

Vilniaus universitetas
Fizikos fakultetas
Cheminės fizikos institutas

Gabrielė Rankelytė

ELEKTROSTATINĖ SAŲEIKA FOTOSINTETINIULOSE KOMPLETEKSUOSE

MAGISTRANTŪROS STUDIJŲ BAIGIAMASIS DARBAS

Teorinės fizikos ir astrofizikos studijų programa

Studentas

Leista ginti

Darbo vadovas

Konsultantas

Instituto direktorius

Gabrielė Rankelytė

2024-05-24

doc. dr. Jevgenij Chmeliov

doc. dr. Andrius Gelžinis

prof. dr. Darius Abramavičius

Vilnius 2024

Turinys

Įvadas	3
1 Teorinis įvadas	5
1.1 Pirmoji fotosistema ir jos šviesorankos antena	5
1.2 Nestacionarioji tankio funkcionalo teorija	8
1.2.1 Rungès-Groso teorema	8
1.2.2 Nestacionariosios Kono-Šemo lygtys	9
1.2.3 Tiesinio atsako teorija	11
1.2.4 Sužadintųjų būsenų energijos skaičiavimas	13
1.2.5 CAM-B3LYP hibridinis funkcionalas	15
1.3 Struktūrinis baltymo ir pigmentų modeliavimas	16
1.3.1 CDC metodas	18
1.3.2 Atominių krūvių nustatymas CHELPG metodu	18
1.3.3 Baltymo protonacijos nustatymas	19
2 Baltyminės aplinkos elektrostatinės įtakos chlorofilų sužadintosioms būsenoms nustatymo metodika	21
3 Darbo rezultatai	23
3.1 LHCI šviesorankos kompleksų palyginimas	23
3.1.1 Pigmentų palyginimas	23
3.1.2 Baltymo grandinės palyginimas	24
3.2 Chlorofilo dimerų sudarymas ir CT būsenų paieška	26
3.3 Lhca1–Lhca4 baltymo grandinių modeliavimas	27
3.4 Aplinkos įtaka chlorofilų monomerų energijoms	29
3.5 Aplinkos įtaka chlorofilų dimerų CT būsenų energijoms	31
3.5.1 Lhca1	31
3.5.2 Lhca2	33
3.5.3 Lhca3	34
3.5.4 Lhca4	36
3.5.5 Gautų rezultatų palyginimas su LHCI fluorescencijos spektru	38
Rezultatai ir išvados	40
Padėka	41
Literatūra	42
Priedas	48
Santrauka anglų kalba	56

Įvadas

Fotosintezė neabejotinai yra vienas iš svarbiausių Žemėje vykstančių procesų, nuo kurio priklauso beveik visų gyvų organizmų gerovė ir vystymasis [1]. Fotosintezės metu saulės šviesa yra sugerama ir paverčiama energija, būtina gyvybei. Šį procesą vykdo įvairios organizmų rūšys. Keletas iš jų, pvz. melsvabakterės, aukštesnieji augalai ir dumbliai, vykdo fotosintezę ir didžiąją dalį sau reikalingos energijos gauna būtent iš šio proceso. Taip pat egzistuoja ir kitos rūšys, kurios, nors ir gali vykdyti fotosintezę, daugiausiai energijos semiasi iš kitų šaltinių. Tai yra vadinamieji fototropai (pvz. archėjos) [2].

Patys našiausi fotosintezę vykstantys organizmai yra sausumos augalai [3]. Vykstant evoliucijai, augalai prisitaikė prie ekstremalių sąlygų. Siekiant užtikrinti pakankamą šviesos surinkimą esant prastam apšvietimui susiformavo naši antena, tačiau, prisitaikydami prie per didelio apšvietimo, augalai išvystė ir apsaugos mechanizmus. Taip evoliuciškai sausumos augalų chloroplastuose esančioje tilakoido membranoje išsivystė dvi fotosintezę vykdančios sistemos – pirmoji (angl. PSI) ir antroji fotosistema (angl. PSII), kiekviena su savo šviesorankos antena (atitinkamai angl. LHCI ir LHCI) [4]. Pagrindinė šių antenų paskirtis yra sugerti saulės šviesą iš aplinkos ir energijos pavidalu pernešti į fotosistemų branduoliuose esančius reakcijos centrus [2].

Pirmoji fotosistema yra pats našiausias šviesos konversijos į energiją aparatas gamtoje [5]. Jos kvantinis našumas yra beveik lygus vienetui [4, 5]. Būtinios sąlygos tokiam aukštam našumui pasiekti yra labai greita sužadavimo energijos pernaša tarp pigmentų šviesorankos antenoje, pigmentų sužadintųjų būsenų nefotocheminio gesinimo nebuvimas bei krūvių atskyrimo proceso negrižtamumas [5]. Sužadavimo pernašos spartumas priklauso nuo pernašoje dalyvaujančių pigmentų padėčių. Pernaša bus spartesnė tarp arčiau esančių pigmentų, o spartesnė pernaša lemia didesnę antenos našumą. Tačiau svarbu atsižvelgti ir į pigmentų padėtį vienas kito atžvilgiu: jei atstumas tarp pigmentų geometrinių centrų yra ne mažesnis nei 15 Å, energijos pernaša aprašoma Fiorsterio (T. Förster) teorija [6]. Kitu atveju sužadavimas gali tapti delokalizuoatas per kelis pigmentus (svarbu atsižvelgti ir pigmentų orientaciją vienas kito atžvilgiu, kalbant apie chlorofilus – porfirino žiedo plokštumų sudaromą kampa). Jei pigmentai yra per arti, pradeda veikti koncentracinis gesinimas – sužadintosios būsenos gyvavimo trukmę trumpinantis ir antenos našumą mažinantis efektas. Pirmojoje fotosistemoje, nors pigmentų koncentracija yra gana didelė (~0,5 M), koncentracinis gesinimas nepasireiškia. Manoma, kad pigmentams per daug suartėti neleidžia baltymas [7], kuris taip pat išlaiko pigmentus pakankamai arti, kad vyktų efektyvi energijos pernaša. LHCI antenoje sužadavimo energijos pernašai didelę įtaką turi tarp dviejų arba daugiau pigmentų (chlorofilų ir/arba karotenoidų) susidarančios krūvio pernašos būsenos (angl. charge-transfer states, žymima CT) [8–10]. Susidarius krūvio pernašos būsenai, elektronas iš vienos molekulės (donoro) pereina į kitą molekulę (akceptorių). Keletas krūvio pernašos būsenų susidarymo tarp pigmentų padėčių yra žinoma, tačiau jos ne iki galo paaiškina pirmosios fotosistemos sugerties ir emisijos spektruose stebimus reiškinius [11] ir energijos pernašos iš šviesorankos antenos į reakcijos centrus kelius [10].

Pigmentai šviesorankos antenoje yra apsupti kitų pigmentų bei baltymo grandinės. Norint nuodugniai išanalizuoti tiek eksitoninę, tiek ir krūvio pernašos būsenas lemiančią sąveiką tarp chlorofilo molekulių, yra būtina įskaityti aplinkos molekulių daromą įtaką pigmentų sužadintosioms

būsenoms [12,13]. Daugiausia tyrimų atlikta FMO (Fenna–Matthews–Olson) ir LHCII struktūroms, kur įskaitant baltymo kuriamą elektrostatinį lauką gaunamos pigmentų eksitoninės pernašos būsenų energijos pataisos [12,14–17], tačiau panašių tyrimų, kurie apimtų ir krūvio pernašos būsenų energijos pokyčius arba pirmosios fotosistemos šviesorankos kompleksą, trūksta.

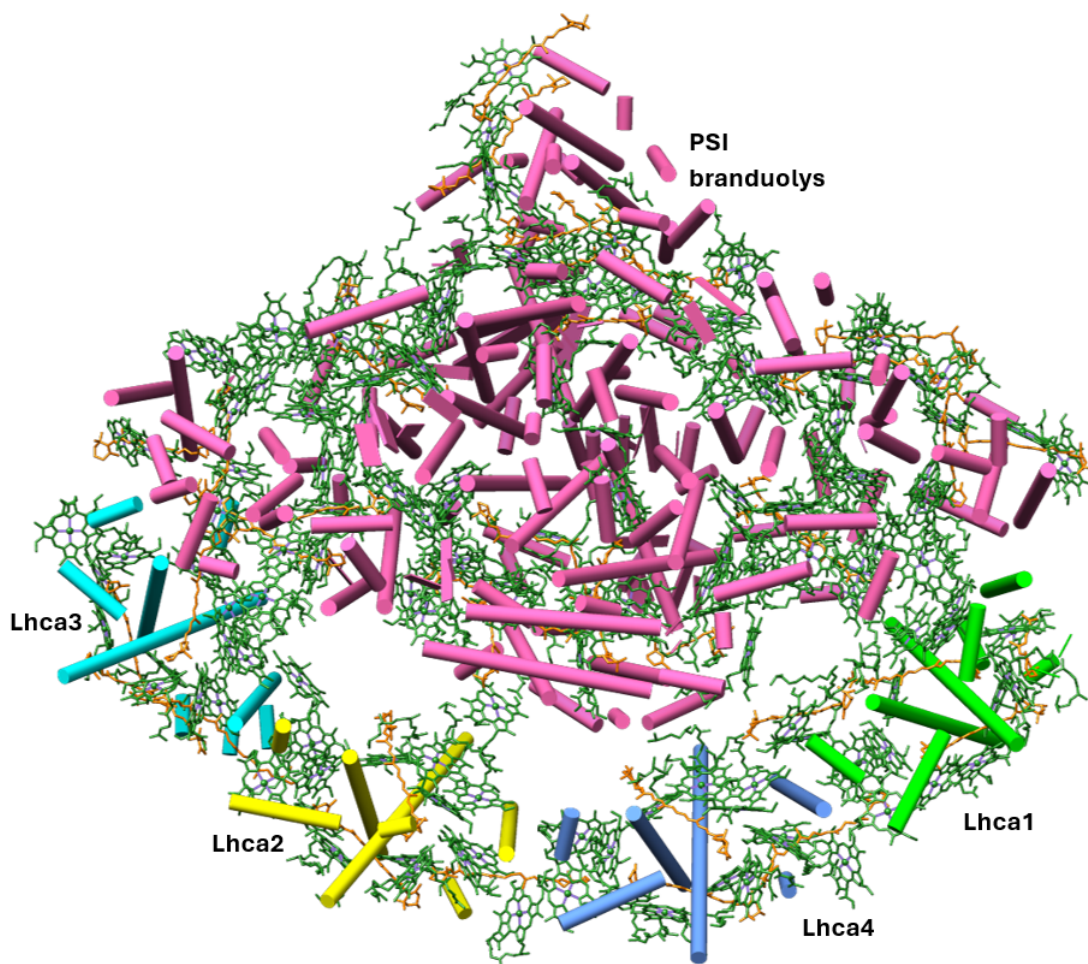
Daugiausiai atomų turinti ir didelę įtaką pigmentų sužadintosioms būsenoms daranti [18] aplinkos dalis yra šviesorankos komplekso baltymo grandinė. Baltymą sudarančių aminorūgščių sąveika su aplinkinėmis molekulėmis (pvz. aplinkinių molekulių koordinacija arba sudaryti vandeniliniai ryšiai) palaiko viso šviesorankos komplekso geometriją [19] ir veikia chlorofilų sužadintų būsenų energijas. Be to, kai kurios baltymo molekulės yra linkusios lengvai keisti savo krūvį prisijungdamos arba atiduodamos protoną į aplinką. Šis procesas tilakoido membranoje gali vykti dėl ją supančių liumeno ir stromos, kuriuose vyrauja atitinkamai teigiami ir neigiami krūviai bei aplinka yra atitinkamai rūgštinė ir bazinė. Kiekvienos lengvai protonuojamos aminorūgšties protonacijos tipas priklauso nuo lokalios ją supančios aplinkos ir tirpalo rūgštingumo. Toks krūvio pasikeitimas net ir vienoje baltymo grandinės dalyje pakeistų visos baltymo grandinės krūvių persiskirstymą. Skirtingai įkrautos baltymo grandinės dalys gali skirtingai veikti netoliese esančių pigmentų sužadintųjų būsenų energijas. Todėl yra svarbu atsižvelgti į elektrostatinę sąveiką tarp baltymo dalių ir tiriamųjų pigmentų bei į galimus tokios sąveikos pasikeitimus [20].

Šio darbo tikslas – nusakyti baltyminės aplinkos elektrostatinę įtaką chlorofilo molekulių sužadintųjų elektroninių būsenų energijos lygmenų padėčiai, taip pat tarp skirtingų chlorofilų susidarantioms tarpmolekulinėms krūvio pernašos būsenoms. Darbo pagrindiniai uždaviniai buvo naudojantis kvantinės chemijos metodais pirmosios fotosistemos šviesorankos antenos subkompleksuose Lhca1–Lhca4 identifikuoti krūvio pernašos būsenas, susidarancias tarp dviejų chlorofilo molekulių vakuume aplinkoje, elektrostatškai sumodeliuoti chlorofilo dimerus supančią aplinką, sudarytą iš aplinkinių molekulių, atsižvelgiant į galimą baltymo grandinės protonaciją, bei nustatyti energijos pokytį dėl elektrostatinės aplinkos įtakos chlorofilo monomerų Q_y būsenoms ir surastoms dimerų krūvio pernašos būsenoms.

1 Teorinis įvadas

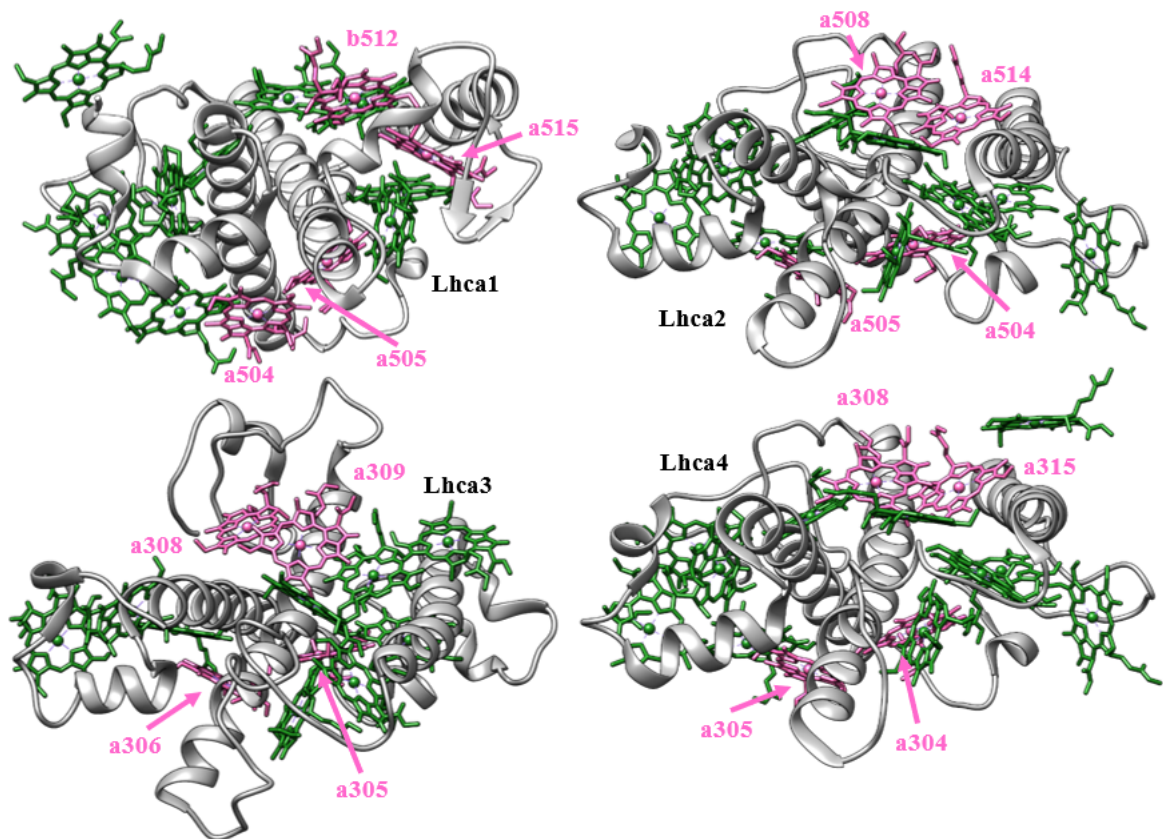
1.1 Pirmoji fotosistema ir jos šviesorankos antena

Fotosintezė yra procesas, kurio metu iš šviesos gaunama energija paverčiama į cheminę energiją. Vienas iš šiame procese dalyvaujančių baltyminių superkompleksų yra pirmoji fotosistema (PSI). Aukštesniuosiuose augaluose šis superkompleksas susideda iš dviejų pagrindinių dalių: fotosistemos branduolio ir puslankiu aplink branduolį išsidėsčiusios šviesorankos antenos [21] (žr. 1 pav.). Augaluose šis baltyminis superkompleksas turi apie 200 pigmentų (chlorofilų *a* ir chlorofilų *b* bei karotenoidų molekulių), iš kurių apie pusę yra šviesorankos komplekse LHCI [5].



1 pav. Pirmoji fotosistema ir jos šviesorankos kompleksai iš membranos liumeno pusės (PDB ID: 5L8R). Chlorofilai pažymėti žaliai, karotenoidai – oranžine spalva. Baltymo spalvos skiriasi priklausomai nuo PSI superkomplekso dalies.

PSI branduolio struktūra visuose fotosintetinančiuose organizmuose yra tokia pati, tačiau šviesorankos antenos struktūra gali skirtis. Aukštesniuosiuose augaluose ji susideda iš keturių šviesorankos kompleksų [2] (žr. 2 pav.), kuriuose šviesą sugeria ir fluorescuoja trijų rūšių pigmentai – chlorofilai *a*, chlorofilai *b* ir karotenoidai (kurie taip pat yra kelių rūšių; LHCI antenoje yra trijų rūšių karotenoidai: violaksantinas, liuteinas ir beta-karotenas). Žinoma, kad kiekviena šviesorankos antena susideda būtent iš šių keturių šviesorankos kompleksų: Lhca1, Lhca2, Lhca3 ir Lhca4. Jie visada puslankiu išsidėstę ta pačia tvarka (žr. 1 pav.), net ir keičiantis apšvietumui [22]. Visų

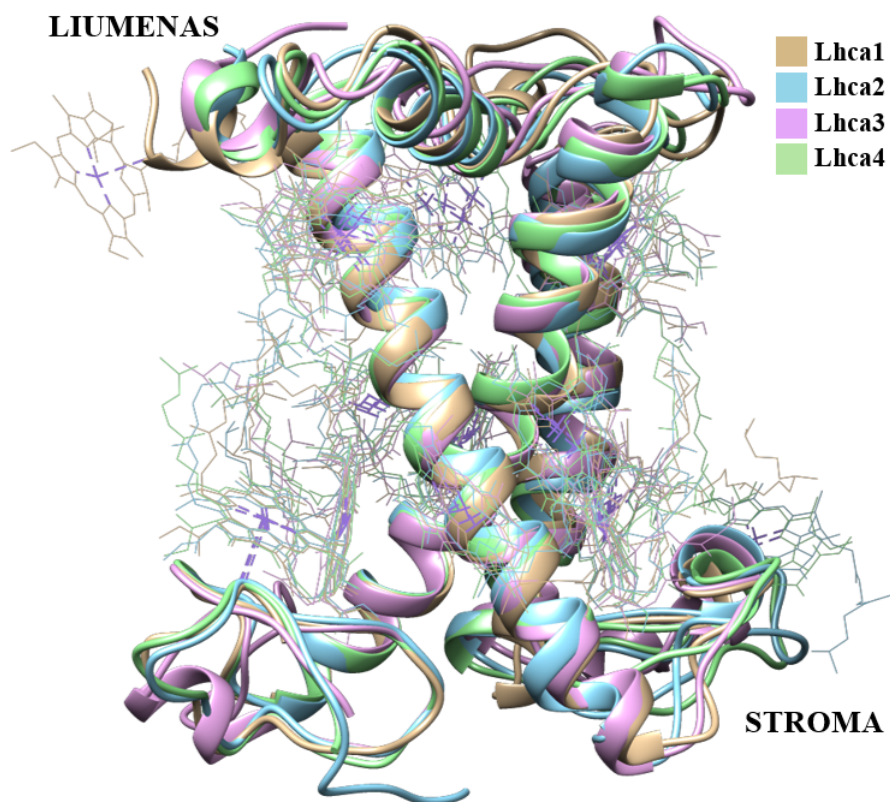


2 pav. LHCI šviesorankos antenos subkompleksų erdvinės struktūros (PDB ID: 5L8R). Baltymo grandinė pavaizduota pilkai, chlorofilai *a* ir *b* – žaliai, karotenoidai nepavaizduoti. Pavyzdiniai dimerai, kuriuose gali susidaryti krūvio pernašos būsenos, pavaizduoti rausvai.

keturių rūšių subkompleksai antenoje yra nepakeičiami: kiekvienos rūšies subkompleksas (Lhca1–Lhca4) antenoje yra tik vienas [23] ir, sukuriant mutantus, kuriems trūksta vieno ar kelių šviesorankos subkompleksų, jie nėra pakeičiami kitais subkompleksais [24–26].

Pirmosios fotosistemos šviesorankos antena (LHCI) sugeria bei fluorescuoja šviesą prie ilgiausių (lyginant su kitais kompleksais, kuriuose taip pat nėra prie dar ilgesnių bangos ilgių sugeriančių bei fluorescuojančių bakteriochlorofilo molekulių) bangos ilgių (>700 nm). Žinoma LHCI fluorescencijos spektro savybė – stebimos dvi smailės. Kurį laiką buvo manyta, kad šių smailių atsiradimą lemia dviejų skirtingų antenų buvimas (LHCI-730 ir LHCI-680), kurių viena sudaryta iš Lhca2/3 subkompleksų, o kita – Lhca1/4 subkompleksų ir lemia emisijos maksimumą ties atitinkamai 680 nm ir 730 nm bangos ilgiais [27]. Vėliau, pavykus atskirti Lhca1/4 ir Lhca2/3 heterodimerus ir išmatavus jų sugerties ir emisijos spektrus, buvo parodyta, kad abu heterodimerai pasižymi fluorescencijos smaile ties 730 nm bangos ilgiu ir kad tokia sistema kaip LHCI-680 egzistuoti negali [28]. Vadinasi, vietoje dviejų antenų, fluorescuojančių prie skirtingų bangos ilgių, LHCI šviesorankos antena susideda iš dviejų heterodimerų, kurie abu pasižymi dviguba smaile fluorescencijos spektre.

Visi keturi šviesorankos antenos subkompleksai vienas nuo kito nežymiai skiriasi savo struktūra (žr. 3 pav.). Palyginus chlorofilų bei karotenoidų erdvinį išsidėstymą baltymo grandinės atžvilgiu daugumos pigmentų pozicijos sutampa. Pagal erdvinę struktūrą galima išskirti dvi subkompleksų poras: Lhca1 ir Lhca4 bei Lhca2 ir Lhca3, kurių erdvinės struktūros yra itin panašios viena į kitą ir



3 pav. Lhca1–Lhca4 subkompleksų erdvinės struktūros, sudėtos viena ant kitos (pagal baltymo grandinę) (PDB ID: 5L8R). Chlorofilai pavaizduoti plonomis linijomis, karotenoidai nepavaizduoti.

pagal baltymo grandinės ilgį (antrosios poros subkompleksų baltymo grandinėse yra apie 80 aminorūgščių molekulių daugiau nei pirmosios poros grandinėse). Nepaisant geometrinių panašumų, subkompleksų spektrinės savybės skiriasi [11]. Rekonstruotų atskirų Lhca kompleksų fluorescencijos spektrai pasidalina į dvi grupes: kambario temperatūros Lhca1 ir Lhca2 spektruose stebima viena smailė (ties 680 nm), o Lhca3 ir Lhca4 spektruose stebima ta pati smailė ir plačią bangos ilgio juostą užimantis petys, kurio maksimumas stebimas ties maždaug 730 nm [10, 29]. Labiausiai į raudonąją spektro pusę paslinkta fluorescencijos smaile (~733 nm) iš visų keturių subkompleksų išsiskiria Lhca4 šviesorankos subkompleksas. Yra manoma, kad ši antroji smailė yra nulemta būtent krūvio pernašos būsenų susidarymo [29, 30].

Tam, kad iš sugertos šviesos būtų galima išgauti cheminę energiją, sugertų fotonų energija turi būti pernešama į fotosistemos branduolyje esančius reakcijos centrus, kur vyksta krūvių atskyrimas [11]. Šią funkciją atlieka būtent šviesorankos antena. Vienas iš būdų energijai iš antenos nukelti į reakcijos centrą yra eksitoninė sąveika tarp chlorofilo molekulių. Tokios sąveikos metu sužadėjimas yra delokalizuotas ir sužadintosios būsenos banginė funkcija yra išplitusi per sąveikaujančias molekules. Sužadėjimo pernašos dinamikai įtakos turi ir tarp dviejų arba daugiau chlorofilų ar karotenoidų susidarančios krūvio pernašos būsenos [31], kai krūvio pernašoje dalyvaujantys elektronai ir skylės priklauso skirtingoms molekulėms ir šios sąveikaujančios molekulės įgauna krūvį. Būtina sąlyga tokiai būsenai susidaryti yra sąlyginai nedidelis atstumas tarp chlorofilo molekulių.

1.2 Nestacionarioji tankio funkcionalo teorija

Tankio funkcionalo teorija yra metodas, naudojamas nustatant daugelio dalelių sistemų pagrindinę būseną ir elektroninę struktūrą. Tai yra plačiai naudojamas įrankis, padedantis išspręsti uždavinius molekuliniuose, atomo bei kietojo kūno fizikoje [32]. Nestacionarioji tankio funkcionalo teorija yra apibendrinta tankio funkcionalo teorija, kurios pagrindas yra Hohenbergo-Kono (P. Hohenberg ir W. Kohn) teorema. Tankio funkcionalo teorijos pranašios tuo, kad daugelio dalelių sistemos banginė funkcija, kuri turi $3N$ laisvės laipsnių (N – dalelių skaičius sistemoje) tampa ekvivalenti dalelių tankiui, kuris turi tik 3 laisvės laipsnius. Tuomet visa sistema gali būti aprašoma per dalelių tankį. Šiame skyrelyje metodo veikimo principas aptariamas remiantis [33–36] šaltiniais. Šis metodas taip pat buvo aptartas ir taikytas ankstesniuose mokslo tiriamuosiuose darbuose [37–39].

1.2.1 Rungės-Groso teorema

Rungės-Groso (E. Runge ir E. K. U. Gross) teorema yra nestacionariosios tankio funkcionalo teorijos pagrindas. Sistemos banginės funkcijos evoliucija yra aprašoma nestacionariąja Šriodingerio (E. Schrödinger) lygtimi:

$$\hat{H}(t)\Psi(t) = i\frac{\partial\Psi(t)}{\partial t}, \quad (1)$$

čia $\hat{H}(t)$ yra nuo laiko priklausantis Hamiltono (W. R. Hamilton) operatorius. Čia ir toliau šiame skyriuje aprašant dydžius naudojami atominiai vienetai ($e^2 = \hbar = m_e = 1$), atstumai matuojami Boro (N. Bohr) spinduliais, o energija – hartriais (D. Hartree). Kadangi turime pirmos eilės diferencialinę lygtį, kuriai išspręsti yra būtina pradinė sąlyga, tariame, kad pradinė sąlyga $\Psi(0)$ yra žinoma. Hamiltono operatorius nusako sistemos energiją, kuri šiuo atveju susideda iš trijų komponentų:

$$\hat{H}(t) = \hat{T} + \hat{V}(t) + \hat{W}, \quad (2)$$

čia dydis

$$\hat{T} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 \quad (3)$$

yra kinetinės energijos operatorius. Čia i žymi i -tosios dalelės koordinatės. Kitas hamiltoniano išraiškoje esantis dydis

$$\hat{V}(t) = \sum_{i=1}^N v_{\text{išor}}(\mathbf{r}_i, t) \quad (4)$$

aprašo dalelių (elektronų) sąveiką su išoriniu potencialu (į kurį taip pat įtraukiamas ir atomų branduolių kuriamas potencialas). Paskutinis likęs narys aprašo dalelių (elektronų) tarpusavio sąveiką:

$$\hat{W} = \frac{1}{2} \sum_{i \neq j}^N \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|}. \quad (5)$$

Čia daugiklis $1/2$ leidžia išvengti tų pačių dalelių sąveikos įtraukimo į sumavimą du kartus. Svarbu paminėti, kad naudojant tokį aprašymą, vieninteliai dydžiai, kurie priklausys nuo aprašomos sistemos, yra išorinis potencialas $v_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t)$ ir sistemoje esančių dalelių skaičius N . Visi kiti dydžiai sistemų aprašyme yra universalūs.

Sistemai evoliucionuojant laikui bėgant keičiasi jos elektronų tankis, kuris apibrėžiamas taip:

$$n(\mathbf{r}, t) = N \sum_{s_1} \cdots \sum_{s_N} \int d^3\mathbf{r}_2 \cdots \int d^3\mathbf{r}_N |\Psi(\mathbf{r}, s_1, \mathbf{r}_2, s_2, \dots, \mathbf{r}_N, s_N, t)|^2, \quad (6)$$

čia atliekamas sumavimas per elektronų sukinines koordinates. Vieno elektrono pozicija \mathbf{r} laikoma pastovia, o integruojama per likusių elektronų įmanomus erdvinius išsidėstymus. Elektronų tankis yra normuojamas į elektronų skaičių:

$$\int d^3\mathbf{r} n(\mathbf{r}, t) = N. \quad (7)$$

Jei turime N nereliatyvistinių elektronų, kurie tarpusavyje sąveikauja kulonine sąveika nuo laiko priklausančiame išoriniame potencialo, tuomet galima suformuluoti Rungės-Groso teoremą. Teorema sako, jog elektronų tankiai $n(\mathbf{r}, t)$ ir $n'(\mathbf{r}, t)$, kurie pradinio laiko momentu atitiko tą pačią būseną, kinta veikiami dviejų išorinių potencialų $v_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t)$ ir $v'_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t)$ (kuriuos abu galima skleisti Teiloro (B. Taylor) eilute pradinio laiko momento aplinkoje), jei tų potencialų skirtumas nėra lygus vien tik nuo laiko priklausančiai funkcijai $c(t)$:

$$\Delta v_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t) = v_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t) - v'_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t) \neq c(t). \quad (8)$$

Jei potencialų skirtumas yra lygus laikinei funkcijai $c(t)$, sistemų banginės funkcijos skiriasi tik per fazinį daugiklį $e^{-ic(t)}$, kuris, skaičiuojant elektronų tankį, išsiprastintų, ir tuomet abiem sistemoms gautume tokią pačią elektronų tankio evoliuciją. Vadinasi, daugelio dalelių sistemai, aprašomai bazine funkcija $\Psi(t)$, egzistuoja sąryšis tarp sistemą veikiančio potencialo ir sistemos elektronų tankio $n(\mathbf{r}, t)$, ir išorinis potencialas yra sistemos dalelių tankio funkcionalas $v_{\text{išor}}[n](\mathbf{r}, t)$. Sistemos dalelių tankis pilnai aprašo sistemos banginę funkciją ir visas kitas sistemos savybes.

1.2.2 Nestacionariosios Kono-Šemo lygtys

Kaip jau buvo minėta, daugelio kūnų sistemą aprašantis hamiltonianas (2) susideda iš trijų komponentų: dalelių kinetinės energijos, dalelių tarpusavio kuloninės sąveikos energijos ir sąveikos su išoriniu potencialu energijos. Rungės-Groso teorema galioja bet kokiam nestacionariam potencialui, vadinasi, ir tokiam, kurio dalis, aprašanti dalelių tarpusavio kuloninės sąveikos energiją (5), yra lygi nuliui. Taip galima palyginti fizikinę sąveikaujančių dalelių sistemą ir fiktyvią nesąveikaujančių dalelių sistemą, kurių dalelių tankiai $n(\mathbf{r}, t)$ yra vienodi. Naudojant Kono-Šemo (W. Kohn ir L. J. Sham) aprašymą laikoma, kad efektinis sistemos potencialas $\hat{V}_{KS}(t)$ lemia tokį patį dalelių tankį, kaip ir sąveikaujančių dalelių sistemos atveju. Tuomet sistemos Hamiltono operatorius susideda iš šio efektinio potencialo ir nesąveikaujančių dalelių sistemos kinetinės energijos operatoriaus:

$$\widehat{H}_{KS}(t) = \widehat{T} + \widehat{V}_{KS}(t). \quad (9)$$

Naudojant Kono-Šemo formalizmą N dalelių sistemos banginę funkciją galima išreikšti per jos viendalelių būsenų banginių funkcijų, kurių kiekviena yra gaunama sprendžiant pirmos eilės diferencialinę lygtį, Sleiterio (J. C. Slater) determinantą:

$$\Phi_{KS}(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(\mathbf{r}_1) & \phi_2(\mathbf{r}_1) & \cdots & \phi_N(\mathbf{r}_1) \\ \phi_1(\mathbf{r}_2) & \phi_2(\mathbf{r}_2) & \cdots & \phi_N(\mathbf{r}_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(\mathbf{r}_N) & \phi_2(\mathbf{r}_N) & \cdots & \phi_N(\mathbf{r}_N) \end{vmatrix}. \quad (10)$$

Kaip jau buvo minėta, Rungės-Groso teorema galioja ir sistemai, kurios dalelės nesąveikauja tarpusavyje, todėl ir čia sistemą veikiantis išorinis potencialas užrašomas kaip dalelių tankio funkcionalas. Uždaviniui užrašomos nestacionariosios Kono-Šemo lygtys:

$$i \frac{\partial \phi_j(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = \widehat{H}_{KS}(t) \phi_j(\mathbf{r}, t) = \left[-\frac{\nabla^2}{2} + v_{KS}[n_{KS}](\mathbf{r}, t) \right] \phi_j(\mathbf{r}, t), \quad (11)$$

čia dalelių tankis užrašomas kaip viendalelių būsenų banginių funkcijų modulių kvadratų suma:

$$n_{KS}(\mathbf{r}, t) = \sum_{j=1}^N |\phi_j(\mathbf{r}, t)|^2 \quad (12)$$

ir yra laikomas lygiu dalelių tankiui sistemoje, kurioje dalelės sąveikauja tarpusavyje (aprašomas (6) lygtimi). Sistemos potencialas turi formą, sudarytą iš trijų komponentų:

$$v_{KS}[n](\mathbf{r}, t) = v_{i\text{sor}}(\mathbf{r}, t) + v_H(\mathbf{r}, t) + v_{XC}(\mathbf{r}, t). \quad (13)$$

Čia $v_{i\text{sor}}(\mathbf{r}, t)$ yra sistemą veikiantis išorinis potencialas, $v_H(\mathbf{r}, t)$ yra Hartrio potencialas, aprašantis kuloninę sąveiką tarp dalelių:

$$v_H(\mathbf{r}, t) = \int d^3 \mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r}', t)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}, \quad (14)$$

o $v_{XC}(\mathbf{r}, t)$ yra mainų koreliacinis potencialas. Stacionariuoju atveju mainų koreliacijos potencialą galima apskaičiuoti kaip mainų koreliacijos energijos (kuri apibrėžiama kaip skirtumas tarp sistemos energijos ir sistemos, kurios dalelės nesąveikauja tarpusavyje, kinetinės bei elektronų sąveikos su branduoliais potencinės energijos sumos) funkcionalinę išvestinę dalelių krūvio atžvilgiu. Nestacionariuoju atveju mainų koreliacinis potencialas yra funkcionalas sistemos dalelių tankių $n(\mathbf{r}, t)$ visais buvusiais ir esamu laiko momentais, pradinės banginės funkcijos $\Psi(0)$ ir pradinės Kono-Šemo banginės funkcijos $\Phi_{KS}(0)$. Šio funkcionalo forma yra sudėtinga; norint ją surasti reikėtų spręsti visų kulonine sąveika susietų sistemų nestacionariųjų uždavinių.

1.2.3 Tiesinio atsako teorija

Norint nustatyti realios daugiadalelės sistemos sužadintąsias elektronines būsenas arba virpesių spektrus, nebūtina spręsti nestacionariųjų Kono-Šemo lygčių. Užtenka nagrinėti sistemos, veikiamos išoriniu potencialu (pvz. elektriniu lauku), tiesinį atsaką. Jeigu veikiantis laukas yra silpnas (neišardantis pagrindinės sistemos būsenos struktūros), jis laikomas trikdžiu, ir uždaviniui spręsti galima taikyti trikdžių teoriją.

Tarkime, kad sistema nuo laiko momento t_0 yra trikdoma išorinio lauko $v_1(\mathbf{r}, t)$, kuris yra mažas dydis ir bendru atveju priklauso nuo laiko:

$$v_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t) = \begin{cases} v_0(\mathbf{r}), & t \leq t_0, \\ v_0(\mathbf{r}) + v_1(\mathbf{r}, t), & t > t_0. \end{cases} \quad (15)$$

Čia $v_0(\mathbf{r})$ yra nesutrikdytos sistemos išorinis potencialas. Atsiradęs trikdys $v_1(\mathbf{r}, t)$ privers elektronų tankį sistemoje keistis. Daugumos fizikinių uždavinių atveju, trikdžio veikiamą dydį galima skleisti eilute:

$$n(\mathbf{r}, t) = n^{(0)}(\mathbf{r}, t) + n^{(1)}(\mathbf{r}, t) + n^{(2)}(\mathbf{r}, t) + \dots, \quad (16)$$

čia $n^{(0)}(\mathbf{r}, t)$ yra nesutrikdytos sistemos dalelių tankis, $n^{(1)}(\mathbf{r}, t)$ tiesiškai priklauso nuo trikdžio, $n^{(2)}(\mathbf{r}, t)$ turės kvadratinę priklausomybę nuo trikdžio ir t.t. Kadangi turime silpną lauką, įtakos sistemai turės tik tiesinis narys $n^{(1)}(\mathbf{r}, t)$. Dydis $n^{(1)}(\mathbf{r}, t) \approx n(\mathbf{r}, t) - n^{(0)}(\mathbf{r}, t)$ yra apibrėžiamas kaip fizikinio dydžio atsakas į trikdį. Pirmos eilės atsakas į trikdį:

$$n^{(1)}(\mathbf{r}, t) = \int dt' \int d^3\mathbf{r}' \chi(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t') v_1(\mathbf{r}', t'), \quad (17)$$

čia $\chi(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t')$ yra tankio-tankio atsako funkcija:

$$\chi(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t') = \left. \frac{\delta n[v_{\text{išor}}](\mathbf{r}, t)}{\delta v_{\text{išor}}(\mathbf{r}', t')} \right|_{v_0}. \quad (18)$$

$\chi(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t')$ funkcija nusako, kaip mažas išorinio potencialo pokytis $v_{\text{išor}}(\mathbf{r}, t)$ erdvės taške \mathbf{r}' laiko momentu t' padarys įtaką elektronų tankiui $n(\mathbf{r}, t)$ erdvės taške \mathbf{r} vėlesniu laiko momentu t . Šios funkcijos radimas naudojant trikdžių teoriją yra pakankamai sudėtingas uždavinys, tačiau galima panaudoti nestacionariosios tankio funkcionalo teorijos rezultatus siekiant supaprastinti šį uždavinį.

Remiantis Kono-Šemo teorija ir nagrinėjant nesąveikaujančių dalelių sistemą, taip pat galima aprašyti elektronų tankio pirmos eilės atsaką į trikdį:

$$n^{(1)}(\mathbf{r}, t) = \int dt' \int d^3\mathbf{r}' \chi_{\text{KS}}(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t') v_{1(\text{KS})}(\mathbf{r}', t'). \quad (19)$$

Čia $\chi_{\text{KS}}(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t')$ yra tankio-tankio atsako funkcija sistemos, kurios dalelės tarpusavyje nesąveikauja. Ją surasti yra lengviau nei sąveikaujančių dalelių sistemos atveju (18). Atliekant Furjė (J. Fourier) transformaciją ir pereinant į dažnių erdvę, tankio-tankio funkciją galima užrašyti per nesutrikdytas Kono-Šemo orbitalių bangines funkcijas ϕ_j :

$$\chi_{\text{KS}}(\mathbf{r}, \mathbf{r}', \omega) = \lim_{\eta \rightarrow 0^+} \sum_{jk}^{\infty} (f_k - f_j) \frac{\phi_j(\mathbf{r}) \phi_j^*(\mathbf{r}') \phi_k(\mathbf{r}') \phi_k^*(\mathbf{r})}{\omega - (\epsilon_j - \epsilon_k) + i\eta}. \quad (20)$$

Čia f_l yra l -tosios molekulinės orbitalės užimtumo skaičius (angl. occupation number, lygus 1, jei orbitalė užimta, ir 0, jei orbitalė neužimta), ϵ_j – orbitalę atitinkanti energija. (19) lygtyje esantis potencialas bendru atveju apima ne tik tiesinius trikdžius, nes pats netiesiškai priklauso nuo elektronų tankio $n(\mathbf{r}, t)$ (13). Tačiau šiuo atveju yra imama tik tiesinė šio potencialo dalis. (20) funkcija aprašo, kaip nesąveikaujantys elektronai Kono-Šemo sistemoje reaguotų į išorinį trikdį $v_{1(\text{KS})}(\mathbf{r}, t)$. Tiek ši, tiek ir sąveikaujančių elektronų sistemos tankio-tankio atsako funkcija (18) aprašo tokį patį elektronų tankio atsaką:

$$n^{(1)}(\mathbf{r}, t) = \int dt' \int d^3\mathbf{r}' \chi_{\text{KS}}(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t') \{v_{1(\text{išor})}(\mathbf{r}', t') + v_{1(\text{H})}(\mathbf{r}', t') + v_{1(\text{XC})}(\mathbf{r}', t')\}. \quad (21)$$

Čia $v_{1(\text{išor})}(\mathbf{r}, t)$ yra sistemą veikiančio išorinio potencialo pokytis, $v_{1(\text{H})}(\mathbf{r}, t)$ yra Hartrio potencialo pokytis:

$$v_{1(\text{H})}(\mathbf{r}, t) = \int d^3\mathbf{r}' \frac{n^{(1)}(\mathbf{r}', t)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}. \quad (22)$$

Paskutinis trikdžio narys:

$$v_{1(\text{XC})}(\mathbf{r}, t) = \int dt' \int d^3\mathbf{r}' \frac{\delta v_{\text{XC}}(\mathbf{r}, t)}{\delta n(\mathbf{r}', t')} n^{(1)}(\mathbf{r}', t') \quad (23)$$

yra mainų koreliacinio funkcionalo tiesinis narys. Jis dažnai aprašomas įsivedant mainų koreliacijos branduolį (angl. kernel):

$$f_{\text{XC}} = \left. \frac{\delta v_{\text{XC}}(\mathbf{r}, t)}{\delta n(\mathbf{r}', t')} \right|_{n^{(0)}}. \quad (24)$$

Šis dydis yra svarbus nestacionariojoje tankio funkcionalo teorijoje [40]. Žinant jį galima apskaičiuoti elektroninių sistemų sužadintąsias būsenas. Jis apima daugelio dalelių sistemos efektus ir įveda fizikinių dydžių verčių pataisas. Kadangi elektronų tankio atsakas į trikdį turi būti toks pats sistemai, kurios dalelės tarpusavyje sąveikauja (17), ir sistemai, kurios dalelės nesąveikauja (21), šias išraiškas galima sulyginti. Taip gausime pagrindinę tiesinio atsako teorijos lygtį – tankio-tankio funkciją:

$$\chi(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t') = \chi_{\text{KS}}(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}', t') + \int d\tau \int d\tau' \int d^3\mathbf{r}_1 \int d^3\mathbf{r}'_1 \chi_{\text{KS}}(\mathbf{r}, t, \mathbf{r}_1, \tau) \times \left\{ \frac{\delta(\tau - \tau')}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}'_1|} + f_{\text{XC}}(\mathbf{r}_1, \tau, \mathbf{r}'_1, \tau') \right\} \chi(\mathbf{r}'_1, \tau', \mathbf{r}', t'), \quad (25)$$

čia visi dydžiai yra $n^{(0)}(\mathbf{r}, t)$ funkcionalai.

1.2.4 Sužadintųjų būsenų energijos skaičiavimas

Elektronų šuolio iš pagrindinės būsenos į būseną j energiją galima užrašyti taip:

$$\Omega_j = \epsilon_j - \epsilon_0. \quad (26)$$

Iš (20) tankio-tankio atsako funkcijos išraiškos matoma, kad ši funkcija turi polių ties dažniais, kurie atitinka sąveikaujančios sistemos sužadintąsias energijas. Taigi uždavinys susiveda į šių polių suradimą. Kasida (M. E. Casida) parodė [41], kad polių suradimas yra ekvivalentus tikrinių verčių uždaviniui ir kad jį galima užrašyti naudojant matricinį užrašymą.

(20) perrašome taip:

$$\chi_{KS}(\mathbf{r}, \mathbf{r}', \omega) = \sum_{i,a} \left(\frac{\phi_a(\mathbf{r})\phi_i(\mathbf{r}')\phi_i^*(\mathbf{r})\phi_a^*(\mathbf{r}')}{\omega - (\epsilon_a - \epsilon_i)} - \frac{\phi_i(\mathbf{r})\phi_a(\mathbf{r}')\phi_a^*(\mathbf{r})\phi_i^*(\mathbf{r}')}{\omega + (\epsilon_a - \epsilon_i)} \right), \quad (27)$$

čia indeksu i sumuojama per užimtas orbitales (i įgyja vertes nuo 1 iki N), o a indeksu sumuojama per pilno bazinių funkcijų rinkinio virtualias orbitales (a įgyja vertes nuo $N + 1$ iki ∞). Įsivedame žymėjimus:

$$P_{ai}(\omega) = \frac{\int \phi_i(\mathbf{r}')\phi_a^*(\mathbf{r}')v_{1(KS)}(\mathbf{r}', \omega)d^3\mathbf{r}'}{\omega - (\epsilon_a - \epsilon_i)}, \quad (28)$$

$$P_{ia}(\omega) = \frac{\int \phi_a(\mathbf{r}')\phi_i^*(\mathbf{r}')v_{1(KS)}(\mathbf{r}', \omega)d^3\mathbf{r}'}{-(\omega - (\epsilon_a - \epsilon_i))}. \quad (29)$$

Tiesinį tankio atsaką į trikdį galima užrašyti kaip:

$$n^{(1)}(\mathbf{r}, \omega) = \sum_{i,a} \phi_a(\mathbf{r})\phi_i^*(\mathbf{r})P_{ai}(\omega) + \phi_i(\mathbf{r})\phi_a^*(\mathbf{r})P_{ia}(\omega). \quad (30)$$

Lygtis (28) ir (29) galima pertvarkyti:

$$(\omega - (\epsilon_a - \epsilon_i))P_{ai}(\omega) = \int \phi_i(\mathbf{r}')\phi_a^*(\mathbf{r}')v_{1(KS)}(\mathbf{r}', \omega)d^3\mathbf{r}', \quad (31)$$

$$(\omega + (\epsilon_a - \epsilon_i))P_{ia}(\omega) = - \int \phi_a(\mathbf{r}')\phi_i^*(\mathbf{r}')v_{1(KS)}(\mathbf{r}', \omega)d^3\mathbf{r}'. \quad (32)$$

Hartrio ir mainų koreliacijos potencialus galima sutraukti į vieną narį:

$$f_{HXC}(\mathbf{r}, \mathbf{r}', \omega) = \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + f_{XC}(\mathbf{r}, \mathbf{r}', \omega). \quad (33)$$

Sistemą veikiančio trikdžio matriciniai elementai:

$$v_{ai}(\omega) = \int \phi_i(\mathbf{r})v_1(\mathbf{r}, \omega)\phi_a^*(\mathbf{r})d^3\mathbf{r} \quad (34)$$

ir (33) išraiškos matriciniai elementai:

$$K_{kl,mn}(\omega) = \int \int \phi_k(\mathbf{r})\phi_l^*(\mathbf{r})f_{HXC}(\mathbf{r},\mathbf{r}',\omega)\phi_m(\mathbf{r}')\phi_n^*(\mathbf{r}')d^3\mathbf{r}d^3\mathbf{r}'. \quad (35)$$

Šios dvi lygtys kartu su (30) ir (31) lygtimis sudaro tankio tiesinio atsako funkcijos matricinę formą:

$$(\omega - (\epsilon_a - \epsilon_i))P_{ai}(\omega) = v_{ai}(\omega) + \sum_{j,b} (P_{bj}(\omega)K_{ai,bj}(\omega) + P_{jb}(\omega)K_{ai,bj}(\omega)) \quad (36)$$

arba kitaip:

$$\sum_{j,b} \{ [\delta_{ij}\delta_{ab}(\epsilon_a - \epsilon_i - \omega) + K_{ai,bj}(\omega)] P_{bj}(\omega) + K_{ai,bj}(\omega)P_{jb}(\omega) \} = -v_{ai}(\omega). \quad (37)$$

Vietoje (31) lygties galima naudoti ir (32), tuomet gautume:

$$\sum_{j,b} \{ [\delta_{ij}\delta_{ab}(\epsilon_a - \epsilon_i + \omega) + K_{ai,bj}(\omega)] P_{jb}(\omega) + K_{ai,bj}(\omega)P_{bj}(\omega) \} = -v_{ia}(\omega). \quad (38)$$

Atlikus žymėjimo pakeitimus visiems nariams, esantiems (37) ir (38) lygtyse ($X_{jb}(\omega) = P_{jb}(\omega)$, $Y_{jb}(\omega) = P_{bj}(\omega)$, $A_{ia,jb}(\omega) = \delta_{ij}\delta_{ab}(\epsilon_a - \epsilon_i) + K_{ai,jb}(\omega)$, $B_{ia,jb}(\omega) = K_{ia,bj}(\omega)$, $Q_{ia}(\omega) = -v_{ai}(\omega)$, $R_{ia}(\omega) = -v_{ia}(\omega)$), šias lygtis galime perrašyti patogesne forma:

$$\left[\begin{pmatrix} A(\omega) & B(\omega) \\ B^*(\omega) & A^*(\omega) \end{pmatrix} - \omega \begin{pmatrix} -1 & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \right] \begin{pmatrix} X(\omega) \\ Y(\omega) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} Q(\omega) \\ R(\omega) \end{pmatrix}. \quad (39)$$

Tai yra Kasidos lygtis. Lygtį galima perrašyti ir kita forma. Tam imame (39) išraiškos lygčių sumą ir skirtumą; atitinkamai gauname:

$$(A + B)(Y + X)_q = \Omega_q(Y - X)_q \quad (40)$$

ir

$$(A - B)(Y - X)_q = \Omega_q(Y + X)_q. \quad (41)$$

Čia indeksas q nurodo tikrinio vektoriaus numerį. Sprendžiama lygčių sistema:

$$(A - B)(A + B)(Y + X)_q = \Omega_q^2(Y + X)_q, \quad (42)$$

kurią trumpiau galima užrašyti kaip:

$$WF_q = \Omega_q^2 F_q. \quad (43)$$

Matricos W tikrinės vertės ir bus sužadintųjų būsenų energijos kvadratai. Apskaičiavus tikrinius vektorius galima surasti ir osciliatorių stiprius.

1.2.5 CAM-B3LYP hibridinis funkcionalas

Kaip jau buvo minėta, nestacionariuoju atveju mainų koreliacinio potencialo $v_{XC}(\mathbf{r}, t)$ forma yra nežinoma. Šis dydis yra reikšmingas, nes aprašo visus nežinomus daugelio kūnų sistemos kuriamus efektus. Tam, kad skaičiavimus būtų galima atlikti, yra įsivedami apytikriai funkcionalai. Tokių skaičiavimų tikslumas vėliau gali būti tikrinamas lyginant su eksperimentiniais duomenimis.

Vienas būdas įsivesti tokius funkcionalus – naudoti hibridinius funkcionalus. Jie paprastai yra sudaromi iš žinomų apskaičiuotų išraiškų (pvz. iš gautų naudojant Hartrio-Foko metodą) bei įsivedant papildomus parametrus iš *ab initio* skaičiavimų arba empiriškai aproksimuojant. Vienas iš dažniausiai naudojamų hibridinių funkcionalų – B3LYP (angl. Becke, 3-parameter, Lee–Yang–Parr) [42]. Tačiau yra žinoma, kad jis ne visai gerai tinka sužadintųjų būsenų energijų skaičiavimui taikant nestacionariąją tankio funkcionalo teoriją [43,44], todėl šiame darbe buvo pasirinkta naudoti CAM-B3LYP (angl. Coulomb-attenuating method-Becke, 3-parameter, Lee–Yang–Parr) hibridinį funkcionalą.

Šis funkcionalas turi hibridines B3LYP funkcionalo savybes ir yra papildytas tolimosios sąveikos pataisa elektronų stūmos nariui, kuri skiriasi nuo B3LYP ilgų nuotolių pataisos parametrais α ir β :

$$\frac{1}{r_{12}} = \frac{1 - [\alpha + \beta \operatorname{erf}(\mu r_{12})]}{r_{12}} + \frac{\alpha + \beta \operatorname{erf}(\mu r_{12})}{r_{12}}. \quad (44)$$

Čia $\operatorname{erf}(\mu r_{12})$ yra standartinė paklaidos funkcija, $r_{12} = |\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|$ yra elektronų koordinatinių vektorių skirtumo modulis, μ parametras nurodo, kuris lygties narys dominuos: pirmasis dešinės pusės narys įskaito artimo nuotolio sąveikas, o antrasis – tolimojo nuotolio. Parametrai α ir β apibrėžti režiuose $0 \leq \alpha + \beta \leq 1$, $0 \leq \alpha \leq 1$ ir $0 \leq \beta \leq 1$. Literatūroje pateikiamos šių parametrų vertės $\alpha = 0,19$ ir $\beta = 0,46$ ($\alpha + \beta = 0,65$) bei parametro μ vertė $\mu = 0,33$ [42], su kuriomis gaunami tiksliausi rezultatai (lyginant su kitų metodų rezultatais). Mainų koreliacijos funkcionalas nestacionariojoje tankio funkcionalo teorijoje apibrėžiamas kaip:

$$E_x = -\frac{1}{2} \sum_{\sigma} \int n_{\sigma}^{4/3} K_{\sigma} d^3\mathbf{r}. \quad (45)$$

Čia sumuojama per elektronų sukinius σ , o K_{σ} yra bedimensis parametras [45], kuris atkuria lokalaus sukinių tankio aproksimaciją pastoviam tankiui (angl. local spin density approximation, LSDA). Jo vertė $K_{\sigma} = 3 \left(\frac{3}{4\pi}\right)^{1/3}$. Siekiant įtraukti artimųjų sąveikų dalį į mainų koreliaciją, (45) galima perrašyti:

$$E_x^{sr} = -\frac{1}{2} \sum_{\sigma} \int n_{\sigma}^{4/3} K_{\sigma} \left\{ 1 - \frac{8}{3} a_{\sigma} \left[\sqrt{\pi} \operatorname{erf} \left(\frac{1}{2a_{\sigma}} \right) + 2a_{\sigma} (b_{\sigma} - c_{\sigma}) \right] \right\} d^3\mathbf{r}, \quad (46)$$

čia dydžiai a_{σ} , b_{σ} ir c_{σ} lygūs:

$$a_{\sigma} = \frac{\mu \sqrt{K_{\sigma}}}{6\sqrt{\pi} n_{\sigma}^{1/3}}, \quad (47)$$

$$b_\sigma = \exp\left(-\frac{1}{4a_\sigma^2}\right) - 1, \quad (48)$$

$$c_\sigma = 2a_\sigma^2 b_\sigma + \frac{1}{2}. \quad (49)$$

Dalis, aprašanti tolimąsias sąveikas, išreiškiamas per Hartrio-Foko (V. Fock) metodo mainų integralą:

$$E_x^{lr} = -\frac{1}{2} \sum_{\sigma,i,j} \int \int \phi_{i\sigma}^*(\mathbf{r}_1) \phi_{j\sigma}^*(\mathbf{r}_1) \frac{\text{erf}(\mu r_{12})}{r_{12}} \phi_{i\sigma}(\mathbf{r}_2) \phi_{j\sigma}(\mathbf{r}_2) d^3\mathbf{r}_1 d^3\mathbf{r}_2. \quad (50)$$

Čia $\phi_{i\sigma}$ yra i -toji molekulinė orbitalė su sukiniu σ . Sumuojama per visas užimtas orbitales i ir j . CAM-B3LYP funkcionalas gaunamas sudėjus žinomus Bekės 1988 (angl. Becke 1988) [46] ir Hartrio-Foko metodo mainų funkcionalus su atitinkamais svoriniais daugikliais α ir β bei parametru μ , kuris nurodo, kaip vyksta perėjimas nuo vieno funkcionalo prie kito. Visi trys parametrai naudojami (44) lygtyje.

1.3 Struktūrinis baltymo ir pigmentų modeliavimas

Siekiant įskaityti aplinkos (baltymo grandinės bei kitų pigmentų) daromą įtaką tiriamųjų dimerų krūvio pernašos būsenų energijoms, buvo pasirinkta naudoti [47] aprašytą metodiką. Tiriamieji dimeriai ir aplinkos elementai (baltymas, kiti chlorofilai ir karotenoidai) yra laikomi pavieniais sistemos blokais. Taria, kad blokai yra vienas kito veikiami kulonine sąveika. Laikoma, kad tiriamasis dimeras m yra aprašomas bangine funkcija $|A_a^{(m)}\rangle$, čia a nurodo dimero elektroninę būseną. Šis dimeras yra apsuptas $N - 1$ likusių aplinkos blokų. Aplinkos blokus aprašo banginės funkcijos $|B_b^{(\eta)}\rangle$, čia $\eta = 1, \dots, N - 1$ nurodo aplinkos bloką, o b nurodo bloko elektroninę būseną. Banginės funkcijos tenkina stacionariąsias Šriodingerio lygtis:

$$\widehat{H}_A^{(m)} |A_a^{(m)}\rangle = E_A^{(m)} |A_a^{(m)}\rangle; \quad (51)$$

$$\widehat{H}_B^{(\eta)} |B_b^{(\eta)}\rangle = F_b^{(\eta)} |B_b^{(\eta)}\rangle.$$

Čia $\widehat{H}_A^{(m)}$ ir $\widehat{H}_B^{(\eta)}$ yra izoliuotų sistemos blokų Hamiltono operatoriai, $E_A^{(m)}$ yra tiriamojo dimero energija, o $F_b^{(\eta)}$ – aplinkos bloko η energija. Bendras sistemos hamiltonianas:

$$\widehat{H} = \widehat{H}_A^{(m)} + \sum_{\eta} \widehat{H}_B^{(\eta)} + \sum_{\eta} \widehat{V}_{AB}^{(m,\eta)} + \frac{1}{2} \sum_{\eta \neq \eta'} \widehat{V}_{BB}^{(\eta,\eta')}. \quad (52)$$

Čia $\widehat{V}_{AB}^{(m,\eta)}$ aprašo kuloninę sąveiką tarp tiriamojo dimero ir η aplinkos bloko, o $\widehat{V}_{BB}^{(\eta,\eta')}$ – sąveiką tarp dviejų aplinkos blokų η ir η' . Taria, kad tarp blokų nevyksta elektronų mainai, tuomet sistemos bangines funkcijas galima apjungti per Hartrio sandaugą:

$$|\psi_{ab}^{(m)}\rangle = |A_a^{(m)}\rangle \prod_{\eta} |B_b^{(\eta)}\rangle. \quad (53)$$

Tuomet Šriodingerio lygtis sistemos banginei funkcijai yra:

$$\left(\widehat{H}_A^{(m)} + \sum_{\eta} \widehat{H}_B^{(\eta)} \right) \left| \psi_{ab}^{(m)} \right\rangle = \left(E_A^{(m)} + F_b \right) \left| \psi_{ab}^{(m)} \right\rangle. \quad (54)$$

Čia $\mathbf{b} = b_1, b_2, \dots, b_{\eta}, \dots$ sutrumpintai žymi aplinkos elektronines būsenas. Pasitelkiant (53) ir (54) lygtis galima nustatyti, koks tiriamojo dimero energijos poslinkis $\Delta E_a^{(m)}$ bus gaunamas įskaičius kuloninę sąveiką tarp sistemos blokų, aprašytą (52) lygties paskutiniais dviem nariais. Pasitelkus trikdžių teoriją, energijos poslinkis dėl kuloninės sąveikos (iki antros eilės) gali būti skleidžiamas taip:

$$\Delta E_a^{(m)} = \left\langle \psi_{a\mathbf{0}}^{(m)} \left| \widehat{V} \right| \psi_{a\mathbf{0}}^{(m)} \right\rangle - \sum_{c,b} \frac{\left| \left\langle \psi_{a\mathbf{0}}^{(m)} \left| \widehat{V} \right| \psi_{cb}^{(m)} \right\rangle \right|^2}{E_c^{(m)} - E_a^{(m)} + F_b - F_{\mathbf{0}}}. \quad (55)$$

Indeksas $\mathbf{0} = 0, 0, \dots$ nurodo, kad visi aplinkos blokai yra pagrindinėje energijos būsenoje. Suma, pažymėta štrichu, nurodo, kad sumuojama tik per nediagonaluosius \widehat{V} matricos elementus.

Šuolio tarp pagrindinės ir s sužadintosios būsenos energija aprašoma:

$$E_s^{(m)} = E_0^{(m)} + \Delta E_s^{(m)} - \Delta E_0^{(m)}. \quad (56)$$

Čia $E_0^{(m)}$ yra šuolio tarp pagrindinės ir s sužadintos būsenos energija izoliuotam pigmentui m , o $\Delta E_s^{(m)}$ ir $\Delta E_0^{(m)}$ yra atitinkamų būsenų energijos poslinkiai dėl kuloninės sąveikos su dimerą supančia aplinka. Pigmento m elektroninių būsenų a energijos poslinkis nustatomas apskaičiuojant Kulono sąveikos matricos elementus, aprašytus (55) lygtimi:

$$\begin{aligned} \Delta E_a^{(m)} = & \sum_{\eta} \left\langle A_a^{(m)} B_0^{(\eta)} \left| \widehat{V}_{AB}^{(m,\eta)} \right| A_a^{(m)} B_0^{(\eta)} \right\rangle + \sum_{\eta, \eta'}^{\eta > \eta'} \left\langle B_0^{(\eta')} B_0^{(\eta)} \left| \widehat{V}_{BB}^{(\eta, \eta')} \right| B_0^{(\eta')} B_0^{(\eta)} \right\rangle \\ & - \sum_{\eta, b} \frac{\left| \left\langle A_a^{(m)} B_0^{(\eta)} \left| \widehat{V}_{AB}^{(m,\eta)} \right| A_a^{(m)} B_b^{(\eta)} \right\rangle \right|^2}{F_b^{(\eta)} - F_0^{(\eta)}} - \sum_{c, \eta, b} \frac{\left| \left\langle A_a^{(m)} B_0^{(\eta)} \left| \widehat{V}_{AB}^{(m,\eta)} \right| A_c^{(m)} B_b^{(\eta)} \right\rangle \right|^2}{E_c^{(m)} - E_a^{(m)} + F_b^{(\eta)} - F_0^{(\eta)}}, \end{aligned} \quad (57)$$

kurioje pirmasis dešinės pusės narys aprašo Kulono sąveiką tarp dimero m būsenos a ir aplinkos bloko η pagrindinės būsenos krūvio tankių, antrasis – Kulono sąveiką tarp aplinkos blokų η ir η' pagrindinės būsenos krūvio tankių, trečiasis – Kulono sąveiką tarp dimero m būsenos a krūvio tankio ir bloko η pernašos iš pagrindinės būsenos į b sužadintąją būseną krūvio tankio, o ketvirtasis narys aprašo Kulono sąveiką tarp pastarojo pernašos krūvio tankio ir dimero m pernašos iš būsenos a į būseną c krūvio tankio. Anot literatūros [48], kuloninę sąveiką tarp molekulių galima aprašyti kaip sistemos krūvio tankio sąveiką su aplinkos elektrostatiniu potencialu. Šį potencialą galima apksimuoti daliniais atominiais krūviais kiekvienai molekulei. Tuomet Kulono sąveikos matriciniai elementai gali būti aprašomi per šių dalinių atominių krūvių kuloninę sąveiką:

$$\left\langle A_a^{(m)} B_0^{(\eta)} \left| \widehat{V}_{AB}^{(m,\eta)} \right| A_c^{(m)} B_b^{(\eta)} \right\rangle = \sum_{I,J} \frac{q_I^{(m)}(a,c) q_J^{(\eta)}(0,b)}{\left| \mathbf{R}_I^{(m)} - \mathbf{R}_J^{(\eta)} \right|}. \quad (58)$$

Čia $q_I^{(m)}(a,c)$ ir $q_J^{(\eta)}(0,b)$ yra atitinkamai I -tojo dimero atomo ir J -tojo aplinkos bloko atomo krūviai, kurie yra atitinkamai taškuose $\mathbf{R}_I^{(m)}$ ir $\mathbf{R}_J^{(\eta)}$. Atominiai krūviai yra nustatomi aproksimuojant izoliuotų blokų krūvių tankių, apskaičiuotų kvantinės chemijos metodais, kuriamą potencialą (žr. skyrelį 1.3.2).

1.3.1 CDC metodas

Naudojant CDC metodą (angl. charge density coupling method) [49], (57) lygtyje išreikštai įskaitomos tik pirmosios eilės pataisos. Į aukštesnės eilės narius yra iš dalies atsižvelgiama padalinant Kulono matricos elementus iš efektinės dielektrinės konstantos ϵ_{eff} taip keičiant kuloninės sąveikos tarp dalinių atominių krūvių vertę. Tuomet, pagal (56) lygtį, dimero m šuolio energija aprašoma:

$$\begin{aligned} E_m &= E_0 + \frac{1}{\epsilon_{\text{eff}}} \sum_{\eta} \left(\left\langle A_s^{(m)} B_0^{(\eta)} \left| \widehat{V}_{AB}^{(\eta)} \right| A_s^{(m)} B_0^{(\eta)} \right\rangle - \left\langle A_0^{(m)} B_0^{(\eta)} \left| \widehat{V}_{AB}^{(\eta)} \right| A_0^{(m)} B_0^{(\eta)} \right\rangle \right) \\ &= E_0 + \frac{1}{\epsilon_{\text{eff}}} \sum_I \sum_{\eta,J} \frac{\left(q_I^{(m)}(s,s) - q_I^{(m)}(0,0) \right) q_J^{(\eta)}(0,0)}{\left| \mathbf{R}_I^{(m)} - \mathbf{R}_J^{(\eta)} \right|}. \end{aligned} \quad (59)$$

Čia $q_I^{(m)}(s,s)$ ir $q_I^{(m)}(0,0)$ yra atitinkamai sužadintosios ir pagrindinės dimero būsenos daliniai krūviai, apskaičiuoti vakuumo aplinkoje. $q_J^{(\eta)}(0,0)$ yra tiriamąjį dimerą supančių pigmentų ir baltymo daliniai krūviai. Pigmentų daliniai krūviai apskaičiuojami taip pat, kaip ir tiriamojo dimero. Baltymo daliniai krūviai paimti iš molekulių mechanikos jėgos laukų (CHARMM [50, 51]) skaičiavimų.

1.3.2 Atominių krūvių nustatymas CHELPG metodu

CHELPG metodas (angl. charges from electrostatic potentials using a grid-based method) yra atominių krūvių apskaičiavimo būdas, kai atominiai krūviai yra paskirstomi molekulėje taip, kad kiekviename parinktame erdvės taške atkartotų elektrostatinį molekulės potencialą, apskaičiuotą naudojant atomines bangines funkcijas [52]. Naudojant šį metodą, tiriamoji molekulė yra atskiriama nuo aplinkos uždarančią ją „apvalkalą“, kur aproksimacijai naudojami aplinkos taškai yra išdėstomi erdvėje aplink molekulę. Numatytasis atstumas tarp taškų yra 0,3 Å, tačiau skaičiuojant atstumas gali būti keičiamas priklausomai nuo molekulės. Aplinkos taškai nuo bet kurio molekulės atomo branduolio yra išdėstomi ne mažesniu atstumu nei to atomo van der Valso (J. D. van der Waals) spindulys, tačiau ne didesniu atstumu nuo bet kurio atomo branduolio nei 2,8 Å.

Nustatant molekulės dalinių krūvių vertes ir pozicijas, tikslo funkcija atrodo taip:

$$D(q_1, q_2, \dots, q_N) = \sum_i [V_q(\mathbf{r}_i) - V(\mathbf{r}_i)]^2. \quad (60)$$

Čia V_q yra atominių dalinių krūvių kuriamas elektrostatinis potencialas, V yra elektrostatinis potencialas, apskaičiuotas naudojant atomines bangines funkcijas, \mathbf{r}_i yra aproksimacijos taško i koordinatinių vektorius, o q rinkinys yra taškiniai krūviai, kurių pozicijos yra aproksimacijos centrai (kurie nebūtinai yra atominiai daliniai krūviai). Galima parodyti, kad tikslo funkcijos (60) minimumo paiešką (išlaikant pilną molekulės krūvį q_{tot} nepakitusį) galima suvesti į matricinę lygtį:

$$\mathbf{A}\mathbf{q} = \mathbf{B}, \quad (61)$$

kurią išreikštai galima užrašyti taip:

$$\begin{bmatrix} A_{11} & A_{12} & \cdots & A_{1N} & -1 \\ A_{21} & A_{22} & \cdots & A_{2N} & -1 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ A_{M1} & A_{M2} & \cdots & A_{MN} & -1 \\ 1 & 1 & \cdots & 1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} q_1 \\ q_2 \\ \vdots \\ q_N \\ \lambda \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} B_1 \\ B_2 \\ \vdots \\ B_N \\ q_{\text{tot}} \end{bmatrix}. \quad (62)$$

Čia

$$\mathbf{A}_{A,B} = \sum_i \frac{2}{r_{iA}r_{iB}}, \quad \mathbf{B}_A = \sum_i \frac{2V(\mathbf{r}_i)}{r_{iA}}, \quad q_{\text{tot}} = \sum_N q_N. \quad (63)$$

Indeksai A ir B žymi dalinius krūvius, M – molekulę supančių erdvės taškų skaičių, o N – molekulės atomų (arba taškinių krūvių) skaičius. Sumavimas per indeksą i atitinka sumavimą per erdvės taškus. Reikalingas dydis yra vektorius \mathbf{q} – taškinių krūvių vertės. Jis apskaičiuojamas paprastu būdu: $\mathbf{q} = \mathbf{A}^{-1}\mathbf{B}$, čia \mathbf{A}^{-1} žymi pseudoatvirkštinę matricą \mathbf{A} . Lagranžo daugiklis λ užtikrina, kad gautų dalinių krūvių verčių suma atitiks bendrą molekulės krūvį q_{tot} .

1.3.3 Baltymo protonacijos nustatymas

Baltymai yra sudaryti iš aminorūgščių molekulių, susijungusių tarpusavyje peptidiniu ryšiu [53]. Nors gamtoje egzistuoja šimtai aminorūgščių molekulių, tik 20 jų yra reikalingos baltymo grandinei sudaryti [54]. Visos šios molekulės yra panašios tuo, kad yra sudarytos iš amino grupės (NH_2), karboksilo grupės (COOH) ir šoninio radikalo (angl. side chain), kuris kiekvienos rūšies molekulei yra vis kitoks. Peptidinis ryšys susidaro amino grupei susijungiant su kitos molekulės karboksilo grupe (išsiskiria vandens molekulė). Taip aminorūgštys susijungia į baltyminę grandinę. Šios grandinės galuose yra aminorūgščių molekulės, vadinamos N galu (angl. N-terminus) ir C galu (angl. C-terminus), priklausomai nuo to, kokią peptidinio ryšio nesudariusią grupę molekulė turi: N galas turi laisvą amino grupę, o C galas – karboksilo grupę.

Aminorūgščių molekulės yra skirstomos į rūgščių, bazinių ir neutraliųjų. Tokia klasifikacija paremta molekulės šoninio radikalo rūgštinių-bazinių savybių. Kai kurios aminorūgščių grupės yra labiau linkusios sąveikauti su aplinka, t.y. lengviau prisijungia arba atiduoda protoną į aplinką.

Toks aminorūgščių tipas yra vadinamas lengvai protonuojamomis (angl. titratable) aminorūgščių molekulėmis. Į šią molekulių grupę įeina: asparatas (Asp), glutamas (Glu), cisteinas (Cys), tirozinas (Tyr), lizinas (Lys), argininas (Arg) ir histidinas (His). Priklausomai nuo to, ar šios molekulės turi protoną žinomoje protonacijos vietoje, keičiasi krūvio pasiskirstymas visoje baltyminėje sistemoje bei sistemos atomų dalinių krūvių vertės [47]. Todėl nustatant baltyminės struktūros krūvius yra svarbu žinoti galimus sistemos protonavimo variantus ir pasirinkti labiausiai tikėtiną.

Tiriamuojuje LHCI struktūroje yra visų 7 rūšių lengvai protonuojamos aminorūgštys. Asparatas, glutamas, cisteinas ir tirozinas turi rūgštinį šoninį radikalą ir gali lengvai atiduoti protoną į aplinką:



Tokios reakcijos pusiausvyros konstanta, aprašanti rūgšties stiprumą tirpale [55], yra lygi:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (65)$$

Čia laužtiniai skliaustai žymi atitinkamų dalių koncentraciją. Pagal šią reakciją galima išvesti Hendersono-Haselbalcho (L. J. Henderson ir K. A. Hasselbalch) lygtį, kuri aprašo tirpalo pH, rūgšties disociacijos konstantos ir rūgšties ir jos konjuguotos bazės (deprotonuotos rūgšties) koncentracijų santykį:

$$pH = pK_a + \lg \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (66)$$

Čia pK_a yra rūgšties disociacijos konstantos dešimtainis logaritmas, o $[A^-]$ ir $[HA]$ yra atitinkamai konjuguotos bazės ir rūgšties koncentracijos tirpale.

Lizinas, argininas ir histidinas turi bazinį šoninį radikalą. Šios aminorūgštys yra linkusios prisijungti protoną iš aplinkos. Atitinkamai perrašius reakciją ir tokios reakcijos pusiausvyros konstantą, Hendersono-Haselbalcho lygtis bazinėms aminorūgščių grupėms yra:

$$pH = pK_b - \lg \frac{[BH^+]}{[B]} \quad (67)$$

Jei asociacijos ir disociacijos reakcijų pusiausvyros konstantos bei aplinkos pH yra žinomi, remiantis šiomis lygtimis galima nustatyti labiausiai tikėtiną kiekvienos lengvai protonuojamos aminorūgšties, o tuomet ir visos baltymo grandinės protonacijos būseną. Taigi, rūgštinės aminorūgščių grupės yra pilnai protonuotos, jei skirtumas tarp pH ir pusiausvyros konstantos yra mažiau už nulį, ir pilnai deprotonuotos, jei minėtasis skirtumas yra daugiau už nulį (bazinėms aminorūgštims galioja atvirkščia taisyklė).

2 Baltyminės aplinkos elektrostatinės įtakos chlorofilų sužadintosioms būsenoms nustatymo metodika

LHCI molekulinė struktūra buvo gauta iš aukštos erdvinės skyros ($2,6\text{\AA}$) pirmojo šviesorankos komplekso struktūros [21] (PDB ID: 5L8R). Keturi šviesorankos subkompleksai buvo iškirpti naudojant USCF Chimera programinę įrangą [56]. Siekiant nustatyti, tarp kurių chlorofilų LHCI šviesorankos antenoje gali susidaryti krūvio pernašos būsenos, pirmiausia buvo apskaičiuojamas atstumas tarp visų chlorofilo molekulių. Žinoma, kad nedidelis atstumas tarp pigmentų yra būtina sąlyga stipriai jų sąveikai [11]. Kadangi iš daugiau nei šimto atomų sudarytos molekulės negalima laikyti materialiuoju tašku, įvertinimui naudojamas atstumas tarp chlorofilų porfirino žieduose esančių magnio atomų [57].

Atrinkti chlorofilai buvo iškerpami iš pirmosios fotosistemos erdvinės struktūros naudojant USCF Chimera programinę įrangą [56]. Chlorofilų struktūros buvo papildytos trūkstamais vandenilio atomais naudojant GaussView programinę įrangą [58]. Ankstesniame mokslo tiriamajame darbe buvo parodyta [37], kad chlorofilo fitilo uodegos pašalinimas, kaip nurodyta literatūroje [59], nedaro įtakos chlorofilo energijai, tačiau sutrumpina kvantinės chemijos skaičiavimų trukmę 2–3 kartus. Todėl šiame darbe visiems atrinktiems chlorofilams fitilo grupė buvo pakeista metilo grupe. Naudojantis Gaussian programiniu paketu [60] buvo optimizuojamos visų atrinktų chlorofilų geometrijos. Optimizuojant naudotas tankio funkcionalo metodas su CAM-B3LYP hibridiniu funkcionalu ir 6-31G(d) bazinių funkcijų rinkiniu. Dvylikai chlorofilų atliekant geometrijos optimizavimą fitilo uodega, nors ir gerokai sutrumpinta, smarkiai pakeisdavo savo padėtį ir per daug priartėdavo prie aplinkinių molekulių (nors geometrijos optimizavimas vykdytas vakuume, tačiau šis efektas pasimatydavo optimizuotos geometrijos chlorofilą grąžinus atgal į komplekso struktūrą), todėl reikėjo užšaldyti dvisienius kampus fitilo uodegoje. Tokia modifikacija buvo atlikta chlorofilams a508, a510 ir b514 Lhca1 struktūroje; a506, a507 ir a511 Lhca2 struktūroje; a306, a307 ir b314 Lhca3 struktūroje; a306, a309 ir a315 Lhca4 struktūroje. Optimizuotos geometrijos chlorofilai, tarp kurių buvo išmatuotas nedidelis Mg-Mg atstumas, „suporuojami“ dimerais, taip, kad jų porfirino žiedo padėtys atitiktų realias padėtis LHCI šviesorankos antenoje. Tokioje padėtyje skaičiuojamos kiekvieno dimero sužadintųjų būsenų energijos.

Dimero energijos spektrai buvo skaičiuojami naudojant Gaussian programinį paketą [60]. Siekiant nustatyti, ar sužadintoji būsena gali būti krūvio pernašos būsena, buvo tiriami dimero sužadintųjų būsenų statiniai ir šuolio iš pagrindinės būsenos dipoliniai momentai [61] bei Miulikeno (R. S. Mulliken) dalinių krūvių suma [62].

Siekiant įskaityti aplinkinių molekulių įtaką minėtosioms chlorofilų dimerų būsenoms, buvo išnagrinėta pirmosios fotosistemos šviesorankos antena. Laikyta, kad visų keturių subkompleksų aplinka yra sudaryta iš trijų pagrindinių dalių: baltymo grandinės, karotenoidų ir likusių pavienių chlorofilų. Iš LHCI struktūroje esančių junginių buvo pašalintas kalcio jonas, DGD sacharidas, vandens molekulės, trys LHG, vienuolika LMG ir trys LMT lipidai. Karotenoidų molekulės buvo papildytos trūkstamais vandenilio atomais naudojant GaussView programinę įrangą [58]. Aplinkos chlorofilai laikyti identiškais, todėl kiekvienam subkompleksui buvo parinkti du chlorofilai (*a* ir

b chlorofilas), kurie laikyti pavyzdiniais, ir jų daliniai krūviai buvo naudoti aprašant visus to subkomplekso aplinkos chlorofilus. Tokiais chlorofilais Lhca1 struktūroje buvo parinkti a504 ir b512, Lhca2 – a504 ir b512, Lhca3 – a305 ir b314, Lhca4 struktūroje – a304 ir b313. Lhca1 struktūros karotenoidas BCR503 buvo nepilnos struktūros, todėl buvo pakeistas karotenoidu BCR618 iš Qin et al. [57] struktūros ketvirtosios grandinės (Lhca4 subkomplekso). Keturios baltymo grandinės buvo papildytos trūkstamais vandenilio atomais naudojant CHARMM-GUI įrankį [63]. Aminorūgščių pusiausvyros konstantos buvo nustatytos naudojant modulį PROPKA 3 [64, 65]. Pagal disociacijos konstantos vertes buvo nustatyta labiausiai tikėtina baltymo protonacijos būseną. Naudojantis Gaussian programiniu paketu [60], Multiwfn programine įranga [66, 67] pavienių chlorofilų bei metodika, taikyta mokslo tiriamajame darbe [38], chlorofilų dimerų ir karotenoidų atomams buvo priskirti daliniai krūviai. Atliekant skaičiavimus naudotas CAM-B3LYP hibridinis funkcionalas, 6-31G(d) bazinių funkcijų rinkinys ir CHELPG metodas. Baltymo molekulių atomų daliniai krūviai buvo gauti iš CHARMM jėgos lauko [50, 51].

Žinant tiriamųjų dimerų pagrindinės bei krūvio pernašos būsenų dalinių krūvių vertes ir pozicijas bei sumodeliavus aplinkos struktūrą ir žinant aplinkos atomų dalinius krūvius, CDC metodu buvo apskaičiuotas dimerų būsenų energijos poslinkis, nulemtas aplinkos atomų dalinių krūvių kuriamo elektrostatinio lauko.

3 Darbo rezultatai

3.1 LHCI šviesorankos kompleksų palyginimas

Kaip jau buvo minėta, visi keturi šviesorankos subkompleksai (Lhca1–Lhca4), iš kurių sudaryta aukštesniųjų augalų pirmosios fotosistemos šviesorankos antena, erdvine struktūra yra panašūs vienas į kitą. Tiek baltymo grandinės forma, tiek pigmentų pozicijos visuose subkompleksuose yra panašios, todėl sulyginus Lhca1–Lhca4 baltymo grandines galima palyginti pigmentus, esančius tose pačiose pozicijose. Taip pat, siekiant palyginti šiame darbe toliau aptariamus rezultatus su rezultatais, gautais tiriant CT būsenas Lhca4 subkomplekse, gautame iš žemesnės skyros (2,8Å) pirmosios fotosistemos erdvinės struktūros [57], šiame darbe tiriamos struktūros Lhca1–Lhca4 subkompleksai bus palyginami ir su minėtos struktūros (PDB ID:4XK8) Lhca1–Lhca4 subkompleksais (1–4 grandinės). Siekiant palengvinti palyginimą su kita literatūra, šių subkompleksų pigmentų išsidėstymas taip pat bus palygintas ir su antrosios fotosistemos LHCII A grandine [68], kurios pigmentų numeravimas dažnai naudojamas numeruojant ir LHCI pigmentus.

3.1.1 Pigmentų palyginimas

Nagrinėjamoje LHCI struktūroje (PDB ID: 5L8R) yra penkių rūšių pigmentai: chlorofilai *a* ir *b*, karotenoidai liuteinas, violaksantinas ir beta-karotenas. Visų pigmentų pozicijų palyginimas su žemesnės rezoliucijos LHCI struktūra [57] ir LHCII A grandine pateiktas 1 lentelėje. Kadangi pigmentų pozicijos nesutampa absoliučiai, laikoma, kad pigmentai yra toje pačioje pozicijoje, kai pigmentų pasukimo kampai sutampa ir, chlorofilo atveju, atstumas tarp magnio atomų yra nedidelis (iki 5Å).

Galima pastebėti, kad bendras pigmentų skaičius visuose struktūrose yra panašus (16–18 pigmentų). Chlorofilų *b* skaičius visuose LHCI subkompleksuose yra mažesnis nei LHCII antenoje. Iš LHCI subkompleksų, daugiausiai chlorofilų *b* turi viduje antenos esantys subkompleksai: Lhca2 ir Lhca4. Visuose subkompleksuose chlorofilai *b* išsidėstę per du pagrindinius klasterius ir yra arti subkomplekso krašto (t.y. ribojasi su kitais subkompleksais, išskyrus Lhca1, kuriame vienas chlorofilas *b* (b521) ribojasi su vieninteliu šalia esančiu subkompleksu, o kiti Lhca1 chlorofilai *b* yra prie antenos krašto).

Ankstesniuose mokslo tiriamuosiuose darbuose [37–39] nagrinėta Qin *et al.* [57] struktūra yra 0,2Å mažesnės skiriamosios gebos nei Mazar *et al.* [21]. Galbūt tai lėmė, kad minėtoje struktūroje yra nemažai pigmentų su geometriniais defektais (sunkiųjų atomų trūkumu) – net 11 (žr. 1 lentelėje paryškintus pigmentų pavadinimus). Aukštesnės skiriamosios gebos struktūroje kai kuriems pigmentams taip pat trūko sunkiųjų atomų. Tokių chlorofilų buvo 5. Šioje struktūroje sunkiųjų atomų trūko ne tik chlorofilams, bet ir vienam beta-karotenui (BCR503 Lhca1 subkomplekse). Atliekant skaičiavimus šio nepilno karotenoido struktūra buvo pakeista beta-karotenu BCR618 iš žemesnės skyros struktūros Lhca4 subkomplekso. Qin *et al.* [57] struktūroje Lhca3 subkomplekse taip pat yra chlorofilas a315, kurio neįmanoma sumodeliuoti kaip realaus chlorofilo dėl per didelio atomų trūkumo – a315 yra tik porfirino žiedas be jokių papildomų grupių, todėl negalima nustatyti, ar tai chlorofilas *a* ar *b*. Aukštesnės skyros struktūroje šio chlorofilo nelieka, todėl galima spėti,

1 lentelė. Pigmentų, esančių tose pačiose pozicijose, bet skirtinguose šviesorankos subkompleksuose, palyginimas. Qin *et al.* [57] ir Mazor *et al.* [21] struktūrų pigmentai, kuriems trūksta sunkiųjų atomų ar grupių, pažymėti paryškintai (chlorofilams sunkiųjų atomų trūkumas reiškia, kad, nukirpus fitilo uodegą, ant porfirino žiedo ar likusio uodegos galo trūksta sunkiųjų atomų, t.y. ilgasis fitilo uodegos galas ar jo defektai nėra įskaitomi). Liu *et al.* [68] struktūros pigmentai dėl sunkiųjų atomų trūkumo nebuvo patikrinti.

	Lhca1		Lhca2		Lhca3		Lhca4		LHCII, A grandinė
	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>	Liu <i>et al.</i>
Chlorofilai					a301				
	b302	b521	b601	b526			a601	a312	b601
	a303	a507	a602	a507	a302	a308	a602	a307	a602
	a304	a508	a603	a508	a303	a309	a603	a308	a603
	a305	a509	a604	a509	a304	a310	a604	a309	a604
	a309	b514	a608	a514	a308	a315	a608	a315	b609
	a310	a504	a609	a504	a309	a305	a609	a304	a610
	a311	a510	a610	a510	a310	a311	a610	a310	a611
	a312	a505	a611	a505	a311	a306	a611	a305	a612
	a313	a506	a612	a506	a312	a307	a612	a306	a613
	a314	a511	a613	a511	a313	a312	a613	a311	a614
					a314	a317	a614	a318	
	a306	a515	b605	b515	a305	a316	b605	b316	b606
	b307	b512	b606	b512	a306	a313	b606	b313	b607
	a308	a513	b607	b513	b307	b314	b607	b314	b608
			b614	b516			b615	b317	
				a315					
								b605	
	a315	a516							
Karotenoidai	LUT316	LUT501	LUT615	LUT501	LUT316	LUT301	LUT616	LUT302	LUT620
	XAT317	LUT502	XAT616	XAT502	XAT317	LUT302	XAT617	XAT303	LUT621
	BCR318	BCR503	BCR617	BCR503	BCR318	BCR303	BCR618	BCR301	NEX623
						BCR304			
	LUT320								XAT622

kad jo atsiradimas buvo tam tikras kristalografinių duomenų analizės defektas. Taigi, pasirinkimas skaičiavimams naudoti aukštesnės skiriamosios gebos erdvinę struktūrą tam tikra prasme palengvino pavienių pigmentų modeliavimą.

3.1.2 Baltymo grandinės palyginimas

Tarpusavyje buvo palygintos ir visų keturių subkompleksų baltymo grandinės Qin *et al.* [57] ir Mazor *et al.* [21] atvejais. 2 lentelėje pateikiami išskirtų aminorūgščių bei trūkstamų aminorūgščių skaičiai, vienodų aminorūgščių procentinė dalis sulygiuotame baltyminės sekos ilgyje bei TM vertė, parodanti, kaip gerai dvi baltymo grandinės sutampa pagal ilgį ir jose esančias aminorūgštis [69]. TM vertės funkcija apibrėžiama taip:

2 lentelė. Baltymo grandinių palyginimas Qin *et al.* [57] ir Mazor *et al.* [21] erdvinių struktūrų atveju. Trumpinys AA nurodo aminorūgštis.

	Lhca1		Lhca2		Lhca3		Lhca4	
	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>	Qin <i>et al.</i>	Mazor <i>et al.</i>
Išskirtų AA skaičius	195	193	206	208	218	221	196	198
Trūkstamų AA skaičius N gale	0	0	0	57	0	54	0	0
Trūkstamų AA skaičius C gale	0	0	0	4	0	0	0	0
Grandinių molekulinės struktūros sutaptis	90%		100%		100%		99%	
Grandinių TM vertė	0,98		0,97		0,97		0,98	

$$TM = \max \left[\frac{1}{L_N} \sum_{i=1}^{L_T} \frac{1}{1 + \left(\frac{d_i}{d_0}\right)^2} \right], \quad (68)$$

čia L_N yra atskaitinės grandinės ilgis, L_T atskaitinei grandinei prilygintos grandinės ilgis, d_i yra atstumas tarp i -tosios poros aminorūgščių, o d_0 – normavimo daliklis:

$$d_0 = 1,24\sqrt[3]{L_N - 15} - 1,8. \quad (69)$$

TM vertė visada bus režiuose $(0, 1]$, kur vienetas reiškia puikiai sutampančias baltymo grandines.

Kadangi visų subkompleksų baltymo grandinių TM vertės yra daugiau nei 0,9, galima sakyti, kad grandinės abiejose struktūrose baltymo grandinės yra beveik tokios pačios. Daugiausiai aminorūgščių molekulių skiriasi Lhca1 struktūroje. Lhca4 struktūroje skiriasi tik dviejų aminorūgščių tipai.

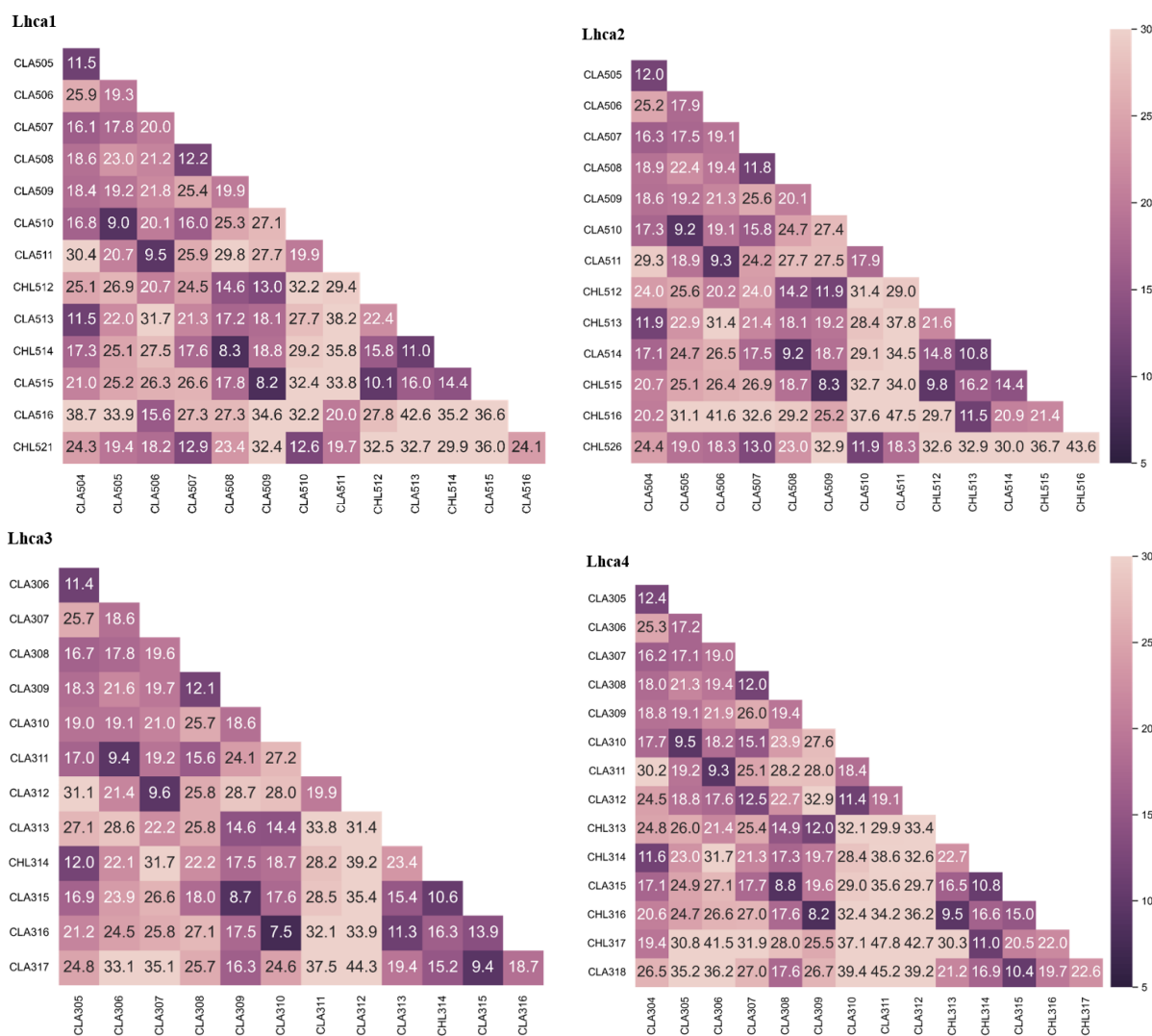
Galima pastebėti, kad žemesnės skiriamosios gebos struktūroje (Qin *et al.* [57]) nenurodyta trūkstamų aminorūgščių molekulių, kai, tuo tarpu, aukštesnės skyros struktūrose Lhca2 ir Lhca3 baltymai turi trūkstamų molekulių. Lhca1 ir Lhca4 struktūrose buvo išskirtos visos aminorūgščių molekulės, tačiau abiejose struktūrose skiriasi šių baltymo grandinių ilgiai. Aukštesnės skyros Lhca1 grandinėje yra po vieną aminorūgšties molekulę mažiau ant kiekvieno galo nei žemesnės skyros struktūros grandinėje. Lhca4 atveju aukštesnės skyros grandinėje prie C galo prisidėjo dvi lizino molekulės.

3.2 Chlorofilo dimerų sudarymas ir CT būsenų paieška

Kaip jau buvo minėta, krūvio pernašos būsenoms susidaryti būtina sąlyga yra nedidelis atstumas tarp pigmentų. Siekiant tiriamojoje šviesorankos antenoje LHCI surasti tokias chlorofilų poras, buvo apskaičiuotas atstumas tarp visų ten esančių chlorofilų (*a* ir *b*) porfirino žiedų centruose esančių magnio atomų. Sąlyginai mažu atstumu, remiantis literatūra [4], buvo nuspręsta laikyti 12,5 Å. 4 pav. pavaizduoti atstumai tarp atitinkamų chlorofilų *a* ir *b*.

Matoma, kad pagal atstumą tarp magnio atomų buvo atrinkta 44 chlorofilų poros (Lhca1 – 9 dimerai; Lhca2 – 12 dimerų; Lhca3 – 10 dimerų; Lhca4 – 13 dimerų). Atrinktų dimerų chlorofilams buvo atlikta geometrijos optimizacija vakuume ir jie buvo grąžinti atgal į LHCI erdvinę struktūrą taip užtikrinant, kad chlorofilų porfirino žiedo padėtys atitiktų realias padėtis LHCI antenoje, ir dimerų tarpusavio išsidėstymas būtų toks, koks randamas gamtoje.

Kiekvieno suformuoto dimero pirmosioms aštuonioms sužadintosioms būsenoms buvo atlikti kvantinės chemijos skaičiavimai vakuume aplinkoje. Naudojant nestacionarųjį tankio funkcionalo metodą ir CAM-B3LYP hibridinį funkcionalą buvo skaičiuojamos dimerų sužadintųjų būsenų



4 pav. Atstumai tarp LHCI antenoje esančių chlorofilo molekulių magnio atomų (pateikta angstromais). Kiekvieno šviesorankos subkomplekso atstumai pateikti atskirai.

3 lentelė. Krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys Lhca1 subkomplekse. SDM stulpelyje pateiktas statinis dipolinis momentas, TDM – šuolio dipolinis momentas. *R* stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	<i>R</i> , Å	<i>S</i> _{CT}	<i>E</i> , cm ⁻¹	SDM, D		TDM, D	Miulikeno krūviai	
					$ \mu_n $	$ \mu_n - \mu_0 $	$ \mu_{0 \rightarrow n} $	Chl1	Chl2
1	a504-a505	11,5	<i>S</i> ₅ (-+)	26053	46,1	47,2	0,15	-0,96	0,96
2			<i>S</i> ₈ (+-)	28392	50,4	48,3	0,66	0,94	-0,94
3	a504-a513	11,5	<i>S</i> ₅ (+-)	24198	40,8	43,6	0,30	0,94	-0,94
4			<i>S</i> ₇ (-+)	28231	36,0	32,7	4,91	-0,72	0,72
5	a505-a510	9,0	<i>S</i> ₅ (+-)	23069	25,7	26,9	0,67	0,90	-0,90
6			<i>S</i> ₆ (-+)	23553	29,0	25,7	0,72	-0,80	0,80
7	a506-a511	9,5	<i>S</i> ₅ (+-)	21617	27,2	35,3	0,14	0,93	-0,93
8			<i>S</i> ