

**VILNIAUS UNIVERSITETAS  
FIZIKOS FAKULTETAS  
TEORINĖS FIZIKOS KATEDRA**

Jonas Narkeliūnas

**SUŽADINIMO ENERGIJOS PERNAŠA IR NEFOTOCHEMINIS GESINIMAS  
FLIUKTUOJANČIOJE FOTOSINTETINĖJE ANTENOJE**

Magistrantūros studijų baigiamasis darbas

Teorinės fizikos ir astrofizikos  
studijų programa

Studentas	Jonas Narkeliūnas
Darbo vadovas	dr. Jevgenij Chmeliov
Konsultantas	prof. habil. dr. Leonas Valkūnas
Recenzentas	doc. dr. Gediminas Trinkūnas
Katedros vedėjas	prof. habil. dr. Leonas Valkūnas

Vilnius 2016

# Turinys

Įvadas .....	3
1 Fotosistema. Fotosintetinės antenos .....	5
1.1 Fotosintezė: nuo šviesos priklausančios reakcijos .....	5
1.2 FSII sandara .....	6
1.3 Energijos pernašos modeliai .....	8
2 Stochastinis stambiagrūdis modelis .....	10
2.1 Pernašos mechanizmai. Nefotocheminis gesinimas .....	10
2.2 Pagrindinė kinetinė lygtis .....	12
2.3 Modelio taikymas .....	15
3 Rezultatai ir jų aptarimas .....	17
Išvados .....	23
Literatūros sąrašas .....	24
Santrauka .....	27

## Įvadas

Kiekvieną dieną mes susiduriame su daugybe įvairių technologinių išradimų: nuo paprastų kaip lemputė ar elektrinis dantų šepetukas iki išmaniųjų telefonų ar kompiuterių. Prie visa to mes taip pripratome, kad tai tapo neatsiejama šiuolaikinio pasaulio dalis. Įdomu tai, kad jie visi turi kai ką bendro: jais teka elektros srovė. Iš tiesų, be elektros pasaulis būtų visai kitoks, ir ne tik dėl palengvinto gyvenimo – pati elektra nuo pat jos atradimo tapo mokslo varomąja jėga – įrankiu, leidžiančiu tyrinėti ir stebėti mus supantį pasaulį, atrasti vis kažką naujo. Taigi mes esame priklausomi nuo jos.

Natūralu, kad dabartinis elektros poreikis auga, tačiau čia susiduriame su problema: dar iki šiol žmonija nesugeba pasidaryti daug ir švarios elektros energijos. Didžioji dalis jos yra gaunama iš iškastinio kuro kaip nafta ir anglis, tačiau ne paslaptis kaip tai neigiamai veikia klimata, nors kita vertus šie ištekliai nėra neišsenkami. Tad yra būtinybė pereiti prie alternatyvių ir švarių energijos šaltinių. Vienas iš tokių šaltinių yra Saulė. Saulės energija neteršia, o taipogi nieko nekainuoja ir yra „prieinama“ visoje Žemėje. Iš tiesų, Žemę pasiekia milžiniškas kiekis šios energijos: dienos metu kiekviena sekundę į vieną kvadratinį Žemės paviršiaus metrą vidutiniškai krinta 1367 J Saulės energijos, o tai per visą Žemės paviršių susideda iki milžiniško energijos kiekio: net kelis tūkstančius kartų didesnio nei dabartinis žmonijos poreikis [1]. Taigi jei šią dieną visi staiga pereitume prie Saulės energijos, tai galėtume aprūpinti visą Žemę elektra padengus Ispanijos dydžio teritoriją Saulės elementais. Nors plotas ganėtinai didelis, tačiau reikia turėti omeny, kad Saulės elementai šiuo metu nėra itin efektyvūs<sup>1</sup>, tad pasiekus jų maksimalų efektyvumą būtų galima sumažinti reikalingą plotą kelis kartus. Kita vertus, yra ir kitų minusų: technologija nėra pigi, taip pat yra su ilgaamžiškumu susijusių problemų, reikalaujančių nuolatinės priežiūros, tad kol šie Saulės elementų minusai nebus išspręsti, vargu ar greitai metu pamatysime žymių pokyčių.

Saulės energiją galima pažaboti ir kitais būdais, ir gamta gali pasiūlyti alternatyvą – nors ir mažiau efektyvią energijos konversijos požiūriu, tačiau nereikalaujančią priežiūros, taip pat save gaminančią ir taisančią, ir praktiškai nieko nekainuojančią. Šios „Saulės jėgainės“ yra augalai, o tiksliau tai augalo ląstelėse esantys chloroplastai. Juose šviesos energija yra verčiama chemine energija – organiniais junginiais. Šis procesas dar vadinamas *fotosinteze*. Fotosintezė nėra itin efektyvi, tik keli procentai kritusios šviesos energijos yra sugerama ir panaudojama biomasės kūrimui [3], bet šio proceso metu yra sunaudojamas anglies dioksidas, o kaip šalutinis produktas pagaminamas mums reikalingas deguonis, taigi yra pliusų ir minusų.

Šiuo metu mokslininkai bando sukurti dirbtinius organizmus, kuriose vyktų naši fotosintezė ir dalis to priklauso nuo šviesos sugerties padidrinimo, kuri vyksta *fotosistemoje I* ir *fotosistemoje II*. Abi šios fotosistemos yra tilakoido membranoje<sup>2</sup>, kuris yra chloroplasto viduje, ir veikia jos viena po kitos gamindamos junginius reikalingus cheminėms reakcijoms. Kiekviena iš jų sudaryta iš šimtų pigmentų – įvairių *chlorofilo* molekulių, kurie susijungę į sudėtingus pigmentinius-baltyminius kompleksus [3].

<sup>1</sup>Šiuo metu rinkoje prieinamų Saulės elementų efektyvumas siekia apie 20 % [2].

<sup>2</sup>Tilakoidai – tai membraniniai maišeliai, kuriuose vyksta fotocheminiai procesai.

Juose yra sugerama daugybės skirtingų bangos ilgių šviesa (400–700 nm diapazone) ir tik truputį žalios šviesos iš regimojo diapazono (2c pav.) – tai iš tikrųjų nulemia, kodėl chloroplastai ir augalo lapai yra žali. Mokslininkai manipuluodami pigmentais gali pakeisti sugerties spektrą taip, kad jis padengtų platesnę dažnių juosta, dėl ko efektyvumas padidėtų. Tačiau iš to naudos nebus, jei sužadinimas nepasieks vadinamųjų *reakcijų centrų*, kuriuose įvyksta krūvio atskyrimas, užvedantis kitus cheminius procesus [3]. Reakcijų centrai turi mažai pigmentų, todėl šviesos sugertis juose yra maža, o kadangi chlorofilo molekulė vienu metu gali sugerti nedaugiau kaip vieną fotoną kas 0,1 s [3], tai be *anteninių* kompleksų didžiąją dalį laiko reakcijų centras būtų visiškai neaktyvus. Bet iš eksperimentų matoma, kad sužadinimo pernaša tarp kompleksų yra dešimčių pikosekundžių eilės, o krūvio atskyrimas tik pikosekundžių eilės [4], todėl anteninių kompleksų pagalba reakcijos centras gali efektyviai dirbti. Kita vertus, jei per daug sužadinimo pasiekia reakcijos centrą, pavyzdžiui, esant dideliame apšvietimo intensyvumui, gali susidaryti chlorofilo tripletinės būsenos, kurios lemia destruktivių singuletinių deguonies molekulių formavimąsi. Tad apsisaugojimui nuo to augaluose yra mechanizmai keičiantys fotosintetinės antenos dydį, o taip pat atsiranda kompleksai, kurie veikia kaip gaudyklės, gesinančios sužadinimą nefotocheminiu būdu [5]. Taigi fotosintezės efektyvumas nėra pastovus ir jis smarkiai priklauso nuo šių anteninių kompleksų, kurie sugeba prisitaikyti prie įvairių apšvietimo sąlygų.

Nors šioje srityje vykdoma daugybė mokslinių tyrimų, dėl struktūros sudėtingumo yra žymiai sunkiau suprasti rezultatus ir juos interpretuoti, todėl įvairūs molekuliniai mechanizmai vis dar yra nesuprasti. Skirtingos mokslininkų grupės, siūlančios teorinius modelius, nesutaria, kas valdo antenos dydį, arba kaip fotosistema apsisaugo nuo fotooksidacijos. Nuo šių mechanizmų priklauso energijos pernaša į reakcijos centrą. Kai kurie modeliai neapsieina be daugybės sudėtingų proceso įterpimo, pavyzdžiui, sužadinimo pernašos ir krūvio atskyrimo spartos priklausomybės nuo fotosintetinės antenos dydžio, todėl jų pačių validumas yra abejotinas. Dėl šių priežasčių yra reikalingas paprastas ir aiškus modelis, paaiškinantis turimus eksperimentus ir minėtą anteninių kompleksų elgesį. Būtent tai šiame darbe buvo bandoma padaryti fotosistemai II, esant skirtingiems anteninių kompleksų dydžiams.

Šio **darbo tikslas**: patikrinti, ar eksperimentuose stebimas daugiaeksponentes fluorescencijos gesimo kinetikas skirtingo antenos dydžio fotosistemose galima paaiškinti fliuktuojančiais ryšiais tarp kompleksų bei šviesos surinkimo antenoje atsitiktinai susidarančiomis nefotocheminėmis sužadinimo gaudyklėmis.

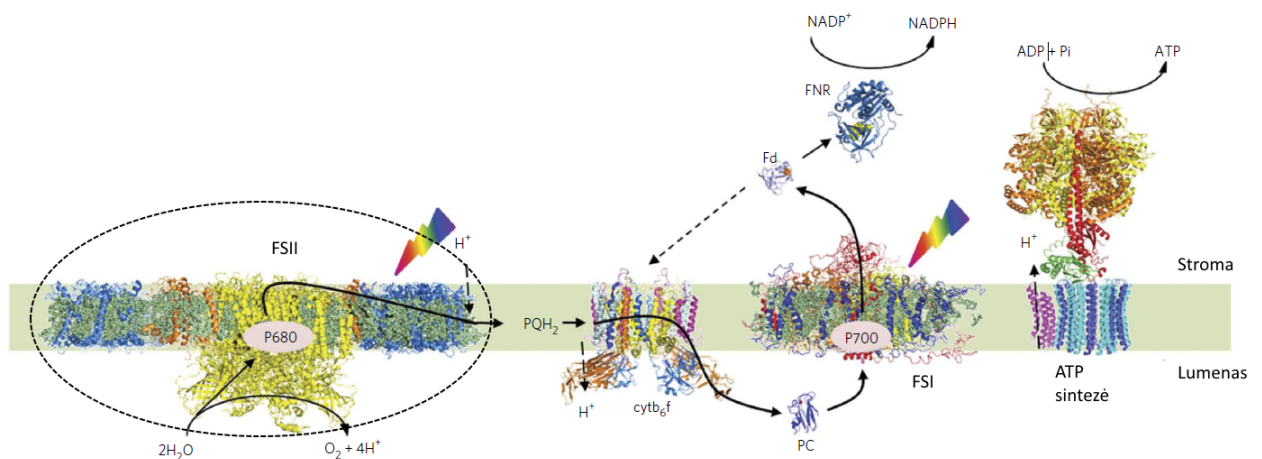
# 1 Fotosistema. Fotosintetinės antenos

## 1.1 Fotosintezė: nuo šviesos priklausančios reakcijos

Augalai nuo gyvūnų skiriasi tuo, kad augalai negali judėti ir susimedžioti sau maisto, todėl maistinėmis medžiagomis turi apsirūpinti patys. Dėl šios priežasties augalo ląstelės turi *chloroplastus*. Chloroplastas – tai lęšio formos žalias augalo ląstelės organoidas, kuris yra atsakingas už ląstelės aprūpinimą maistinėmis medžiagomis. Tai jis padaro su fotosintezės pagalba – proceso, kurio metu fotono energija sugerama ir panaudojama cheminėms reakcijoms vykdyti. Priklausomai nuo augalo išsivystymo, chloroplastų skaičius vienoje ląstelėje gali varijuoti nuo 1 iki 200, taip patenkindamas bet kokio augalo ląstelės energetinius poreikius. Ląstelės viduje įvairūs mechanizmai užtikrina, kad energijos niekada nepritrūktų, vienas iš tokių yra chloroplasto judėjimas, kuris priklauso nuo aplinkos apšvietimo intensyvumo. Esant mažam apšvietimo intensyvumui visi chloroplastai migruoja į ląstelės paviršių, kur į juos gali pataikyti daugiau fotonų. Tačiau per didelis šviesos intensyvumas kartu didina ir fotooksidacijos riziką: gali susiformuoti žalingos singuletinės deguonies būsenos [6], kurios gali sukelti lipidų oksidaciją membranoje, baltymų struktūrinius pokyčius ir pigmentų struktūros pažeidimą – deformacinius pakitimus, dėl kurių ląstelė gali suirti. Dėl šios priežasties chloroplastai taip pat gali greitai keisti savo orientaciją – jų forma lemia neizotropinę sugertį, tad keisdami orientaciją šviesos atžvilgiu gali žymiai sumažinti savo efektyvumą ir sugeriamų fotonų skaičių.

