоростью, чем фотоизомеризация полностью *транс* формы, тогда как в белковом окружении скорости этих процессов сопоставимы. В связи с этим становится важным определить факторы, способствующие увеличению скорости фотоизомеризации полностью *транс* изомера РПШО в газовой фазе, например, путем введения химических модификаций в его структуру, чему посвящен следующий раздел. Результаты раздела 3.1 опубликованы в работе [1].

В разделе 3.2 представлены исследования фотохимических реакций модифицированных форм РПШО, структуры которых представлены на рисунке 2.

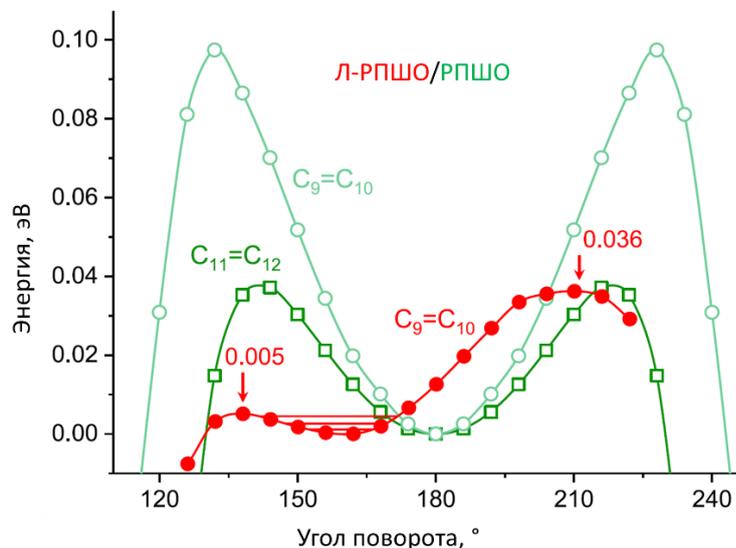


**Рисунок 2.** Структуры полностью транс РПШО (А) и его двух модификаций с заменой терминального заместителя основания Шиффа, ДМ-РПШО, (Б) и с введением алифатического кольца, блокирующего вращение по связи  $C_{11}=C_{12}$ , Л-РПШО (В).

Одной из рассматриваемых модификаций является основание Шиффа ретиналя, атом азота которого содержит в качестве заместителей две метильные группы (ДМ-РПШО). Вторая модификация РПШО содержит алифатическую углеродную группу, которая препятствует вращению вокруг связи  $C_{11}=C_{12}$  (Л-РПШО).

Построены профили наименьшей энергии для реакции изомеризации модифицированных форм РПШО в состоянии  $S_1$  с использованием метода ХМCQDPT2/SA-CASSCF(12,12)/сс-pVDZ. Расчеты показали, что барьер вращения вокруг связи  $C_{11}=C_{12}$  для ДМ-РПШО не изменился по сравнению с РПШО и также составляет 0,037 эВ. При этом время жизни возбужденного состояния ДМ-РПШО сократилось, что связано с практически двукратным уменьшением приведенного момента инерции у ДМ-РПШО по сравнению с РПШО. Рассчитанные времена жизни при разных температурах хорошо согласуются с экспериментальными данными (таблица 1).

Наличие алифатической группы в Л-РПШО приводит к снижению барьера вращения вокруг связи  $C_9=C_{10}$ , который практически исчезает и становится равным 0,005 эВ (рис. 3). Снижение барьера в  $S_1$  происходит за счет скручивания молекулы по связи  $C_9=C_{10}$  в равновесной геометрической конфигурации как основного, так и первого возбужденного состояния вследствие возникновения стерических взаимодействий из-за введенной модификации. Это приводит к значительному сокращению времени жизни возбужденного состояния, которое становится близким к таковому в бактериородопсине, что согласуется с экспериментальными данными (таблица 1).



**Рисунок 3.** Рассчитанные профили ППЭ в первом возбужденном состоянии  $S_1$  вдоль координаты вращения вокруг определенной двойной связи для полностью транс РПШО (зеленый) и Л-РПШО (красный). Горизонтальные линии – рассчитанные торсионные уровни Л-РПШО.

**Таблица 1.** Экспериментальные<sup>2</sup> и рассчитанные времена жизни возбужденного состояния  $S_1$  ( $\tau$ ), рассчитанные приведенные постоянные внутримолекулярного вращения ( $V$ ) и барьеры вращения в возбужденном состоянии для РПШО, ДМ-РПШО и Л-РПШО.

Т, К	$\tau$ (экс), пс	$\tau$ (расчет), пс	$V$ , см <sup>-1</sup>	Барьер, эВ	Изомер
<b>РПШО</b>					
300	$0,4 \pm 0,15$				<i>цис</i>
	$3,0 \pm 0,4$	4	0,065	0,037	полностью <i>транс</i>
100	$1,4 \pm 0,2$				<i>цис</i>
	$77 \pm 17$	92	0,065	0,037	полностью <i>транс</i>
<b>ДМ-РПШО</b>					
300	$1,7 \pm 0,4$	2,5	0,128	0,037	полностью <i>транс</i>
100	$2,3 \pm 0,5$				<i>цис</i>
	$45 \pm 30$	49	0,128	0,037	полностью <i>транс</i>
<b>Л-РПШО</b>					
300	$0,7 \pm 0,1$	0,5	0,081	0,005	полностью <i>транс</i>

Установлено, что потенциалы вращения по связи  $C_9=C_{10}$  полностью *транс* и 9-*цис* изомеров Л-РПШО в состоянии  $S_1$  являются асимметричными, что приводит к однонаправленному вращению молекулы на  $360^\circ$ . Это делает Л-РПШО перспективной

<sup>2</sup> Gruber E. et al. // J. Am. Chem. Soc. — 2022. — Vol. 144, № 1. — P. 69–73

молекулой для создания сверхбыстрого молекулярного мотора.

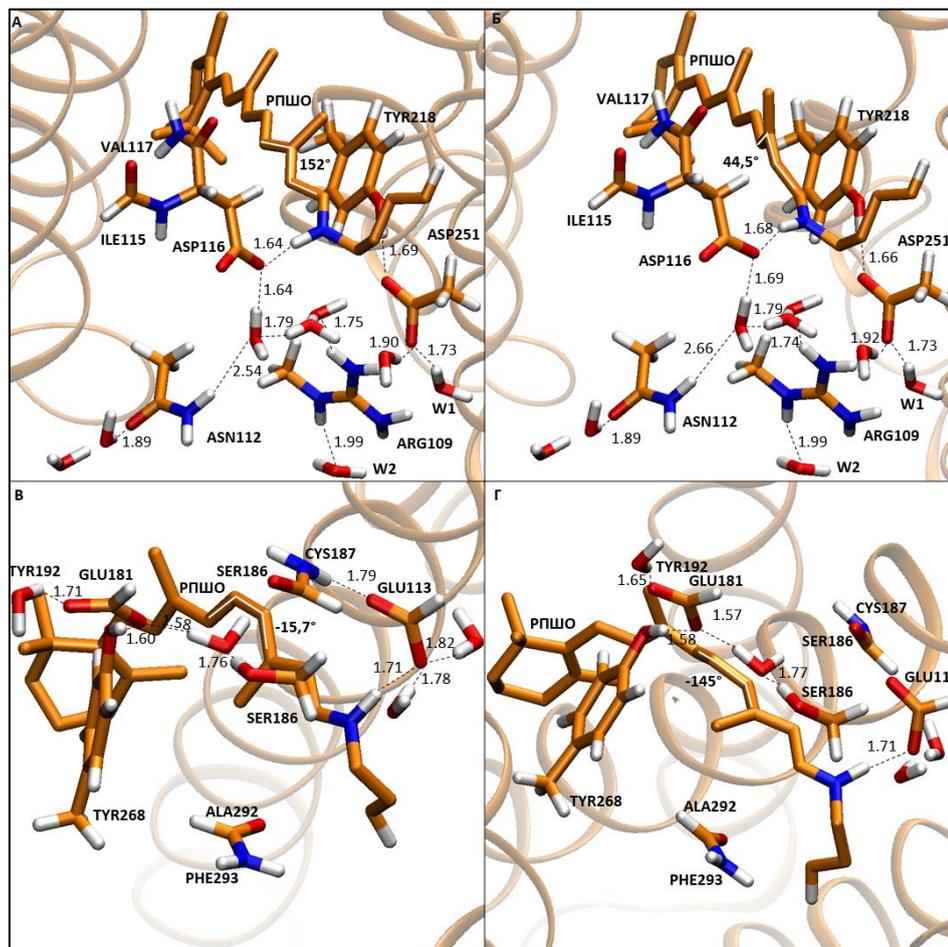
Таким образом, в данном разделе установлено, что химические модификации РПШО действительно способны приводить к значительному снижению времени жизни возбужденного состояния как за счет уменьшения момента инерции молекулы, так и за счет возникновения стерических взаимодействий, приводящих к скрученной по двойной связи равновесной геометрии и, как следствие, к уменьшению барьера вращения в возбужденном состоянии  $S_1$ .

Результаты раздела 3.2 опубликованы в работе [2].

Стерические взаимодействия в изолированной модифицированной форме РПШО способны приводить к изменению фотохимических свойств хромофора, поэтому важно изучить как взаимодействие с белковым окружением влияет на структуру РПШО и как это, в свою очередь, сказывается на свойствах хромофорной группы. **Раздел 3.3** посвящен исследованию свойств различных изомеров РПШО в белковом окружении, включая как реагенты, так и продукты фотохромных реакций родопсинов I и II типов.

Полные атомистические модели родопсина KR2, зрительного родопсина и бактериородопсина получены на основе кристаллических структур с идентификаторами банка данных белковых структур (PDB ID) 6REW, 1L9H и 1M0L соответственно, а модели интермедиатов этих родопсинов – на основе кристаллических структур с PDB ID 6TK5, 2G87 и 1M0K соответственно. Оптимизированные с помощью метода КМ/ММ структуры активных центров данных родопсинов и их интермедиатов показаны на рисунке 4.

Из-за наличия сильной водородной связи между РПШО и его противоионом равновесные структуры полностью *транс* и 11-*цис* РПШО в белковом окружении родопсинов KR2 и ЗР являются неплоскими: углы вращения вокруг связи  $C_{13}=C_{14}$  в KR2 (рис. 4А) и вокруг связи  $C_{11}=C_{12}$  в ЗР (рис. 4В) составляют  $152^\circ$  и  $-16^\circ$  соответственно. При этом угол вращения вокруг связи  $C_{13}=C_{14}$  в первичном 13-*цис* интермедиате родопсина KR2,  $K_{KR2}$ , составляет  $45^\circ$  (рис. 4Б), а угол вращения вокруг связи  $C_{11}=C_{12}$  в первичном полностью *транс* интермедиате ЗР, батородопсине, составляет  $145^\circ$  (рис. 4Г). Первичные интермедиаты по сравнению с реагентами скручены сильнее, так как структуры РПШО не полностью релаксируют после изомеризации. Рассчитанные на уровне теории ХМCQDPT2/SA-CASSCF(12,12)/(aug)-cc-pVDZ/EFP электронно-колебательные спектры указанных родопсинов представлены на рисунке 5.

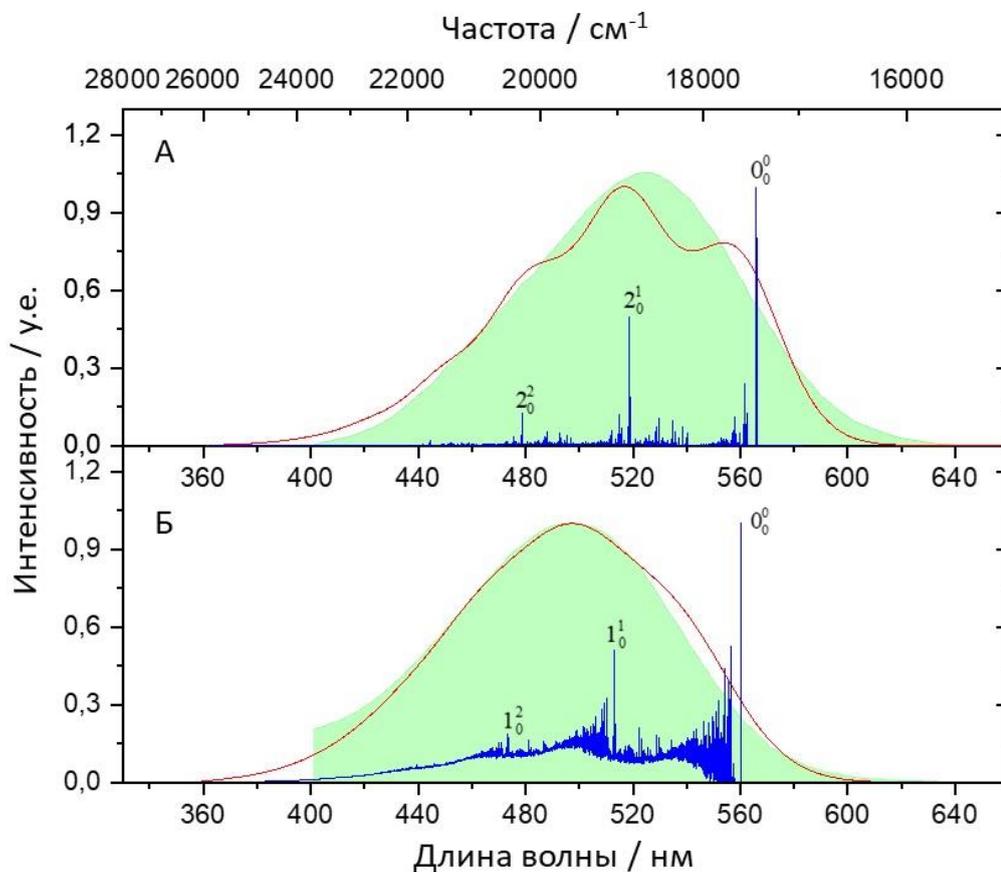


**Рисунок 4.** Структуры активных центров, полученных в ходе молекулярно-динамического моделирования и КМ/ММ оптимизации геометрических параметров, для родопсина KR2 (А), интермедиата КKR2 (Б), зрительного родопсина (В) и батородопсина (Г). Все расстояния указаны в Å.

Анализ факторов Хуанга-Рис (ФХР), которые отражают интенсивность переходов для различных колебательных мод при фотовозбуждении, свидетельствует о том, что в родопсине KR2 при переходе  $S_0 \rightarrow S_1$  наиболее активна мода валентного колебания, преимущественно локализованная на связи  $C_{13}=C_{14}$  с частотой  $1609 \text{ см}^{-1}$  (таблица 2). Также становится активным колебание с частотой  $905 \text{ см}^{-1}$ , связанное с выходом атома водорода из плоскости (HOOP) при атоме углерода  $C_{14}$ . В спектре зрительного родопсина наибольшей интенсивностью обладает мода валентного колебания, которая локализована на связи  $C_{11}=C_{12}$  с частотой  $1636 \text{ см}^{-1}$ , также приобретает интенсивность HOOP колебание при атомах углерода  $C_{11}$  и  $C_{12}$  с частотой  $1065 \text{ см}^{-1}$  (таблица 2).

В отличие от KR2 и ЗР в активном центре БР между РПШО и противоионом водородная связь образуется через молекулу воды, что приводит к тому, что

равновесная структура РПШО в БР более плоская по сравнению с KR2 (угол вращения по связи  $C_{13}=C_{14}$  составляет  $-161^\circ$ ). Угол вращения вокруг связи  $C_{13}=C_{14}$  в первичном 13-цис интермедиате бактериородопсина,  $K_{BR}$ , скручен сильнее, чем в реагенте, и составляет  $-41^\circ$ .



**Рисунок 5.** Электронно-колебательные спектры РПШО при переходе  $S_0 \rightarrow S_1$  в родопсине KR2 (А) и зрительном родопсине (Б), рассчитанные при 300 К и уширенные с помощью гауссовой функции с полушириной на полувывоте (HWHM)  $471 \text{ см}^{-1}$  (красные кривые), Показано сравнение с экспериментальными спектрами поглощения, закрашенными зеленым<sup>3,4</sup>. Также представлены линейчатые спектры РПШО (синие кривые), рассчитанные при 1 К и уширенные с помощью гауссовой функции с HWHM  $1 \text{ см}^{-1}$ .  $0_0^0$  соответствует переходу 0-0,  $1_0^1$ ,  $1_0^2$  отвечают переходам 0-1 и 0-2 валентного колебания по связи  $C_{11}=C_{12}$ , а  $2_0^1$ ,  $2_0^2$  - переходам валентного колебания по связи  $C_{13}=C_{14}$ .

Анализ факторов Хуанга-Рис показывает, что в БР наибольшей активностью обладает колебательная мода, локализованная на связи  $C_{13}=C_{14}$ , с частотой  $1623 \text{ см}^{-1}$ .

<sup>3</sup> Inoue K. et al. // Nat. Commun. — 2013. — Vol. 4, № 1. — P. 1678.

<sup>4</sup> Kandori H. et al. // Biochem. — 2001. — Vol. 66, № 11. — P. 1197–1209.

Интенсивность НООР моды с частотой  $959\text{ см}^{-1}$  при атоме углерода  $C_{14}$  в БР ниже, чем в KR2 из-за меньшей скрученности РПШО вокруг связи  $C_{13} = C_{14}$ . Из полученных данных следует, что сильная водородная связь между РПШО и противооном в родопсинах KR2 и ЗР приводит к скручиванию РПШО по определенной двойной связи и возбуждению высокочастотного валентного и НООР колебаний при этой связи, что способствует селективной реакции фотоизомеризации, являющейся самой быстрой в этих родопсинах. В БР, напротив, отсутствует сильная водородная связь между РПШО и противооном, что ведет к снижению скрученности РПШО и интенсивности НООР колебаний, что, в свою очередь, может являться причиной в несколько раз более низкой скорости фотоизомеризации РПШО в БР по сравнению с KR2.

**Таблица 2.** Рассчитанные частоты колебаний ( $\text{см}^{-1}$ ) и ФХР для выбранных мод РПШО в активных центрах родопсинов KR2 и ЗР, а также в их интермедиатах.

<b>KR2</b>			<b>Зрительный родопсин</b>		
Тип колебаний	Частота	ФХР	Тип колебаний	Частота	ФХР
$C_{14}H$ НООР	905	0,072	$C_{11}H, C_{12}H$ НООР	1065	0,095
$C_{13}=C_{14}$ валентное колебание	1609	0,495	$C_{11}=C_{12}$ валентное колебание	1636	0,425
<b>K<sub>KR2</sub></b>			<b>Батородопсин</b>		
Тип колебаний	Частота	ФХР	Тип колебаний	Частота	ФХР
$C_{14}H$ НООР	817	0,436	$C_{10}H$ НООР	913	0,498
			$C_{11}H$ НООР	970	0,400
$C_{13}=C_{14}$ валентное колебание	1593	0,504	$C_{13}=C_{14}$ валентное колебание	1614	0,270
			$C_{11}=C_{12}$ валентное колебание	1626	0,331

Спектры первичных интермедиатов  $K_{KR2}$  и батородопсина заметным образом отличаются от спектров реагентов, так как из-за большей скрученности РПШО в интермедиатах интенсивность их НООР колебаний возрастает и становится сравнимой с интенсивностью высокочастотных валентных колебаний (таблица 2). В  $K_{KR2}$  интенсивным является одно НООР колебание атома водорода при атоме углерода  $C_{14}$ . Вместе с НООР колебанием в  $K_{KR2}$  активна одна высокочастотная валентная мода, локализованная на связи  $C_{13}=C_{14}$ . В батородопсине значительную сравнимую интенсивность приобретают сразу две НООР моды, одна из которых локализована при атоме углерода  $C_{10}$ , вторая - при атоме углерода  $C_{11}$ . Также в батородопсине возбуждаются сразу две высокочастотные валентные колебательные моды, локализованные на двойных связях  $C_{11}=C_{12}$  и  $C_{13}=C_{14}$  (таблица 2).

НООР колебания в  $K_{BR}$  интермедиате также становятся более интенсивными по сравнению с БР из-за большей скрученности РПШО. Самой интенсивной высокочастотной валентной модой в  $K_{BR}$  является мода, локализованная на связи  $C_{13}=C_{14}$  с частотой  $1600\text{ см}^{-1}$ . Активная НООР мода при атоме  $C_{14}$  имеет частоту  $791\text{ см}^{-1}$ . НООР мода с частотой  $998\text{ см}^{-1}$  при атомах углерода  $C_{11}$  и  $C_{12}$  также является активной, но обладает вдвое меньшей интенсивностью по сравнению с НООР модой при атоме углерода  $C_{14}$ .

Из полученных данных следует, что в первичных интермедиатах микробиальных родопсинов активны высокочастотная валентная и НООР моды при определенной двойной связи, что способствует селективной и эффективной обратной реакции фотоизомеризации. В батородопсине обратная реакция не обладает селективностью, так как в данном интермедиате возбуждаются сразу несколько валентных и НООР колебательных мод. Эти результаты коррелируют с данными по фемтосекундной спектроскопии, свидетельствующими о том, что квантовый выход обратной реакции фотоизомеризации для БР в пять раз больше такового для ЗР<sup>5</sup>.

Таким образом, показано, что только определенный структурный тип активного центра как микробиальных, так и животных родопсинов, характеризующийся наличием сильной водородной связи между основанием Шиффа и его противоионом, оказывает заметное влияние на фотоиндуцированную динамику РПШО на ранних временах и приводит к возбуждению именно тех колебательных мод изомеров РПШО, которые способствуют сверхбыстрой реакции фотоизомеризации. При этом эффективность обратных реакций фотоизомеризации *13-цис* и полностью *транс* изомеров РПШО в родопсинах I и II типа сильно различается.

Результаты раздела 3.3 опубликованы в работах [3], [5-6].

Структура активного центра родопсинов значительно влияет на фотофизические и фотохимические свойства РПШО. **Раздел 3.4** посвящен исследованию роли структурной гетерогенности активного центра родопсина KR2 в возникновении нереакционноспособных состояний, не приводящих к фотоизомеризации.

Полные атомистические модели различных конформеров активного центра белка KR2 в мономерной форме в растворе были получены на основе структуры с PDB ID 6REW. В ходе молекулярно-динамического моделирования было выбрано три

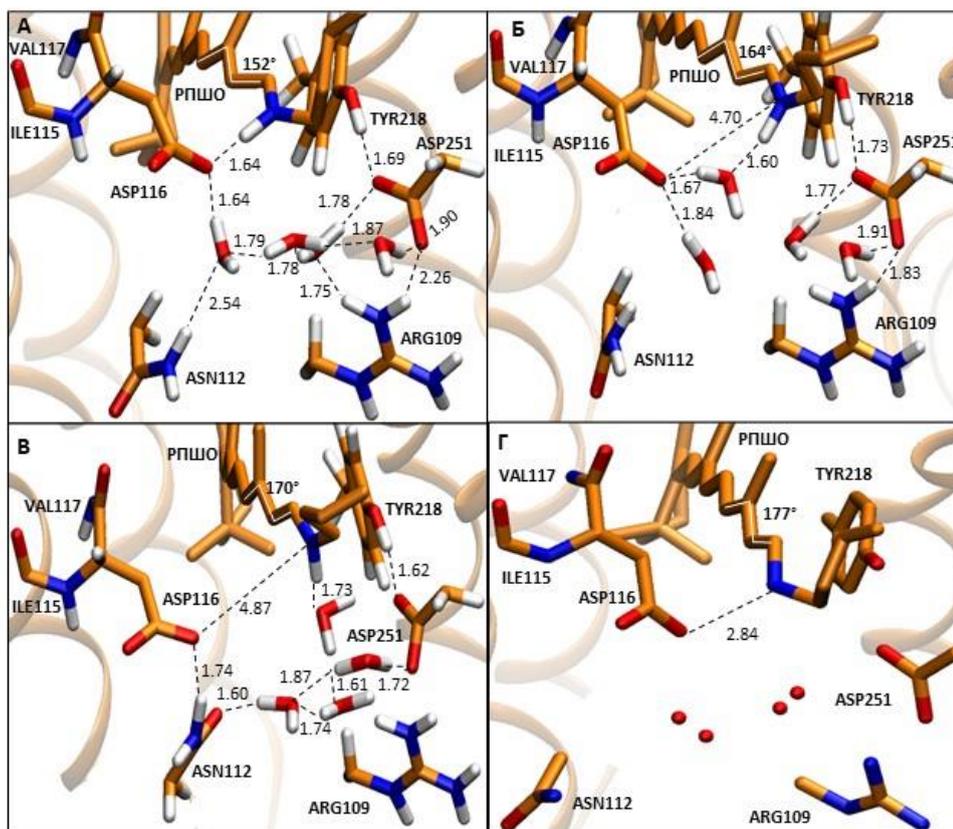
<sup>5</sup> Feldman T.B. et al. // J. Photochem. Photobiol. B Biol. — 2016. — Vol. 164. — P. 296–305.

конформера, которые наиболее сильно отличаются друг от друга ориентацией противоположно Asp116 относительно РПШО (рис. 6А-В). Конформер I имеет сильную водородную связь (длина 1.64 Å) между РПШО и его противоположно Asp116. В конформере II Asp116 взаимодействует с РПШО опосредованно через молекулу воды. В конформере III Asp116 не взаимодействует с РПШО.

Полученные результаты свидетельствуют о возможном влиянии олигомерной формы белка на конформационную подвижность его активного центра: мономер в водном растворе характеризуется значительными структурными вариациями, в особенности, связанными с положением противоположно Asp116. С помощью метода метадинамики на основе кристаллической структуры с PDB ID 6YC3 исследована конформационная подвижность аминокислотных остатков активного центра родопсина KR2 в пентамерной форме, помещенного в липидный бислой. Конформационная подвижность остатка Asp116 значительно уменьшилась, однако и в случае пентамерной формы белка обнаружено три типа структур, аналогичных найденным при динамике мономерной формы в водном растворе. Согласно результатам метадинамики (рис.7) конформер I является доминирующим, и разница в энергии Гиббса с двумя другими конформерами составляет ~10 ккал/моль. Именно на примере конформера I были рассмотрены свойства родопсина KR2 в разделе 3.3. Сравнение экспериментальных и рассчитанных частот колебаний подтверждает образование водородной связи между РПШО и Asp116 с длиной 1,64–1,67 Å.

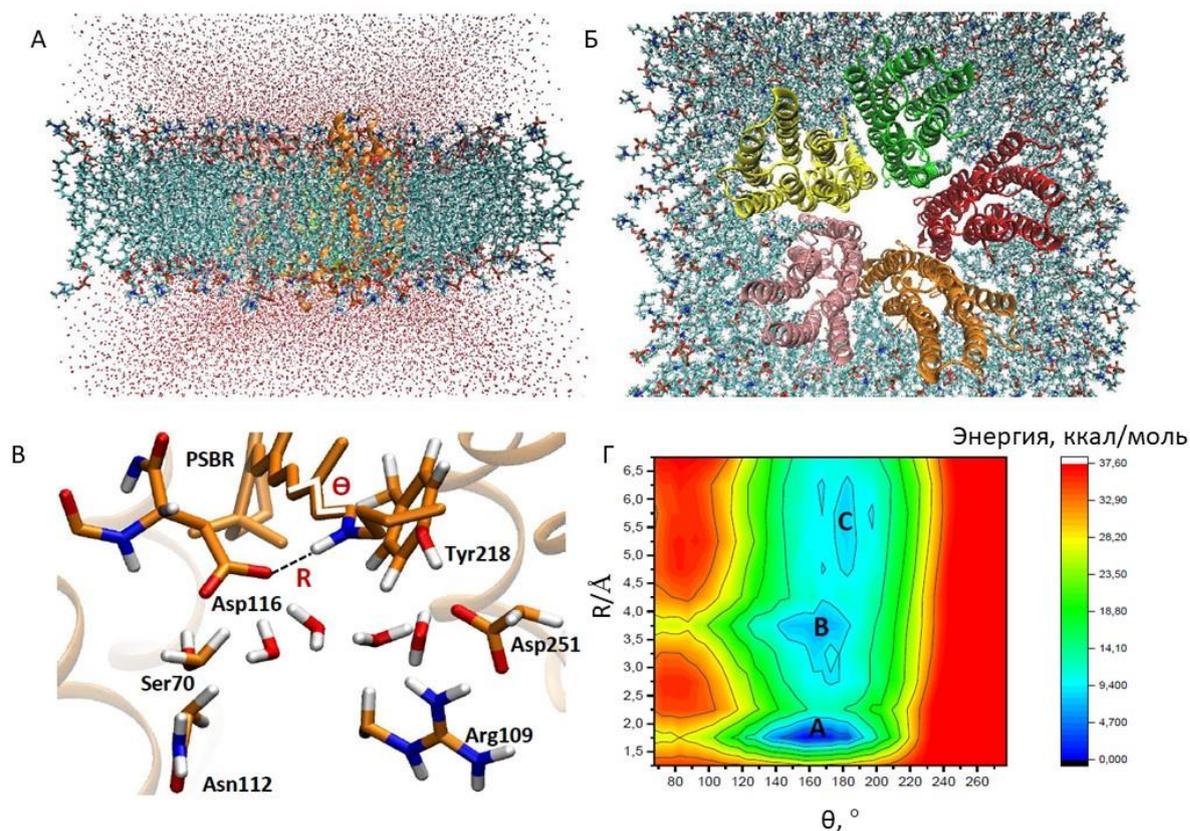
Установлено, что сила водородной связи между РПШО и Asp116 коррелирует со степенью скрученности РПШО вокруг связи C<sub>13</sub>=C<sub>14</sub>. Конформер I имеет самую короткую водородную связь с длиной 1,64 Å, а угол вращения вокруг связи C<sub>13</sub>=C<sub>14</sub> составляет 152° (рис. 6А). В то же время, в конформере III РПШО не взаимодействует напрямую с Asp116, и торсионный угол равен 170° (рис. 6В).

Рассчитанные уширенные электронно-колебательные спектры РПШО при переходе S<sub>0</sub>→S<sub>1</sub> в различных конформерах совпадают по положению и форме и, следовательно, в эксперименте являются спектрально неразличимыми. Это подчеркивает необходимость моделирования электронно-колебательных спектров с учетом структурной гетерогенности активного центра родопсина для выявления различий в характере и активности колебательных мод разных конформеров при фотовозбуждении.



**Рисунок 6.** Различные конформеры активного центра родопсина KR2, полученные на основе кристаллической структуры PDB ID 6REW в ходе молекулярно-динамического моделирования и КМ/ММ оптимизации геометрических параметров. Конформеры I (А), II (Б) и III (В) отличаются положением противоиона Asp116 по отношению к РПШО. Исходная кристаллическая структура PDB ID 6REW (Г). Все расстояния приведены в Å.

Анализ факторов Хуанга-Рис показывает, что в газовой фазе в полностью *транс* РПШО при переходе  $S_0 \rightarrow S_1$  активны две высокочастотные колебательные моды, локализованные на связях  $C_{13}=C_{14}$  и  $C_{11}=C_{12}$ , тогда как в конформерах KR2 высокочастотная мода валентного колебания, преимущественно локализованная на связи  $C_{13}=C_{14}$ , становится доминирующей и обуславливает схожие профили спектров различных конформеров (таблица 3). Локализация колебаний данной моды на связи  $C_{13}=C_{14}$  возрастает с увеличением скрученности РПШО вокруг этой связи при переходе от конформера III к конформеру I. НООР колебание при атоме  $C_{14}$  неактивно в РПШО в газовой фазе, но его интенсивность также возрастает при переходе от конформера III к конформеру I.



**Рисунок 7.** Пентамерная форма KR2 внутри липидного бислоя и поверхность энергии Гиббса, полученная методом метадинамики. Показаны вид сбоку (А) и вид сверху (Б) модельной системы, полученной из кристаллической структуры KR2 в пентамерной форме при рН 8,0 (PDB ID 6YC3). Конфигурационное пространство исследовалось по двум координатам  $R$  и  $\theta$  (В). На поверхности энергии Гиббса буквами А, В, С обозначены области минимумов, соответствующих конформерам I, II и III соответственно (Г).

**Таблица 3.** Рассчитанные частоты колебаний ( $\text{см}^{-1}$ ) и ФХР для выбранных мод полностью *транс* РПШО в различных конформерах активного центра родопсина KR2 и газовой фазе.

	$\text{C}_{14}\text{H}$ HOOP колебание		$\text{C}_{13}=\text{C}_{14}$ валентное колебание		$\text{C}_{11}=\text{C}_{12}$ валентное колебание	
	Частота	ФХР	Частота	ФХР	Частота	ФХР
Конформер I	905	0,072	1609	0,495	1630	0,068
Конформер II	914	0,026	1602	0,464	1621	0,073
Конформер III	918	0,008	1607	0,527	1619	0,049
<i>транс</i> РПШО, газ	913	0,000	1559	0,226	1577	0,066

Таким образом, изменение конформации РПШО в активном центре родопсина

KR2 влияет на количество и интенсивность колебательных мод, активных при фотовозбуждении. Наиболее скрученная конформация РПШО доминирующего конформера I является самой благоприятной для возбуждения именно тех колебательных мод при электронном переходе, которые способствуют реакции фотоизомеризации. Наличие двух других конформаций активного центра в структурно гетерогенном белке KR2 можно, по всей видимости, связать с наличием нереакционноспособных состояний, характеризующихся долгими компонентами в динамике релаксации возбужденного состояния  $S_1$ , зафиксированными экспериментально.

Результаты раздела 3.4 опубликованы в работе [4].

### Основные результаты и выводы

1. Исследованы механизмы безызлучательной релаксации и получены оценки средних времен жизни в возбужденном состоянии изомеров РПШО в газовой фазе. Показано, что динамика релаксации первого электронно-возбужденного состояния 11-*цис* изомера РПШО сопоставима с характеристическими временами фотоизомеризации в белках зрительной рецепции, тогда как специфичность реакции и средние времена жизни в возбужденном состоянии полностью *транс* изомера РПШО значительно различаются в изолированном состоянии и белковом окружении микробиальных родопсинов.
2. Предложены пути управления сверхбыстрой фотоиндуцированной динамикой изолированных РПШО с помощью химических модификаций структуры хромофора. На основе хромофорной группы ретиналь-содержащих белков с заблокированным внутримолекулярным вращением по центральной двойной связи показано, что среднее время жизни возбужденного состояния может быть на порядок снижено вследствие возникновения стерических взаимодействий и значительного снижения энергетического барьера безызлучательной релаксации.
3. Установлено, что белковое окружение за счет скручивания полиеновой цепи РПШО приводит к селективному возбуждению определенных колебательных мод хромофора уже на ранних этапах фотоиндуцированной динамики, что способствует сверхбыстрому протеканию и обеспечивает специфичность реакции фотоизомеризации в родопсинах первого и второго типов. Показано, что наличие водородной связи между РПШО и его противоионом является определяющим структурным фактором для сверхбыстрого протекания первичной фотохимической реакции в родопсинах обоих типов.

4. Установлена взаимосвязь между структурой активного центра микробиального родопсина KR2 и фотоиндуцированной динамикой его хромофорной группы на ранних временах. Обнаруженная структурная гетерогенность данного белка позволяет объяснить природу его реакционноспособных и нереакционноспособных форм.

#### Список опубликованных по теме диссертации работ

*Публикации в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, РИНЦ и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности:*

- 1) Kiefer H. V., Gruber E., Langeland J., **Kusochek P.A.**, Bochenkova A. V., Andersen L.H. Intrinsic photoisomerization dynamics of protonated Schiff-base retinal // Nature Communications. — 2019. — Vol. 10, № 1. — P. 1210; - **IF: 12.121 (Web of Science 2019)**
- 2) Gruber E., Kabylda A.M., Nielsen M.B., Rasmussen A.P., Teiwes R., **Kusochek P.A.**, Bochenkova A. V., Andersen L.H. Light Driven Ultrafast Bioinspired Molecular Motors: Steering and Accelerating Photoisomerization Dynamics of Retinal // Journal of the American Chemical Society. — 2022. — Vol. 144, № 1. — P. 69–73; - **IF: 15.419 (Web of Science 2020)**
- 3) **Kusochek P.A.**, Logvinov V. V., Bochenkova A. V. Role of the Protein Environment in Photoisomerization of Type I and Type II Rhodopsins: a Theoretical Perspective // Moscow University Chemistry Bulletin. — 2021. — Vol. 76, № 6. — P. 407–416; - **IF: 0.171 (Scopus 2021)**
- 4) **Kusochek P.A.**, Scherbinin A. V., Bochenkova A. V. Insights into the Early-Time Excited-State Dynamics of Structurally Inhomogeneous Rhodopsin KR2 // The Journal of Physical Chemistry Letters. — 2021. — Vol. 12, № 35. — P. 8664–8671; - **IF: 6.475 (Web of Science 2020)**

*Список публикаций в сборниках материалов и тезисов конференций:*

- 5) **Кусочек П.А.**, Логвинов В.В. Связь динамики фотохромных реакций на ранних временах со структурой активного центра в различных микробиальных и животных родопсинах // Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», секция «Химия». — М.: Издательство «Перо» [Электронное издание], Москва, 2022. — С. 728.

- 6) **Кусочек П.А.**, Логвинов В.В., Боченкова А.В. Роль белкового окружения в механизме реакции фотоизомеризации хромофорных групп родопсинов I и II типов // Труды 64-й Всероссийской научной конференции МФТИ. Электроника, фотоника и молекулярная физика. — Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, 2021. — С. 40-42.
- 7) **Кусочек П.А.** Исследование структурной гетерогенности активного центра бактериальных родопсинов // Материалы XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», секция «Химия». — М.: Издательство «Перо» [Электронное издание], Москва, 2020. — С. 1108.
- 8) **Кусочек П.А.**, Боченкова А.В. Моделирование структуры и электронно-колебательных спектров протонированного основания Шиффа ретиналя в фотоцикле бактериального родопсина KR2 // Сборник тезисов докладов VII научной молодежной школы-конференции «Химия, физика, биология: пути интеграции». — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ИХФ РАН), Москва, 2019. — С. 44.
- 9) **Кусочек П.А.**, Боченкова А.В. Механизм и кинетика фотоизомеризации хромофорных групп ретиналь-содержащих фоторецепторных белков в газовой фазе: теория и эксперимент // XXXVI Всероссийский симпозиум молодых ученых по химической кинетике. Сборник трудов. — Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, 2019. — С. 56.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает огромную благодарность своему научному руководителю – заведующей лабораторией квантовой фотодинамики, доценту, к.ф.-м.н. Боченковой Анастасии Владимировне за неоценимую помощь, ценные обсуждения и всестороннюю поддержку при выполнении исследования.

Автор выражает огромную благодарность своим родителям за помощь и всестороннюю поддержку.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ «Аспиранты» №19-33-90254.