Chloroplasto vidinė struktūra susideda iš mažiausiai trijų membraninių sistemų: išorinės membranos, vidinės membranos ir *tilakoidinės sistemos*. Erdvė tarp šių sluoksnių yra užpildyta *stroma* – gelio konsistencijos skysčiu, kuriame plaukioja likę organoidai ir chloroplasto DNR. Tiesiogiai su fotosintezės procesu yra susiję tik tilakoidai ir stroma. Stromoje vyksta *Kalvino ciklas* – tai nuo šviesos *nepriklausančios reakcijos*, kurių pabaigoje anglies dioksidas, vanduo ir kiti neorganiniai junginiai yra paverčiami stabiliais organiniais junginiais – maistinėmis medžiagomis [3]. Tuo tarpu šias reakcijas varantys ATP (adenozino trifosfatas) ir NADPH (nikotinamidadeninukleotido fosfatas) junginiai yra gaunami po nuo šviesos priklausančių reakcijų, kurios vyksta tilakoidų membranoje. Pastarųjų schematinė diagrama pavaizduota 1 pav.

Tilakoidų membranoje yra daugybė vadinamųjų *fotosistemų* (FS) – milžiniškų molekulinio darinių, sudarytų iš šimtų surištų pigmentų (įvairių chlorofilo ir karotenoidų molekulių) ir baltymų. Dėl skirtingos sandaros ir atliekamos funkcijos yra išskiriamos dvi fotosistemų rūšys: FSI ir FSII, jas nesunkiai galima atskirti pagal sugerties maksimumo vietą regimajame diapazone. FSI maksimumas yra ties 700 nm, tuo tarpu FSII – 680 nm. Nuo šviesos priklausančios reakcijos prasideda FSII, kur fotono energija panaudojama elektronui sužadinti bei gauto molekulinio sužadimo pernašai į reakcijų centrą, kuriame ši energija panaudojama krūviams atskirti. Išlaisvintas elektronas iš FSII yra perduodamas į *elektrono pernašos grandinę*, kuri suka mechanizmą, „pumpuojantį“ vandenilio jonus iš stromos į tilakoido vidų tam, kad sudarytas protonų gradientas per membraną vėliau būtų panaudotas ATP sintezei. Ši grandinė pasibaigia ties FSI, kur vėl sugerta fotono energija sužadina elektroną



1 pav. Nuo šviesos priklausančios reakcijos vykstančios tilakoido membranoje. Šviesos sugertis įvyksta fotosistemoje I ir fotosistemoje II, čia taip pat atskiriami elektronai, kurie vėliau pernešami ir panaudojami NADPH ir ATP sintezei. Paveikslėlio šaltinis *Croce et al* [7]

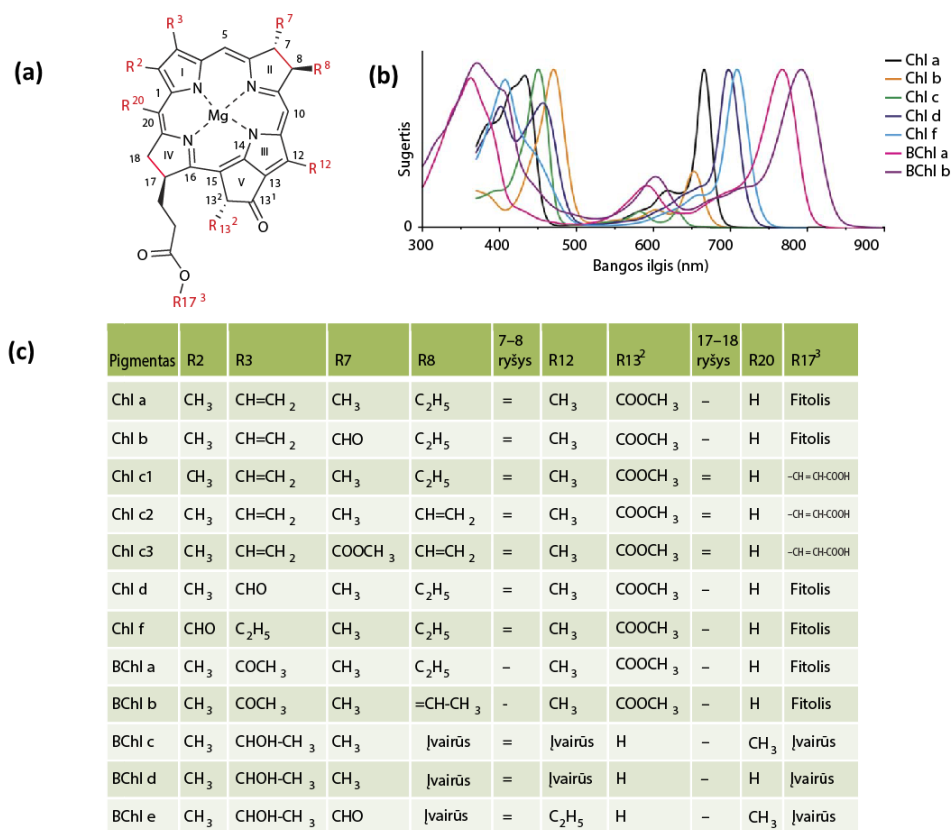
į aukštesnės energijos būseną. Iš čia jis patenka į kitą pernašos grandinę, kuri redukuoja  $\text{NADP}^+$  į NADPH ir užbaigia nuo šviesos priklausančias reakcijas.

## 1.2 FSII sandara

FS sudarantys pigmentai dėl savo struktūros ir dėl skirtingų prisikabinusių angliavandenilio grupių prie fotoaktyvacinės molekulės dalies (2a ir 2c pav.) yra jautrūs įvairių bangos ilgių šviesai. Kaip matyti iš 2b pav., regimajame diapazone chlorofilo molekulės gali sugerti visų bangos ilgių šviesą, išskyrus, žalią, todėl natūrali šviesa gali lengvai sužadinti elektroną. Keli tokie pigmentai kartu su jungiamaisiais baltymais tarpusavyje formuoja didesnius monomericinius junginius – kompleksus. Apie 50% visų kompleksų yra sudaryti iš 8 chlorofilo *a* (Chl *a*) ir 6 chlorofilo *b* (Chl *b*) molekulių, tačiau pagal atliekamą funkciją FS šių pigmentų-baltymų santykis ar pigmentų tipas gali kisti. Pavyzdžiui, FSII *reakcijų centras* (RC) yra toks kompleksas, kuris susideda iš 6 Chl *a* ir 2 feofitino<sup>3</sup> *a* (Phe *a*) molekulių, juose taip pat yra žymiai daugiau rišančiųjų baltymų [7]. RC pagrindinis uždavinys yra krūvio atskyrimas – tai įvyksta sužadinus RC esantį chlorofilą, ir pastarajam oksiduojantis. Tuomet elektronas yra greitai perduodamas feofitinui, o šis elektroną jau perduoda iš FSII į anksčiau minėtą elektrono pernašos grandinę. Tačiau dėl mažo pigmentų skaičiaus RC tiesioginio sužadinimo tikimybė yra santykinai maža, todėl pavienis RC didžiąją laiko dalį būtų neaktyvus, ir greičiausiai fotosintezė išvis nevyktų. Dėl šios priežasties RC yra apsuptas anteninių kompleksų (CP43 ir CP47)<sup>4</sup>, kurie turi gerokai didesnę pigmentų skaičių: kelis  $\beta$ -karotenus ir po 13 ar 16 Chl *a* molekulių, atitinkamai, todėl

<sup>3</sup>Feofitinas yra cheminis junginys, kuris savo sudėtimi panašus į chlorofilą, tačiau jam trūksta centrinio Mg atomo. Fotosintezės procese jis dalyvauja kaip pirminis elektrono nešėjas elektrono pernašos kelyje.

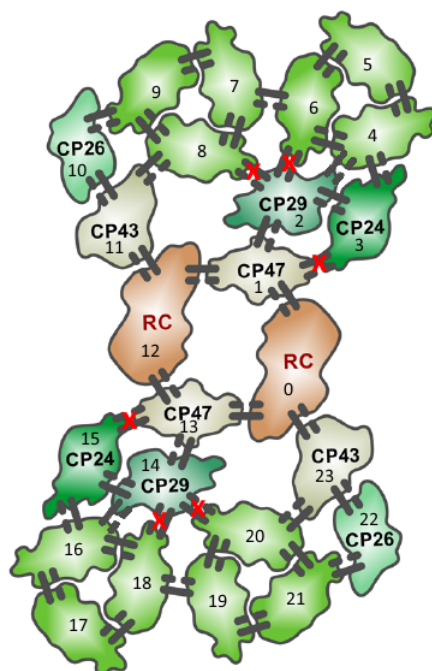
<sup>4</sup>CP43 ir CP47 anteninių kompleksų pavadinimas kilo nuo jų molekulinės sudėties, chlorofilo ir baltymo (angl. protein), kurio molekulinė masė atitinkamai 43 ir 47 kDa [8].



2 pav. (a) Bendroji chlorofilo molekulės struktūra. (b) Įvairių chlorofilo ir bakteriochlorofilo molekulių sugerties spektrai. (c) Lentelėje pateikti įvairūs galimi pakeitimai prie išorinių jungčių. Paveikslėlio šaltinis *Croce et al* [7]

juose šviesos sugerties tikimybė yra didesnė. Anteninių kompleksų uždavinys yra pernešti energiją į RC, taip užtikrinant nuolatinę jo veiką. Šie kompleksai kartu su RC sudaro branduolį. Kadangi FSII yra dimerinis junginys, todėl joje yra du branduoliai.

Esant mažam šviesos intensyvumui FSII branduolio sugertis yra vis tiek per maža. Kad fotosintezė veiktų įvairiomis sąlygomis, reikia arba didinti branduolių skaičių, arba didinti pačios antenos dydį. Kadangi be pigmentų RC gaminamas iš daugybės „brangių“ baltymų, tai evoliucijos požiūriu pirmasis variantas yra neoptimalus. Tuo tarpu anteniniai kompleksai „kainuoja“ žymiai mažiau, todėl šį variantą augaluose dabar ir matome. Arčiausiai branduolio jungiasi monomeriniai kompleksai CP24 (5 Chl *a* ir 5 Chl *b*), CP26 (6 Chl *a* ir 3 Chl *b*) ir CP29 (6 Chl *a* ir 2 Chl *b*), tuo tarpu toliau prisijungia jau minėti kompleksai iš 8 Chl *a* ir 5 Chl *b* molekulių, kurie tarpusavy formuoja stipriai (S) ir vidutiniškai (M) surištus trimerus. Labiau nei kiti kompleksai šie trimerai yra atsakingi už fotonų sugertį FSII, todėl jie dar vadinami *šviesą surenkančiais kompleksais* (LHCII). Remiantis elektroninio mikroskopo matavimais FSII turi keturis LHCII trimerus [9]. Schematinė FSII struktūra pateikta 3 pav. Tačiau iš tilakoido membranos stochiometrinių tyrimų matoma, kad vienam FSII branduoliui apytiksliai tenka 5 LHCII trimerai, tad per visą FSII iš viso jų yra 10 [10]. Tikėtina, kad papildomi 6 trimerai formuoja naują fotosintetinę anteną ir yra kažkaip sujungti su FSII. Esant dideliame šviesos



3 pav. Elektroninio mikroskopo matavimus atitinkanti schematinė FSII struktūra, dar kitaip vadinama B11. LHCII trimerai yra pavaizduoti šviesiai žaliai, o juodi brūkšneliai ir raudoni „x“ simbolizuoja veikiančius ir neveikiančius energijos pernešimo kanalus pagal *Caffarri et al* [11]. Skaičiais nuo 0 iki 23 pažymėta kompleksų numeravimo tvarka. Paveikslėlio šaltinis *Chmeliov et al* [12].

intensyvumui jie gali atitrūkti nuo FSII, taip apsaugodami RC nuo fotooksidacijos, o esant mažam – vėl prisijungti. Atsijungti ir prisijungti taip pat gali ir daugiau anteninių kompleksų, tad tokiu būdu fotosintezė yra optimizuojama bet kokioms aplinkos sąlygoms, tačiau vis dar yra nežinoma, koku būdu tai yra kontroliuojama.

### 1.3 Energijos pernašos modeliai

Fotosintezės našumas smarkiai priklauso nuo energijos pernašos FSII. Daug skirtingų priežasčių gali nulemti efektingą sužadavimo pernašos spartą iš anteninių kompleksų į RC: tiek FSII geometrija, tiek fotosintetinės antenos dydis, todėl iki šiol šis mechanizmas nėra gerai suprantamas ir skirtingų mokslininkų grupių aiškinamas nevienodai. Vis dėlto, kad geriau suprastume, į ką reikia atkreipti dėmesį, prieš pristatydami šiame darbe pateikiamą modelį, apžvelgsime šiuo metu mokslininkų siūlomus modelius.

Vienas pirmųjų energijos pernašos modelių aiškinantis pikosekundžių eilės fluorescencijos eksperimentus yra ERPE – sužadimų ir radikaliųjų porų pusiausvyros modelis (angl. exciton–radical pair equilibrium). Jame laikoma, kad pirminio sužadinto elektrono energija akimirksniu persiskirsto per visą FSII, tokiu būdu sužadavimo gesimo sparta priklauso tik nuo RC krūvio atskyrimo spartos ir energijų skirtumo tarp termodinamiškai pusiausvyros sužadintos fotosintetinės antenos ir RC pirmojo energetinio lygmens [13, 14]. Esant mažam šviesos intensyvumui šis modelis geba puikiai ap-



rašyti eksperimentuose matomą sužadavimo dinamiką, tačiau to paties negalima pasakyti apie kitus eksperimentus, kuriuose buvo naudojama intensyvesnė šviesa. Eksitono-eksitono anihiliacijos LHCI trimeryuose tyrimai parodė, kad logaritminiame mastelyje yra beveik tiesinė fluorescencijos intensyvumo priklausomybė nuo žadinimo intensyvumo [15], tuo tarpu EP modelio kinetikos yra invariantinės šviesos intensyvumui [16].

Atsiradus pirmosioms fotosistemų elektroninio mikroskopo nuotraukoms [17], ERPE modelis buvo patikslintas atsižvelgiant į FSII struktūrą ir anteninių kompleksų tarpusavio išsidėstymą aplink RC – schematinė diagrama pateikta 3 pav. Tokiu būdu buvo sukurtas stambiagrūdis (SG) modelis, kuriame sužadavimo pusiausvirinimas įvyksta tik konkrečiame anteniniame komplekse, taip pat įvedamas naujas parametras  $\tau_h$ , apibūdinantis vidutinę sužadavimo pernašos spartą tarp dviejų sujungtų kompleksų. Šiame modelyje sužadavimo migracija nuo komplekso ant komplekso judant link RC suteikia sistemai daugiau dinamiškumo, taip pat priklausomybę nuo fotosintetinės antenos dydžio. Jei pradinis sužadavimas sugeneruojamas toli nuo RC, tai vidutinis sužadintos būsenos gesimo laikas yra ilgesnis nei tiesiogiai žadinant RC – tai pastebima analogiškuose eksperimentuose [11, 18].

FSII fluorescencijos gesimas pasižymi daugiaekspONENTINE kinetika ir yra matoma beveik visuose bandiniuose nepriklausomai nuo to, koks fotosintetinės antenos dydis. Jei krūvio atskyrimas yra negrįžtamas procesas, tai abu minėti modeliai nusako tik monoekspONENTINĮ gesimą, todėl tiek ERPE, tiek SG modeliuose papildomai atsižvelgiama į sužadavimo pusiausvirinimą RC. Taip pat norint paaiškinti stebimus eksperimentinius rezultatus būtina tarti, kad krūvio atskyrimo sparta yra atvirkščiai proporcinga antenos dydžiui, o taip įmanoma tik tuomet, jei sumažėjus antenos dydžiui atsiranda struktūriniai pakitimai RC [9, 11]. Tačiau nauji FSII rentgeno tyrimai rodo, kad branduolyje atstumas tarp RC ir CP43 ir CP47 kompleksų yra gan didelis [19], todėl sužadavimo pusiausvirinimas yra mažai tikėtinas. Tokiu atveju abu modeliai vis dar negali paaiškinti matomo daugiaekspONENTIŠKO fluorescencijos gesimo.

Akivaizdu, kad toks aprašymas stokoja reikiamo dinamiškumo, tačiau tai galima ištaisyti įvedus FSII struktūros ar ją nusakančių parametų tikimybinį aprašymą. Šiuo atveju statistinis vidurkinimas per daugelį atsitiktinai sugeneruotų sistemų gali išgauti trokštamą neekspONENTIŠKUMĄ. *Chmeliov et al* straipsnyje pristatomas difuzinis sužadavimo pernašos modelinis būtent tai padaro [12]. Priešingai nei ankstesniuose minėtuose modeliuose, šis modelis sugeba puikiai atkartoti sudėtingą daugiaekspONENTINĮ fluorescencijos gesimą naudodamas paprastą sužadavimo difuziją tolydžioje aplinkoje su fliktuojančią pernaša tarp dviejų kompleksų. Toks sistemos elgesys gali atsirasti kintant vidinei komplekso struktūrai, ir iš tiesų, panašūs pokyčiai yra stebimi LHCI kintant aplinkos sąlygoms [20]. Tačiau panašių rezultatų galima tikėtis sistemoje įvedus atsitiktinumą ir kitaip. Šiame darbe SG modelį papildėme fliktuojančiais ryšiais ir atsitiktinėmis gaudyklėmis, ir parodėme, kad ir tokiu būdu galima gauti puikų eksperimento aprašymą.

## 2 Stochastinis stambiagrūdis modelis

Aiškindami fluorescencijos gesimą FSII, mes taip pat rėmėmės stambiagrūdžiu modeliu, kurį trumpai minėjome ankstesniame skyriuje. Kadangi buvo įrodyta, kad krūvio atskyrimas yra negrįžtamas procesas [9, 19], tai būtina atsižvelgti į fluktuojančius parametrus, antraip modelis negalėtų paaiškinti matomo fluorescencijos daugiaeksponentinio gesimo. Šiame skyriuje paaiškinsime, kodėl ir kokie efektai tapo jame įskaityti, o taip pat parodysime sistemos dinamiką aprašančią pagrindinę kinetinę lygtį.

### 2.1 Pernašos mechanizmai. Nefotocheminis gesinimas

Visų pirma, nagrinėdami sužadimą FSII laikėme, kad fotono energija yra sugerama tik Chl *a* arba Phe *a* molekulių, į likusius pigmentus čia yra neatsižvelgiama, kadangi iš jų sužadimas greitai perduodamas (maždaug per 1 ps) Chl *a* molekulems. Taip pat neatsižvelgiame ir į molekulių orientaciją ir padėtį komplekse ir pačioje FSII. Tokiu atveju kalbėdami apie kiekvieno komplekso sužadimo tikimybę turime atsižvelgti tik į jame esančių Chl *a* molekulių skaičių, o jei tai RC, taip pat ir į Phe *a*.

Kaip minėjome 1.3 skyriuje, SG modelyje yra daroma prielaida, kad po pradinio sužadimo energija staigiai persiskirsto visame komplekse, nesvarbu ar tai RC kompleksas, ar vienas iš antenių kompleksų. Toks elgesys aiškinamas per sužadimo energijos persiskirstymą pagal Bolcmano pasiskirstymą tarp atskirų molekulių, tai patvirtina atitinkami matavimų rezultatai [13]. Tačiau šis pusiausvirinimas nevyksta per visą gardelę, kadangi skirtingi kompleksai vienas nuo kito yra atskirti baltymais, taigi sužadimas iš karto negali pasiekti RC, jei buvo sužadintas kur nors fotosintetinėje antenoje. Dėl šios priežasties sužadimas turi išlikti pakankamai ilgai tam, kad kompleksai suspėtų jį pernešti iki RC. Remiantis atskirų Chl *a* molekulių fluorescencija, sužadimo disipacijos trukmė  $\tau_{\text{dis}}$  yra apie 4 ns, nors ši trukmė gali būti didesnė arba mažesnė priklausomai nuo sąveikos su aplinka [21]. Tad akivaizdu, kad pernašos trukmė turi būti dešimčių ps eilės, norint užtikrinti fotosintezės efektyvumą.

Mechanizmas nusakantis sužadimo energijos pernaša tarp silpnai sąveikaujančių atskirų pigmentų yra vadinamas *Försterio*<sup>5</sup> *rezonansine energijos pernaša* (FREP) [22]. FREP remiasi elektrinio dipolio-dipolio sąveika tarp dviejų chromoforų. Kai sąveikos spindulys yra mažesnis už spinduliuojamos bangos ilgį, tai donorinio pigmento išspinduliuotas virtualus fotonas iškart yra sugeriamas akceptorius. Kadangi virtualūs fotonai yra nestebimi, tai FREP yra nespindulinis mechanizmas. Pernašos sparta nusakoma *Försterio lygtimi*, kuri dviem sąveikaujančios Chl *a* molekulems atrodo taip:

$$\tau_h^{-1} = \frac{9\kappa^2 c^4}{8\pi \tau_{\text{Fr}} n^4 R^6} \int F_{\text{Chl}}(\omega) \sigma_{\text{Chl}}(\omega) \frac{d\omega}{\omega^4}. \quad (1)$$

Čia  $\kappa \in [0; 2]$  yra daugiklis, nusakantis molekulių tarpusavio orientaciją;  $c$  – šviesos greitis;  $\tau_{\text{Fr}}$  –

---

<sup>5</sup>1946 metais sužadimo energijos pernašos teorinį aprašymą pirmą kartą užrašė vokiečių fizikas-chemikas Teodoras Försteris.

efektinė sužadavimo gyvavimo trukmė (išreiškama per disipacijos trukmę ir kvantinį našumą  $\eta = \tau_{\text{dis}}/\tau_{\text{Fr}}$ );  $n$  – terpės lūžio rodiklis imamas ties bangos ilgiu atitinkančiu vidutinę pernašos energiją;  $R$  yra atstumas tarp šių molekulių. Integralas nusako donorinės molekulės fluorescencijos spektro  $F_{\text{Chl}}(\omega)$  ir akceptorinės molekulės sugerties spektro  $\sigma_{\text{Chl}}(\omega)$  sanklotą;  $\omega$  yra optinis dažnis.

Kaip matome, FREP sparta yra atvirkščiai proporcinga šeštam atstumo laipsniui, todėl pernašos efektyvumas yra labai jautrus net mažiausiems atstumo pokyčiams. Patogumo dėlei yra įvedamas kritinio atstumo parametras  $R_0$  (dar vadinamas Försterio atstumu), kuris nusako atstumą tarp molekulių kuomet energijos pernašos efektyvumas sumažėja 50%. Jei neatsižvelgiame į molekulių orientaciją, tuomet galime supaprastinti Försterio lygtį iki

$$\tau_{\text{h}}^{-1} = \tau_{\text{Fr}}^{-1} \left( \frac{R_0}{R} \right)^6. \quad (2)$$

Taigi akivaizdu, kad sužadavimo energijos pernašos sparta labiausiai priklauso nuo molekulių tarpusavio atstumo.

Kad fotosintezė būtų naši, yra būtina greita sužadavimo pernaša į RC, kitaip sistema tik fluorescuos. Kita vertus, tai reiškia, kad esant stipriam apšvietimui vienu metu antenoje gali susikaupti per daug sužadimų, kurių RC nespėjo panaudoti krūviams atskirti, dėl ko gali įvykti fotooksidacija. Esant per dideliu sužadimui gali susiformuoti singuletinių būsenų deguonies molekulės, kurios suformuoja stabilius, bet žalingus junginius. Evoliuciškai tai lėmė įvairių apsaugojimo mechanizmų išsivystymą, antai RC savyje turi karotenoidų, kurie neutralizuoja singuletinį deguonį prisijungdami jį prie savęs [23]. LHCII kompleksuose esantys karotenoidai taip pat tai sugeba, tačiau juose yra ir kitas apsaugojimo mechanizmas – *nefotocheminis gesinimas* (NPQ). NPQ yra sužadavimo relaksacijos kanalas per šiluminės energijos išsiskyrimą. Tai yra prevencinis mechanizmas išskleidantis sužadimą dar iki žalingų junginių susiformavimo, ir nors tikslus mechanizmas nėra žinomas, tačiau yra įvardinami keli galimi variantai, vienas iš jų yra ksantofilų (angl. xanthophylls) ciklas.

Ksantofilai yra grupė geltonų karotenoidų, kurie turi prisikabinę deguonies molekulę prie išorinio benzeno žiedo. Esant dideliu šviesos intensyvumui anteniniuose kompleksuose dalis ksantofilų (violaksantinas) virsta kitos rūšies ksantofilais (zeaksantinu), o esant mažam šviesos intensyvumui reakcija apsigręžia. Pastarųjų ksantofilų energetiniai lygmenys yra pasislinkę žemiau už chlorofilo molekulių energetinius lygmenis, todėl sužadimas pagal Bolcmano pasiskirstymą persiskirsto tarp šių molekulių. Zeaksantine esantis sužadimas per virpesines modas virsta šiluma, tokiu būdu sužadimas užgesinamas. Ksantofilų ciklo cheminės reakcijos yra labai lėtos lyginant su sužadavimo gesimu, kadangi visiems ksantofilams sureaguoti gali užtrukti net pusvalandį [5, 23], todėl taikydami šį mechanizmą laikome, kad vienoje fotosistemoje NPQ vyksta tik konkrečiuose kompleksuose. Šie kompleksai dar vadinami *gaudyklėmis*, kadangi sužadavimo gesinimo sparta yra žymiai didesnė nei Försterio pernaša iš šio komplekso [24], tad faktiškai sužadimas nespėja palikti komplekso.

Kitas galimas NPQ mechanizmas gali egzistuoti *luteino* karotenoido dėka. Pavienių LHCII matavimai parodė, jog tas pats LHCII kompleksas esant pastoviam apšvietimui kartais nustoja fluorescuoti,

taigi greičiausiai susidaro jo baltymo kitokia konformacinė būseną, kurioje nežymiai pasikeičia pigmentų tarpusavio išsidėstymas ir/ar jų energijos, dėl ko atsirado naujas kanalas sužaditimui gesinti – susidaro NPQ gaudyklė [25, 26]. Šiuos rezultatus paaiškinti sunkiau ksantofilų ciklu, dėl to ir buvo pasiūlytas kitas mechanizmas priklausantis nuo luteino ir Chl *a* molekulių sąveikos. Dėl pasikeitusios aplinkos, arba dėl pamažėjusio atstumo tarp luteino ir Chl *a* molekulių gali pasikeisti luteino spektrinės savybės arba tiesiog pažemėti sužadinto lygmens energija. Jei prieš pokyčius jis buvo aukščiau už Chl *a* molekulės sužadintą būseną, tai po – jis yra žemiau, todėl sužadintimas relaksuoja ant luteino. Toliau sužadintimo gesinimo kanalas yra tas pats kaip ir ksantofilų cikle.

## 2.2 Pagrindinė kinetinė lygtis

Šiame darbe pristatomą stambiagrūdį modelį galima užrašyti analogiškėmis kinetinėmis lygtimis, kurios yra užrašytos *Valkūnas et al* [27] straipsnyje. Jas modifikavome pagal *Caffarri et al* [11] rekomendacijas, kadangi buvo nuspręsta sužadintimo pernašos spartą padaryti proporcingą Chl *a* molekulių skaičiui kiekviename komplekse. Tokiu būdu tarp dviejų kompleksų su nevienodu molekulių skaičiumi pernaša yra netolygi, ir sužadintimas kaupiasi didesniame komplekse. Iš tiesų, tai grindžiama per tikimybę, kad sužadintimas bus ant konkrečios molekulės. Didesniame komplekse ši tikimybė yra mažesnė, todėl konkretaus šuolio tikimybė irgi bus mažesnė. Iš FSII perspektyvos tai reiškia, kad sužadintimas kaupsis ant branduolio anteninių kompleksų, nes juose yra didžiausias Chl *a* molekulių skaičius, o iš čia lieka tik vienas šuolis į RC. Taigi yra sukuriamas sužadintimo pernašos gradientas link branduolio, o tai užtikrina efektyvų RC darbą.

Bendru atveju sužadintimo dinamiką FSII aprašo pagrindinė kinetinė lygtis atrodanti taip:

$$\dot{P}(t) = \hat{T}P(t) \quad (3)$$

Čia  $P(t)$  yra vektorius-stulpelis, nusakantis kiekvieno komplekso sužadintimą laiko momentu  $t$ .  $\hat{T} \equiv T_{ij}$  yra pernašos matrica, kuri nusakoma per kaimynų matricos sandaugą su pernašos sparta. Pernašos matricos nenuliniai elementai, kurie atitinka sužadintimo energijos pernašą tarp gretimų kompleksų sujungtų brūkšneliais 5 pav., yra apibrėžiami taip:

$$T_{ij} = \begin{cases} (n_j \tau_h)^{-1}, & i \neq j; \\ -\sum_{k(\neq i)} T_{ki} - \tau_{CS}^{-1} (\delta_{i,0} + \delta_{i,12}) - \tau_{dis}^{-1} - \tau_{NPQ}^{-1} \delta_{i,NPQ}, & i = j. \end{cases} \quad (4)$$

Nediagonalūs matricos elementai reiškia sužadintimo pernašą iš  $j$ -tojo komplekso į  $i$ -tąjį kompleksą su sparta, tiesiog proporcinga Chl *a* molekulių skaičiui  $j$ -tajame komplekse ( $n_j$ ). Tuo tarpu diagonalūs elementai nusako sužadintimo gesimą  $i$ -tajame komplekse dėl įvairių relaksacijos kanalų.  $\tau_{CS}^{-1}$  ir  $\tau_{NPQ}^{-1}$  yra krūvio atskyrimo ir nefotocheminio gesinimo kanalų spartos, atitinkamai. Kadangi šie procesai vyksta tik konkrečiuose kompleksuose (krūvio atskyrimas – kompleksuose, kurių numeriai yra 0 ir 12 remiantis 3 pav., o NPQ – atsitiktinai pasirinktuose kompleksuose), lygtyje tai išreiškiamė *delta*

funkcija. Čia  $\tau_h^{-1}$  sužadavimo pernašos sparta, kuri pernormuota vienai Chl *a* molekule, tad norint sužinoti tikrąją vertę reikia padauginti iš Chl *a* molekulių skaičiaus tame komplekse. Galiausiai  $\tau_{dis}^{-1}$  yra tiesiog sužadavimo relaksacijos sparta.

Šiame modelyje mūsų atliktas pakitimas yra fliktuojančių parametrų įvedimas – vienas iš pagrindinių yra ryšio stiprumas  $\gamma$ . Remdamiesi Försterio pernaša ir jos jautrumu šeštam atstumo laipsniui ((2) lygtis) mes darome prielaidą, kad tarp visų sujungtų kompleksų ryšio stiprumas nėra vienodas dydis. Dėl šiluminio molekulių judėjimo tarpmolekulinis atstumas kinta<sup>6</sup>, todėl  $\gamma$  gali būti įvairaus didumo. Čia mes laikome, kad jis gali turėti tik vieną iš dviejų verčių: arba maksimaliai stiprią  $\gamma = 1$  arba tam tikrą tarpinę vertę  $\gamma = \gamma_0$  iš intervalo  $\gamma_0 \in (0, 1)$  – ši tarpinė padėtis yra modelio laisvas parametras, kurį dar reikia surasti. Kadangi šiluminis judėjimas yra stochastinis procesas, tai ryšio stiprumas gali pasikeisti tarp bet kurių dviejų kompleksų. Dėl šios priežasties logiška įvesti naują parametru  $p_\gamma$ , kuris nusako tikimybę, kad ryšio stiprumas bus maksimalus. Su šia tikimybe atsitiktinai parenkame kiekvieno ryšio stiprumą:

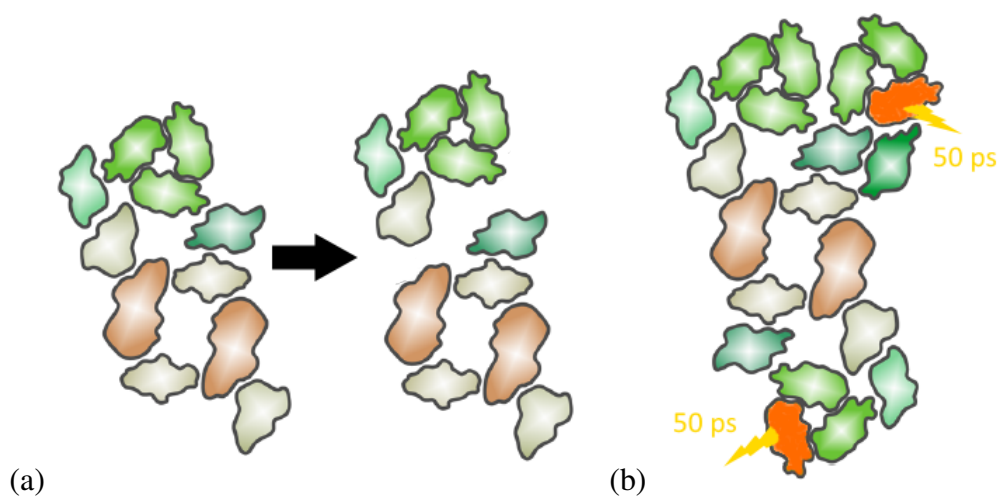
$$\gamma = \begin{cases} 1, & x \leq p_\gamma; \\ \gamma_0, & x > p_\gamma, \end{cases} \quad (5)$$

čia  $x \in (0, 1)$  yra atsitiktinis dydis generuojamas kiekvienam ryšiui atskirai – vienos iteracijos metu jis išlieka pastovus. Tokiu būdu mes pernormuojame energijos pernašos spartą tarp dviejų kompleksų  $\tau_h^{-1} \rightarrow \tau_h^{-1}\gamma$  – rezultate sparta gali smarkiai sulėtėti.

Galimos šio reiškimo pasekmės yra pavienių kompleksų susiformavimas. Kadangi bet kuris kompleksas yra vidutiniškai susijungęs su trimis kitais kompleksais, yra nenulinė tikimybė, kad visos šios jungtys bus silpnos. Jei  $\gamma_0 \approx 0$ , tai tokį kompleksą galima laikyti visiškai atskirtu nuo kitų, tuomet jame esantis sužadavimas tiesiog gęsta su lėta  $\tau_{dis}^{-1}$  sparta. Iš tiesų, fluorescencijos eksperimentuose yra matomas lėtas eksponentinis sužadavimo gesimas ns skalėje [11], kuris sudaro vos kelis procentus viso sužadavimo, tad tai galėtų būti paaiškinama šių pavienių kompleksų susiformavimu. Tačiau tai yra tikimybinis reiškinys, ne visada pasireiškiantis, kai tuo tarpu akivaizdu, kad bandiniai nėra 100% tyri, todėl jie savyje gali turėti nuolatinių pavienių kompleksų ar net laisvų chlorofilų esančių už FSII ribų. Dėl šios priežasties mes nusprendėme atsižvelgti į papildomų pavienių kompleksų egzistavimą, ir todėl į modelį įvedėme jų koncentraciją nusakantį parametru *A*. Šiuose kompleksuose esantis sužadavimas gali tik relaksuoti ir tik su ta pačia  $\tau_{dis}^{-1}$  sparta, taigi be atsitiktinių pavienių kompleksų taip pat yra tam tikras skaičius kompleksų, kurie prideda lėtą eksponentinį sužadavimo gesimą.

Išsijunginėjantys ryšiai taip pat gali atkirsti ir didesnę kompleksų skaičių. Atsižvelgiant į tai, kad anteniniai kompleksai yra prijungti tik keliais ryšiais prie branduolio (3 pav.), tokia situacija yra labai tikėtina. 4a pav. pateikėme, kaip tai turėtų atrodyti. Tokiu atveju modelis aprašo fliktuojančio ilgio anteną, kuri greičiausiai ir padeda kovoti su skirtingomis apšvietimo sąlygomis. Vietoj sudėtingų

<sup>6</sup>Verta paminėti, kad šiluminis judėjimas yra daug kartų lėtesnis už sužadavimo relaksaciją, tad fluorescencija vyksta esant pastoviam kompleksų išsidėstymui.

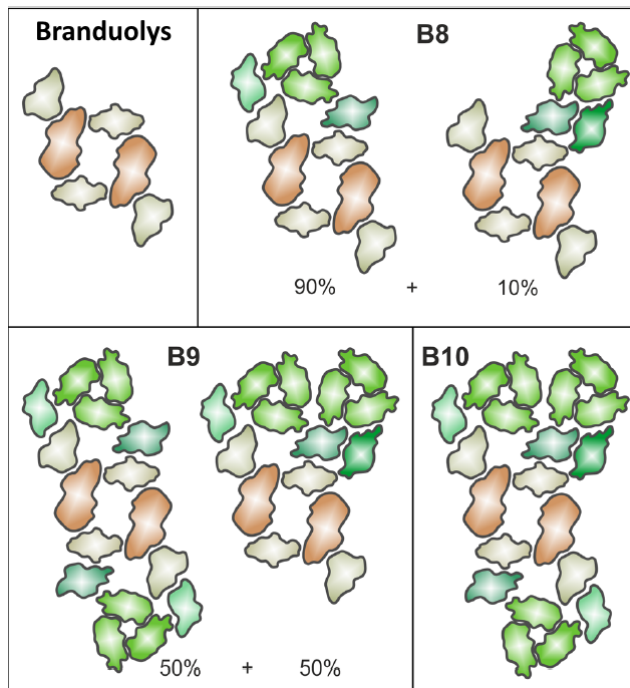


4 pav. (a) Atsitiktinai atsijungusi fotosintetinė antena. Dėl aiškumo kompleksų atotrūkis pavaizduotas žymiai didesnis nei yra iš tikrųjų. (b) Dvi NPQ gaudyklės (oranžiniai kompleksai) fotosintetinėje antenoje. Į jas patekęs sužadinimas yra išsklaidomas per 50 ps

mechanizmų kontroliuojančių fotosintetinės antenos dydį, tereikia atsižvelgti į šiluminį kompleksų judėjimą ir sistema automatiškai susidoroja su per dideliu sužadinimu ir fotooksidacijos pavojumi RC. Taigi galbūt savireguliacijos mechanizmas yra grynai stochastinis procesas.

Kitas šio modelio tikimybinis mechanizmas yra NPQ principu veikiančių kompleksų susiformavimas (4b pav.). Remdamiesi šio proceso aprašu, kurį pateikėme 2.1 skyriuje, darėme prielaidą, kad gaudyklės susiformuoja tik tai LHCII trimeruose. Sužadinimo gesimo trukmę pasirinkome lygią  $\tau_{\text{NPQ}} = 50 \text{ ps}$  [24]. Tuo tarpu sužadinimo pabėgimo iš gaudyklės sparta yra praktiškai lygi nuliui, nes pagal Bolcmano pasiskirstymą beveik visas sužadinimas yra susikaupęs ant žemesnės energijos karotenoido (luteino ar zeaksantino), o iš jo sužadinimas praktiškai gali tik disipuoti kaip šiluma [5, 25, 26]. Tad sužadinimas atgal į sistemą nebesugrįžta. Kuriame LHCII monomere vyks nefotocheminis gesinimas, mūsų modelyje yra apsprendžiama parametro  $p_{\text{NPQ}}$  – tai yra tikimybė, kad atitinkamas kompleksas elgsis kaip gaudyklė. Tokį metodą galima taikyti, kadangi baltymo konformacija pokyčiai, nusakantys NPQ atsiradimą, yra itin lėtas procesas, todėl gaudyklių skaičius nespėja pakisti per vieno sužadinimo relaksaciją. Priklausomai nuo šios tikimybės fotosintetinėje antenoje vienu metu gali atsirasti net kelios veikiančios gaudyklės, taigi net atskyrus anteną nuo branduolio sužadinimui išlieka efektyvus disipacinis kanalas, kuris apsaugo kitus anteninius kompleksus nuo fotooksidacijos pavojaus. Kita vertus, esant mažam intensyvumui NPQ susidarymas, priešingai, gali pakenkti RC darbui išsklaidydamas sužadinimą ir sumažindamas bendrą fotosintezės efektyvumą.

Kartu paėmus šie du mechanizmai ne tik turėtų apsaugoti fotosintetinę anteną ir RC nuo fotooksidacijos, bet ir suteikti FSII dinamiškumo prisitaikyti prie aplinkos sąlygų, o mūsų modeliui trūkstamo daugia-eksponentiškumo.



5 pav. Skirtingų antenos dydžių struktūrinės fotosistemų schemas. Virš paveikslėlių yra užrašyti jų sutartiniai pavadinimai

### 2.3 Modelio taikymas

Šiame darbe naudoti eksperimentiniai duomenis buvo paimti iš *Caffarri et al* straipsnio [11], ten jų bandiniai buvo ruošiami tirpinant ir skaidant *Arabidopsis* augalo tilakoidines membranas, nuo jų atskiriant FSII. Eksperimentui buvo atrinktos dvi grupės bandinių su dviem skirtingomis detergento  $\alpha$ -dodecilmaltosido ( $\alpha$ -DM) koncentracijomis – 0,01% ir 0,001%. Kiekvienoje iš jų buvo 5 skirtingų dydžių fotosintetinės antenos, jos schematiškai atvaizduotos 3 ir 5 pav. Toliau su šiais bandiniais buvo atliktas laikinės koreliacijos pavienių fotonų skaičiavimo eksperimentas, matuojama fluorescencija, tokiu būdu buvo gautos fluorescencijos gesimo kreivės. Vėliau eksperimentas buvo pakartotas du kartus, bet rezultatai buvo beveik identiški, o esminiai skirtumai pasireiškė tik dėl pačių bandinių paruošimo ir skirtingų antenų dydžio.

Kadangi mūsų modelyje yra du tikimybiniai mechanizmai, tai egzistuoja daugybė skirtingų kombinacijų ryšio stiprumo ir gaudyklių vietų ir jų skaičiaus fotosintetinėje antenoje. Kiekviena iš jų duoda atitinkamai skirtingas sužadinimo gesimo kinetikas, todėl akivaizdu, kad naudojant vieną atsitiktinę FSII gero eksperimento aprašymo nebus. Dėl šios priežasties būtina atlikti daug modelio iteracijų, kol suvidurkinta sužadinimo dinamikos kreivė nusistovės. Mūsų atveju toks elgesys pasireiškė po mažiausiai 1500 iteracijų.

Modelyje ir eksperimentuose gaunamas kinetikas lyginome pasitelkę mažiausių kvadratų metodą, tačiau vietoj paprastų skirtumų dėjome logaritminius skirtumus, kad gerai apsirašytų ne tik patį pradžia, kur toks metodas būtų jautresnis dėl daug ir greitai gęstančio sužadinimo, bet ir asimptotika, kur lėtai gęsta mažai sužadinimo. Modelio kinetikas generavome keisdami 7 parametrus:

$\tau_h$ ,  $\tau_{CS}$ ,  $\tau_{dis}$ ,  $p_\gamma$ ,  $\gamma$ ,  $p_{NPQ}$ ,  $A$ . Šie parametrai yra apriboti, tai reiškia, kad jie gali turėti bet kokias vertes iš tam tikro intervalo. Kuo šis intervalas yra siauresnis, tuo mažesnė parametru erdvė ir tuo mažiau yra galimų sprendinių. Tačiau, jei šioje erdvėje egzistuoja sprendinys, tai jis bus teisingas, nes tenkins visus mūsų apribojimus, kuriuos parinkome remdamiesi įvairių eksperimentų rezultatais [4,11,21,24].

Aprašinėdami kinetikas mes pradėjome nuo mažiausios sistemos, tai yra branduolio. Suradę parametrus, atitinkančius geriausių sutapimą su eksperimentu, įsidėmėjome sužadavimo pernašos spartą  $\tau_h^{-1}$  ir modeliuodami kitas sistemas tarp branduolio kompleksų laikėme ją pastovia, o likusioje antenoje naudojome kitą  $\tau_h$  vertę. Su kitais parametrais taip nesiėlgėme, leidome jiems kisti pasirinktų verčių intervale. Tad šiame modelyje tik pernaša branduolyje automatiškai nepriklauso nuo antenos dydžio, o bet kurių kitų parametru pastovumas gali kilti tik iš pačios sistemos savybių.

Kitame skyriuje parodysime, kaip mums sekėsi aprašyti eksperimentuose matomas sužadavimo dinamikos kreives.



### 3 Rezultatai ir jų aptarimas

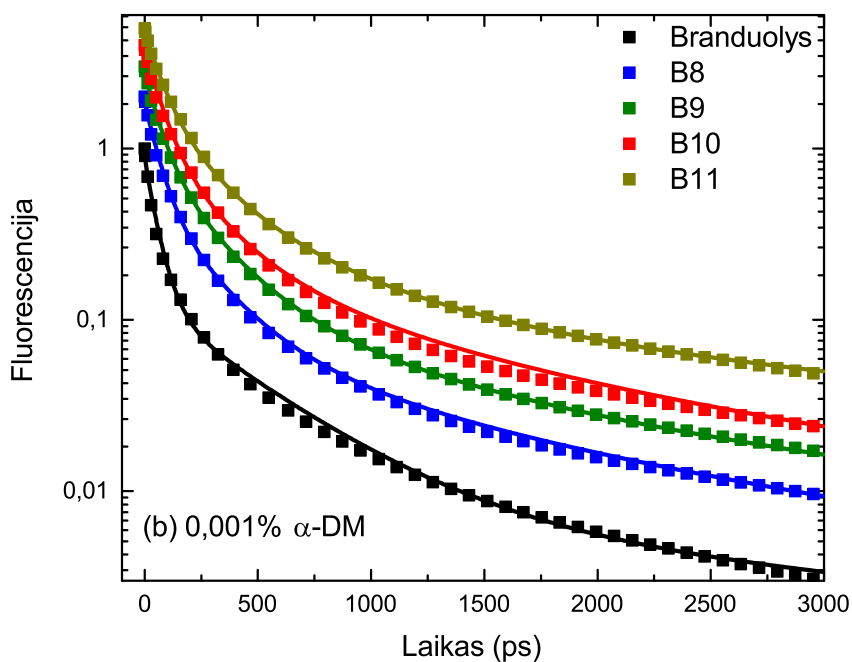
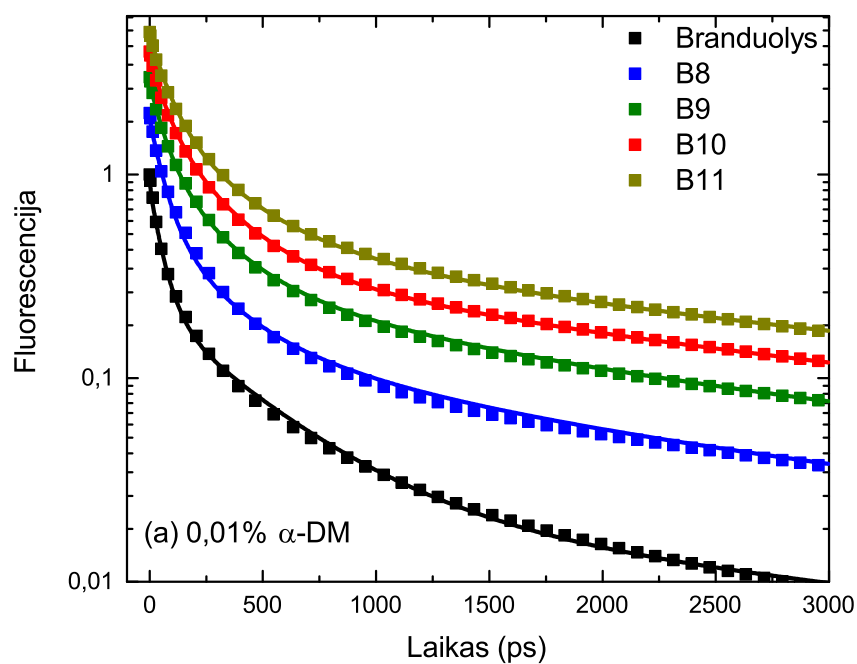
Modelio ir eksperimento verčių nuokrypį minimizavome pasitelkdami Nelderio-Meado optimizacijos algoritmą [28]. Jis daugiamatėje parametų erdvėje greičiau nei didelė dalis kitų optimizacijos algoritmų suranda minimumus, tačiau jis yra ganėtinai jautrus lokaliems minimumams. Dėl šios priežasties atsitiktinai generavome pradines parametų vertes, taip išvengdami „įkrito“ į jau surastus minimumus. Vis dėlto pilnai išvaikščioti 7-matę erdvę gali užtrukti be galo ilgai, kas yra neadekvatu, todėl būtina išsikelti kriterijus nusakančius, kada skaičiavimus galima nutraukti anksčiau laiko. Vienas iš jų yra tiesiog laikas arba iteracijų skaičius, o kitas – mažiausių kvadratų metodo grąžinama vertė. Pastarąjį kriterijų pasirinkus itin mažą, o pirmąjį adekvačiai didelį, galime arba rasti mus tenkinančius sprendinius, arba įsitikinti, kad optimalaus sprendinio nėra. Mūsų atveju, beveik visi skaičiavimai buvo nutraukti dėl laiko, todėl rasti parametų rinkiniai nebūtinai duoda geriausių eksperimentinių taškų ir modelio kreivių sutapimą.

1 lentelėje pateikėme geriausius parametų rinkinius visiems FSII dydžiams ir dviem detergento koncentracijoms. Juos atitinkančios kreivės yra atvaizduotos 6a ir 6b pav. Kaip matyti iš grafikų, modelio kreivės su eksperimentiniais taškais sutampa beveik tobulai tiek pačioje pradžioje, tiek asimptotinėje dalyje – tai patvirtina, kad mūsų modelyje esantys fluktuojantys mechanizmai sugeba paaiškinti eksperimentuose matomas daugiaeksponentines kinetikos prigimtį.

Mūsų prielaida, kad pernašos trukmė tarp branduolio kompleksų yra pastovi ir nepriklauso nuo antenos dydžio, taip pat pasitvirtina. Branduolyje pernaša vidutiniškai yra lygi 42 ps – šis skaičius

1 lentelė. Geriausių sutapimą tarp modelio ir eksperimento duodantys parametrai. Apskaičiuota esant skirtingoms detergento koncentracijoms ir skirtingiems fotosintetinių antenų dydžiams. Paryškinta  $\tau_h$  vertė buvo laikoma fiksuota tarp branduolio kompleksų, kai modeliovome didesnes fotosistemas. Taip pat tarp branduolio parametų  $p_{NPQ}$  vertės nėra, nes laikėme, kad branduolyje gaudyklių nesusidaro. A verčių palyginimui paskutiniame stulpelyje pateikėme eksperimentuose matomos lėčiausios eksponentės amplitudę ir gesimo trukmę

0,01% $\alpha$ -DM								
FSII	$\tau_h$ (ps)	$\tau_{CS}$ (ps)	$\tau_{dis}$ (ns)	$p_\gamma$	$\gamma_0(\%)$	$p_{NPQ}$	A (%)	$A_{ns}(\%) / \tau_{ns}$ (ns)
Branduolys	<b>3,46</b>	3,69	3,55	0,63	8,32	–	2,24	3,5 / 2,21
B8	2,61	3,92	4,24	0,82	8,28	0,17	3,06	5,0 / 2,99
B9	2,91	3,03	3,86	0,83	7,83	0,15	4,82	6,5 / 3,20
B10	3,36	2,51	3,89	0,86	7,63	0,14	5,88	7,5 / 3,26
B11	2,98	2,70	4,25	0,78	7,71	0,18	6,52	8,5 / 3,21
0,001% $\alpha$ -DM								
FSII	$\tau_h$ (ps)	$\tau_{CS}$ (ps)	$\tau_{dis}$ (ns)	$p_\gamma$	$\gamma_0(\%)$	$p_{NPQ}$	A (%)	$A_{ns}(\%) / \tau_{ns}$ (ns)
Branduolys	<b>3,43</b>	3,45	3,54	0,76	8,42	–	0,75	1,7 / 1,72
B8	2,69	4,26	3,57	0,88	9,17	0,18	0,67	1,8 / 2,22
B9	3,47	2,59	3,89	0,88	7,81	0,19	0,76	2,1 / 2,26
B10	2,77	2,63	3,50	0,82	8,72	0,24	0,90	2,1 / 2,33
B11	3,19	2,63	3,94	0,81	8,98	0,21	1,91	3,4 / 2,35



6 pav. Eksperimentinės (taškai) ir sumodeliuotos (kreivės) fluorescencijos kinetikos skirtingiems FSII dydžiams, prie 0,01% (a) ir 0,001% (b)  $\alpha$ -DM detergento koncentracijų. Visos sumodeliuotos kreivės buvo gautos remiantis 1 lentelės parametrais. Dėl vizualinio patogumo, B8, B9, B10 ir B11 fotosistemų fluorescencijos kreivės buvo padaugintos iš 2, 3, 4 ir 5, atitinkamai

gaunamas padauginus lentelėje pateiktą  $\tau_h$  vertę iš vidutinio molekulių skaičiaus branduolio kompleksuose ( $\sim 12$ ). Tuo tarpu iš RC sužadavimo pernašos trukmė yra 27 ps, o LHCII kompleksuose ji yra vidutiniškai 23 ps. Šios vertės sutampa su eksperimentų ir kitų modelių rezultatais [11–13], kur taip pat matoma, kad anteniniuose kompleksuose pernaša greitesnė nei branduolyje.

Svarbiausi šio modelio parametrai yra aktyvaus ryšio tikimybė  $p_\gamma$  ir neaktyvaus ryšio stiprumas  $\gamma_0$ . Kaip matome iš 1 lentelės, šių parametrų vertės vidutiniškai yra 80% ir 8%, atitinkamai. Verčių didumas iš tiesų parodo, kad efektas yra stipriai išreikštas FSII. Net penktadalyje ryšių pernaša sulėtėja iki 10 kartų, ir nors ryšys pilnai nenutrūksta, tačiau vidutinė sužadavimo gyvavimo trukmė dėl to smarkiai išauga ir per tą patį laiko tarpą daug mažiau sužadavimo pasiekia RC. Esant intensyviai šviesai tai galėtų apsaugoti RC nuo fotooksidacijos.

Lygindami vertes tarp skirtingose detergento koncentracijose laikomų fotosistemų, matome, kad nežymiai didesnės  $\gamma_0$  ir  $p_\gamma$  vertės yra gaunamos esant mažesnei detergento  $\alpha$ -DM koncentracijai. Tai galėtų reikšti, kad detergentas nestipriai sąveikauja su kompleksais, nežymiai padidindamas tarpmolekulinius atstumus FSII. Tačiau ši koreliacija nėra itin žymi, nes sumažėjus koncentracijai 10 kartų sąveika padidėja tik 10%, todėl kol kas į ją neverta atsižvelgti, bet vykdant tolimesnius tyrimus šioje srityje derėtų papildomai patikrinti, ar taip yra iš tikrųjų.

Modeliuojant sužadavimo dinamiką branduolyje, eksperimentas buvo puikiai aprašytas be jokių papildomų gaudyklių, tuo tarpu kitoms FSII buvo gaunamos per lėtos kinetikos. Būtent dėl šios priežasties jų susidarymas ir buvo papildomai įjungtas į modelį. Mūsų skaičiavimais gaudyklių susidarymo tikimybė yra 16% ir 20%, kai detergento  $\alpha$ -DM koncentracija 0,01% ir 0,001%, atitinkamai. Didžiausioje antenoje, turinčioje 4 LHCII trimerus, ši tikimybė reiškia, kad vidutiniškai yra maždaug 2 gaudyklės per vieną FSII, kas reiškia apie 10% visų kompleksų. Atsižvelgiant į vidutinę sužadavimo gyvavimo trukmę, kuri pati priklauso nuo šio proceso, nefotocheminiu gesinimo būdu sistemą palieka panašus ar net didesnis procentas viso sužadavimo. Kadangi eksperimentas buvo atliktas paleidžiant po vieną fotoną [11], tai išties daug sužadavimo yra tiesiog iššvaistoma. Tokiom apšvietimo sąlygom gaudyklių yra tikrai per daug – fotooksidacijos rizika yra minimali, todėl tai yra itin keistas rezultatas. Galbūt tai galima paaiškinti tuo, kad FSII taip bando apsisaugoti nuo šviesos srauto fliuktuacijų. Staigiai padidėjus šviesos intensyvumui jau esančios gaudyklės gali pradėti iš karto sklaidyti perteklinį sužadimą, tuo tarpu, jei jų nebūtų, tai mažiausiai kelias minutes [5] grėstų fotooksidacijos pavojus, o per tokį laiką įmanoma padaryta jau neatstatomos žalos. Tad iš FSII perspektyvos „apsimoka“ aukoti našumą mažo šviesos intensyvumo sąlygomis, kad geriau būtų apsisaugojama didelio intensyvumo sąlygomis.

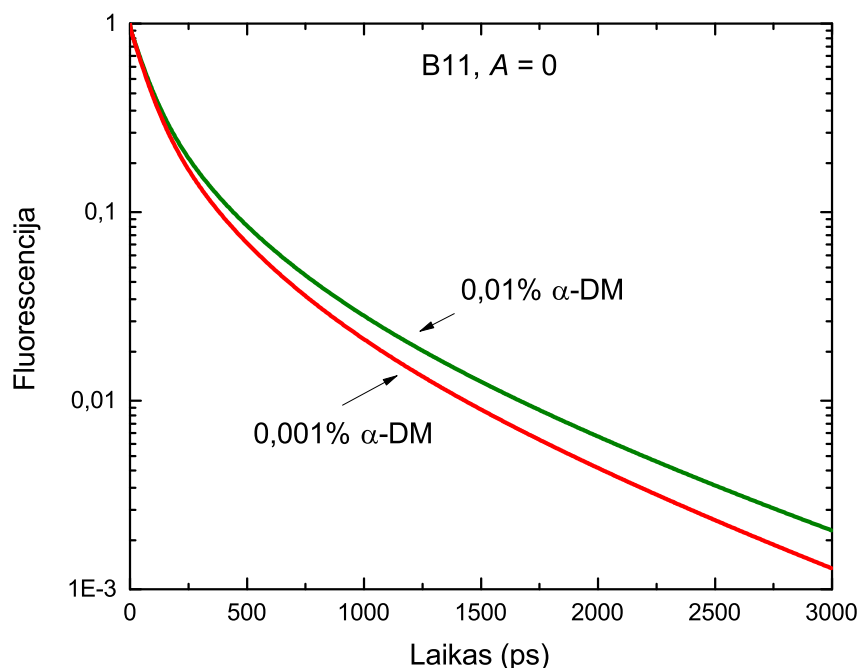
Šią hipotezę būtų galima patikrinti turint analogiškus eksperimentus atliktus esant skirtingam šviesos srautui. Tuo pačiu būtų galima patikrinti, ar tarp fliuktuojančių ryšių ir gaudyklių yra kokia nors koreliacija. Jei didėjant šviesos srautui gaudyklių skaičius didėtų, tai taip pat tikėtumėmės pamatyti parametrų  $p_\gamma$  ir/arba  $\gamma_0$  mažėjimą. Kadangi gaudyklėse sužadavimas virsta šiluma, tai molekulių šiluminės vibracijos turėtų suintensyvėti. Dėl šios priežasties atstumai tarp molekulių taip pat turėtų kažkiek padidėti, dėl ko ryšio stiprumas turėtų sumažėti, kaip ir minėtų parametrų vertės. Dabar iš

turimų duomenų to negalime nustatyti, tad būtų įdomu patikrinti, ar toks mechanizmas iš tiesų pasivertintų.

Kitas naujas parametras ( $A$ ) mūsų modelyje nusako pavienių kompleksų koncentraciją procentais. Eksperimente, kuris gali būti aproksimuotas kaip keturių eksponentių suma su skirtingomis amplitudėmis ir gesimo spartomis, pati lėčiausia eksponentė yra priskiriama būtent šitiems kompleksams. Dėl šios priežasties *Caffarri et al* [11] modeliuodami sužadinimo pernašą šią komponentę atmetė ir aprašinėjo tik likusių trijų sugeneruojamą kinetiką. Tačiau mums tai atrodo neteisinga. Visų pirma, lėčiausios eksponentės gesimo trukmė yra žymiai mažesnė daugeliu atveju nei pavienės Chl  $a$  molekulės disipacinė trukmė, kuri yra lygi  $4,0 \pm 0,5$  ns [21], todėl akivaizdu, kad tai negali būti tiesiog pavienis kompleksas. Taip pat, kaip jau aiškinome 2.2 skyriuje, beveik pavieniai kompleksai gali susidaryti ir dėl fliuktuojančių ryšių, todėl atmesdami šią kinetikų komponentę mes prarastume dalį sužadinimo, tenkančio FSII kompleksams. Iš tiesų, pažiūrėjus į mūsų gautas pavienių kompleksų koncentracijas, visais atvejais jos yra žymiai mažesnės už eksperimente priskiriamą vertę. Tai liudija, kad pavienių kompleksų yra, bet daug mažiau nei manyta. Remiantis  $p_\gamma$  tikimybe, galime parodyti, kad skirtumas tarp  $A_{\text{exp}}$  ir  $A$  gali būti padengiamas atsitiktinai atsirandančių pavienių kompleksų skaičiumi. Pavyzdžiui, branduolyje šis skirtumas yra 1,26% (0,01%  $\alpha$ -DM), o ryšio nutraukimo tikimybė yra  $\bar{p}_\gamma = 37\%$ , kadangi čia kompleksai vidutiniškai yra prisijungę prie dar dviejų kompleksų, tai yra maždaug 13% tikimybė (laikant, kad ryšiai nėra koreliuoti), kad abu ryšiai nutrūks ir turėsime papildomų pavienių kompleksų. Šis skaičius gerokai didesnis nei, atrodo, reikėtų, bet negalima pamiršti, kad taip pat reikia atsižvelgti į sužadinimo gesimo spartas.

Dar įdomu tai, kad modelis sėkmingai prognozuoja pavienių kompleksų skaičiaus mažėjimą mažinant detergento koncentraciją bandinyje. Esant 0,001%  $\alpha$ -DM koncentracijai mišinys yra mažiau atskiestas, ir pavieniai kompleksai gali lengviau prisikabinti prie greta esančių FSII, taigi natūralu, kad jų skaičius turi būti mažesnis ir panašiu, kad tai sėkmingai užfiksuojame. Remiantis 1 lentelės duomenimis, matome, kad kiti parametrai su detergento koncentracija nekoreliuoja arba labai silpnai, todėl galime laikyti, kad nuo koncentracijos kinta tik parametras  $A$ . Tai reiškia, kad su modeliu galime patikrinti, kas būtų, jei bandinys būtų idealus, t.y. be pavienių kompleksų ( $A \rightarrow 0$ ). Tokiu atveju abi kreives, sumodeliuotas naudojantis skirtingų koncentracijų parametru rinkiniais, turėtų sutapti. Šie rezultatai yra pateikiami 7 pav. Kaip matome, gero sutapimo nėra – logaritminiame mastelyje asimptotika aiškiai skiriasi. Nors parametrai yra panašūs tarp tų pačių FSII skirtingose detergento koncentracijose, bet akivaizdu, kad modelis yra jautrus net ir nedideliems parametru verčių pokyčiams.

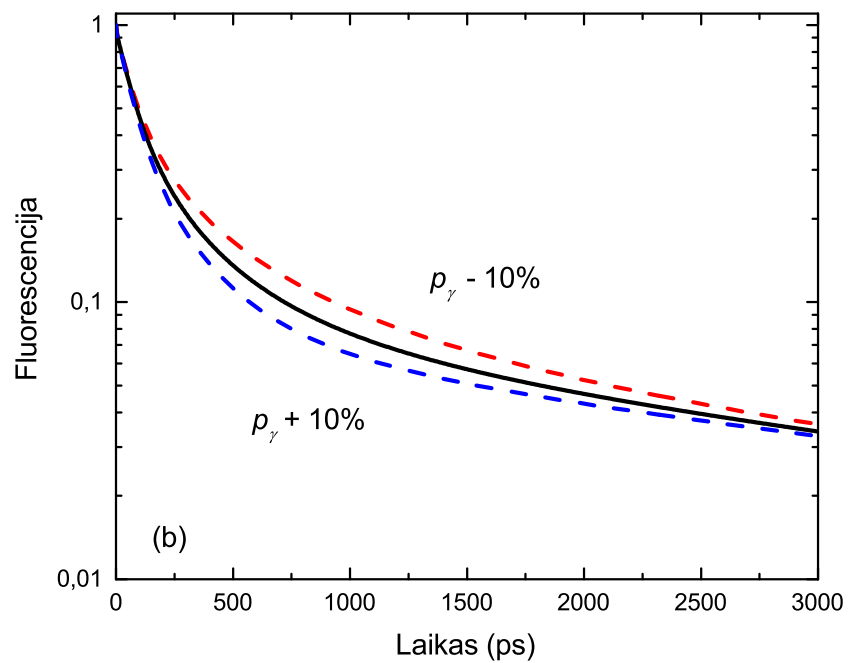
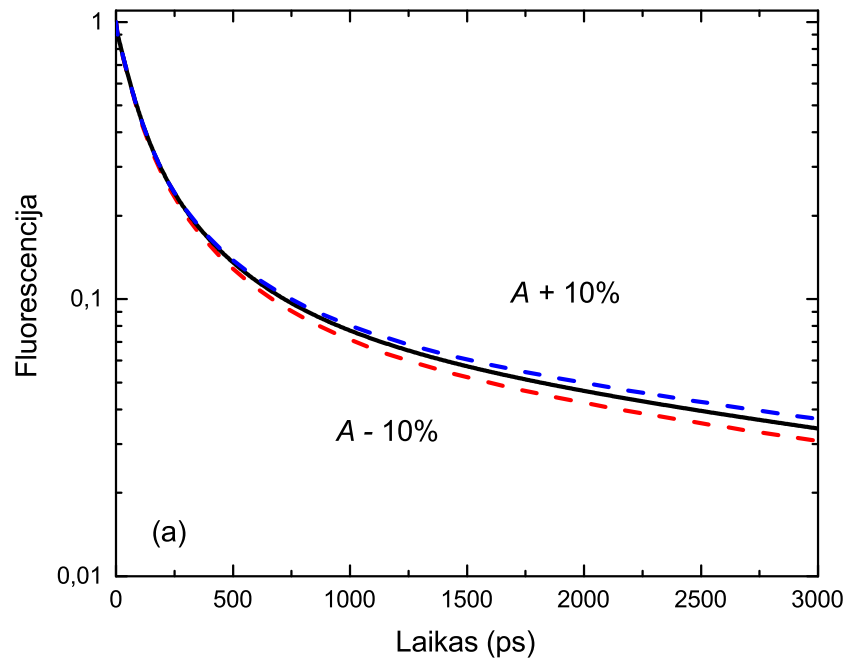
Fiksuodami visus parametrus apart vieno galime patikrinti modelio jautrumą šio parametro verčių pokyčiams. Tokiu būdu išsiaiškinome, kad mažiausiai įtakos kinetikų elgesiui turi  $\tau_{CS}$ . Šis rezultatas nestebina, kadangi krūvio atskyrimo sparta  $RC$  yra mažiausiai 10 kartų greitesnė už bet kurio kito proceso, kaip matome 1 lentelėje, tad sužadinimas nespėja sugrįžti į sistema ir yra panaudojamas krūvio atskyrimui. Taigi neskaitant pradinio sužadinimo relaksacijos, fluorescencijos gesimui  $\tau_{CS}$  įtakos neturi. Šio proceso greitinimas bet kokią įtaką tik sumažintų, todėl iš tikrųjų šiame modelyje krūvio atskyrimo spartą galima laikyti konstanta, priešingai nei tam tikruose modeliuose [7, 11, 12]. Tačiau



7 pav. Sumodeliuotos fluorescencijos gesimo kinetikos, kai  $A = 0$ . Raudona ir tamsiai žalia kreivės atitinka parametrų rinkinius, apskaičiuotus B11 struktūrai esant 0,001% ir 0,01%  $\alpha$ -DM detergento koncentracijoms, atitinkamai

šio proceso lėtinimas jau gali turėti efekto, nors reikia pastebimo pokyčio, kad  $\tau_{CS}$  ir  $\tau_h$  (pėnormuoto komplekso molekulių skaičiui) būtų palyginami. Pastarojo parametro pokyčiams iki 10% mūsų modelis nėra jautrus. Iš tiesų, atsižvelgus, kad lentelėje maždaug tokiose ribose yra visos parametro verčių variacijos, smarkiai nesuklysimė laikydami, kad visoje FSII pernašos sparta iš Chl  $a$  molekulės yra pastovi ir lygi 3 ps. Tarp LHCII kompleksų tai atitinka 24 ps. Tai yra logiškas atsakymas, nes Försterio pernašai antenos dydis negali turėti įtakos, kadangi sąveika silpnėja atstumo šeštame laipsnyje ir toliau esančių kompleksų įtaka yra nykstama.

Šiek tiek jautresnis modelis yra šiems parametrams:  $\tau_{dis}$ ,  $p_{NPQ}$  ir  $\gamma_0$ . Šiek tiek pakeitus jų vertes jau akivaizdžiau gali pagreitėti arba palėtėti fluorescencijos kinetika. Tačiau jautriausiai modelis reaguoja į  $A$  ir  $p_\gamma$  pokyčius, pastarajam labiausiai. Kaip pasikeičia kreivės pakeitus jų vertes 10% galima pamatyti 8a ir 8b pav., atitinkamai. Pavienių kompleksų koncentracijos poveikis yra gan akivaizdus, nuo to labiausiai keičiasi asimptotika. Tačiau fluktuojančių ryšių tikimybė keičia pernašos kelius, todėl rezultate yra paveikiama vidutinė sužadavimo gyvavimo trukmė, tai ir matyti 8b pav. Didinant ryšio aktyvumo tikimybę sužadimui yra daugiau ir tiesesnių kelių pasiekti RC iš fotosintetinės antenos, todėl sužadavimo gyvavimo trukmė sumažėja, ir atvirkščiai, kai tikimybė sumažėja, tuomet sužadimui reikia „vaikščioti“ aplinkui arba antena tampa visai atskirta nuo RC.



8 pav. Parametrų  $A$  (a) ir  $p_\gamma$  (b) jautrumas B11 struktūros ir 0,01%  $\alpha$ -DM detergento koncentracijos bandinyje. Raudona kreivė atitinka parametro vertės sumažėjimą 10%, o mėlyna – padidėjimą 10%.

## Išvados

1. Modeliuojant sužadavimo dinamiką įvairaus dydžio antrosiose fotosistemose, sužadavimo energijos pernašos tarp kompleksų spartų fliktuacijos leido tinkamai aprašyti eksperimentuose stebimas daugiaeksponentes fluorescencijos gesimo kinetikas.
2. Net mažo apšvietimo sąlygomis yra apie 15% tikimybė LHCII kompleksui atsitiktinai persijungti į tamsinę, už nefotocheminį gesinimą atsakingą būseną.
3. Eksperimentuose stebimą lėčiausią ns fluorescencijos gesimo komponentę didžiąją dalimi galima paaiškinti laikinai dėl fliktuojančių ryšių sulėtėjusia pernaša iš šviesos surinkimo antenos į reakcijų centrą.

## Literatūros sąrašas

- [1] R. E. Blankenship, D. M. Tiede, J. Barber, G. W. Brudvig, G. Fleming, M. Ghirardi, M. R. Gunner, W. Junge, D. M. Kramer, A. Melis, T. A. Moore, C. C. Moser, D. G. Nocera, A. J. Nozik, D. R. Ort, W. W. Parson, R. C. Prince, R. T. Sayre, Comparing photosynthetic and photovoltaic efficiencies and recognizing the potential for improvement, *Science* **332**(6031), 805–809 (2011).
- [2] M. A. Green, K. Emery, Y. Hishikawa, W. Warta, E. D. Dunlop, Solar cell efficiency tables (version 45), *Progress in Photovoltaics: Research and Applications* **23**(1), 1–9 (2015).
- [3] R. E. Blankenship, *Molecular Mechanisms of Photosynthesis* (Blackwell Science, Tempe, 2002).
- [4] M. R. Wasielewski, D. G. Johnson, M. Seibert, Govindjee, Determination of the primary charge separation rate in isolated photosystem II reaction centers with 500-fs time resolution, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **86**(2), 524–528 (1989).
- [5] B. Demmig, K. Winter, A. Krüger, F.-C. Czygan, Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves: A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy, *Plant Physiology* **84**(2), 218–224 (1987).
- [6] S. Reinbothe, C. Reinbothe, K. Apel, N. Lebedev, Evolution of chlorophyll biosynthesis – the challenge to survive photooxidation, *Cell* **86**(5), 703–705 (1996).
- [7] R. Croce, H. van Amerongen, Natural strategies for photosynthetic light harvesting, *Nature Chemical Biology* **10**(7), 492–501 (2014).
- [8] T. M. Bricker, The structure and function of CPa-1 and CPa-2 in photosystem II, *Photosynthesis Research* **24**(1), 1–13 (1990).
- [9] S. Caffarri, R. Kouřil, S. Kereiche, E. J. Boekema, R. Croce, Functional architecture of higher plant photosystem II supercomplexes, *The EMBO Journal* **28**(19), 3052–3063 (2009).
- [10] A. V. Ruban, P. J. Lee, M. Wentworth, A. J. Young, P. Horton, Determination of the stoichiometry and strength of binding of xanthophylls to the photosystem II light harvesting complexes, *Journal of Biological Chemistry* **274**(15), 10458–10465 (1999).
- [11] S. Caffarri, K. Broess, R. Croce, H. van Amerongen, Excitation energy transfer and trapping in higher plant photosystem II complexes with different antenna sizes, *Biophysical journal* **100**(9), 2094–2103 (2011).
- [12] J. Chmeliov, G. Trinkunas, H. van Amerongen, L. Valkunas, Light harvesting in a fluctuating antenna, *Journal of the American Chemical Society* **136**(25), 8963–8972 (2014).



- [13] H. Dau, K. Sauer, Exciton equilibration and photosystem II exciton dynamics – a fluorescence study on photosystem II membrane particles of spinach, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1273**(2), 175–190 (1996).
- [14] Y. Miloslavina, M. Szczepaniak, M. G. Müller, J. Sander, M. Nowaczyk, M. Rögner, A. R. Holzwarth, Charge separation kinetics in intact photosystem II core particles is trap-limited. A picosecond fluorescence study, *Biochemistry* **45**(7), 2436–2442 (2006).
- [15] V. Barzda, V. Gulbinas, R. Kananavicius, V. Cervinskis, H. van Amerongen, R. van Grondelle, L. Valkunas, Singlet–singlet annihilation kinetics in aggregates and trimers of LHCII, *Biophysical Journal* **80**(5), 2409–2421 (2001).
- [16] L. Valkunas, J. Chmeliov, G. Trinkunas, C. D. P. Duffy, R. van Grondelle, A. V. Ruban, Excitation migration, quenching, and regulation of photosynthetic light harvesting in photosystem II, *The Journal of Physical Chemistry B* **115**(29), 9252–9260 (2011).
- [17] E. J. Boekema, B. Hankamer, D. Bald, J. Kruij, J. Nield, A. F. Boonstra, J. Barber, M. Rögner, Supramolecular structure of the photosystem II complex from green plants and cyanobacteria, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **92**(1), 175–179 (1995).
- [18] K. Broess, G. Trinkunas, A. van Hoek, R. Croce, H. van Amerongen, Determination of the excitation migration time in photosystem II: Consequences for the membrane organization and charge separation parameters, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1777**(5), 404–409 (2008).
- [19] C. D. van der Weij-de Wit, J. P. Dekker, R. van Grondelle, I. H. M. van Stokkum, Charge separation is virtually irreversible in photosystem II core complexes with oxidized primary quinone acceptor, *The Journal of Physical Chemistry A* **115**(16), 3947–3956 (2011).
- [20] T. P. J. Krüger, C. Iliaia, L. Valkunas, R. van Grondelle, Fluorescence intermittency from the main plant light-harvesting complex: Sensitivity to the local environment, *The Journal of Physical Chemistry B* **115**(18), 5083–5095 (2011).
- [21] S. Vasil'ev, K.-D. Irrgang, T. Schrötter, A. Bergmann, H.-J. Eichler, G. Renger, Quenching of chlorophyll a fluorescence in the aggregates of LHCII: Steady state fluorescence and picosecond relaxation kinetics, *Biochemistry* **36**(24), 7503–7512 (1997).
- [22] D. L. Andrews, Resonance energy transfer: Theoretical foundations and developing applications, in *Tutorials in Complex Photonic Media*, 439–470 (SPIE Washington, 2009).
- [23] P. Horton, A. Ruban, Molecular design of the photosystem II light-harvesting antenna: photosynthesis and photoprotection, *Journal of Experimental Botany* **56**(411), 365–373 (2005).

- [24] J. Chmeliov, A. Gelzinis, E. Songaila, R. Augulis, C. D. P. Duffy, A. V. Ruban, L. Valkunas, The nature of self-regulation in photosynthetic light-harvesting antenna, *Nature Plants* **2**, 16045–(2016).
- [25] P. Horton, A. Ruban, D. Rees, A. Pascal, G. Noctor, A. Young, Control of the light-harvesting function of chloroplast membranes by aggregation of the LHCII chlorophyll–protein complex, *FEBS Letters* **292**(1), 1–4 (1991).
- [26] A. V. Ruban, A. Young, P. Horton, Modulation of chlorophyll fluorescence quenching in isolated light harvesting complex of photosystem II, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1186**(1), 123–127 (1994).
- [27] L. Valkunas, G. Trinkunas, J. Chmeliov, A. V. Ruban, Modeling of exciton quenching in photosystem II, *Physical Chemistry Chemical Physics* **11**, 7576–7584 (2009).
- [28] J. C. Lagarias, J. A. Reeds, M. H. Wright, P. E. Wright, Convergence properties of the Nelder–Mead simplex method in low dimensions, *SIAM Journal on Optimization* **9**(1), 112–147 (1998).
- [29] H. van Amerongen, L. Valkunas, R. van Grondelle, *Photosynthetic Excitons* (World Scientific: Singapore, 2000).
- [30] H. Amerongen, R. Croce, Light harvesting in photosystem II, *Photosynthesis Research* **116**(2/3), 251–263 (2013).
- [31] J. P. Dekker, E. J. Boekema, Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1706**(1-2), 12–39 (2005).
- [32] C. D. P. Duffy, L. Valkunas, A. V. Ruban, Light-harvesting processes in the dynamic photosynthetic antenna, *Physical Chemistry Chemical Physics* **15**, 18752–18770 (2013).
- [33] P. Müller, X.-P. Li, K. K. Niyogi, Non-photochemical quenching. A response to excess light energy, *Plant physiology* **125**(4), 1558–1566 (2001).

EXCITATION ENERGY TRANSFER AND NON-PHOTOCHEMICAL QUENCHING IN A  
FLUCTUATING PHOTOSYNTHETIC ANTENNA

**Summary**

The amount of sunlight reaching the surface of the Earth during the day is in principle sufficient to support human energy needs for years. At the moment solar panels and thermal collectors use only a small fraction of this light, while a much larger fraction is used by green plants and algae. Over billions of years of evolution, many organisms adapted to absorb the electromagnetic radiation coming from the Sun and to store it in the form of biochemical energy needed to power life, a phenomenon known as photosynthesis. This remarkable process provides the foundation for essentially all life and has over geological time profoundly altered the Earth itself. It provides all our food and oxygen that we breathe. However, the contribution of photosynthesis to energy production is limited by its past performance that has led to our fossil fuels. Many research groups intensively are working to improve the photosynthesis efficiency in living organisms and to obtain efficient artificial systems that mimic photosynthesis for energy production. In both cases, an understanding of the underlying processes of energy transfer in light harvesting systems is necessary and it forms the topic of this research.

The most common form of photosynthesis involves chlorophyll-type pigments that are found in plant cells, algae, cyanobacteria, and several types of more primitive non-oxygen-evolving bacteria. These pigments together with the proteins arrange themselves to form light-harvesting antenna, which ensure optimal absorption of the incoming photons and can lead to extremely efficient transfer of excitation energy to a reaction center (RC), where charge separation takes place – a necessary step for the subsequent steps of photosynthesis. Different models for the energy transfer have been suggested by many research groups, but new experiments have debunked most of them. Lacking a good description of this important mechanism, we set a goal to check whether or not a coarse-grained model with stochastic processes in the light-harvesting antenna is sufficient to explain excitation dynamics of these systems.

Energy transfer depends on a weak energetic coupling of the antenna pigments; however, due to the flexibility of the whole system, the coupling strength between different subunits remains unresolved. Thermal motion of the molecules can result in fluctuating bond strengths which in turn affect arrangement of the network of excitation transfer. As the principle motion of individual molecules is controlled by purely random events, we can expect to have many different configurations of pigments–protein complexes in light-harvesting antenna. When averaged over the whole ensemble, this behavior should lead to a multi-exponential decay kinetic of excitation population, which is seen in the experiments of fluorescence decay.

Furthermore, it is well known that excitation trapping occurs somewhere in the light-harvesting

antenna, where a non-photochemical quenching (NPQ) pathway exists for excitation's decay in the form of heat, instead of photon reemission or charge separation. The exact mechanism for NPQ is still unknown, however, few ideas were proposed suggesting involvement of carotenoids, especially lutein, and the conformational change of the protein scaffold. As the lateral effect is also controlled by randomness, it adds more variability to the system, as well as much faster excitation kinetics.

Our actual fitting results show that the coarse-grained model with both effects is sufficient to explain the data from fluorescence decay experiments. The values of fitting parameters predict that there is a 20% chance for a specific bond to weaken to about 10% of its original strength, a result which well-suits with our expectations based on experimental data of detached complex. Furthermore, the probability for NPQ traps is at least 15%, meaning two traps per photosystem. This number is much too big for efficient photosynthesis in low light conditions, although it might serve a purpose of passively protecting photosystem from photo-damage in case of sudden increase in light intensity. Lastly, our values of excitation energy transfer rate between two complexes show no significant change with increasing antenna size, proving that the energy transfer is independent of antenna size.

Thus we concluded that multi-exponential fluorescence decay, as well as few self-regulating mechanisms, can be explained by the fluctuating light-harvesting antenna and random formation of the NPQ traps within it.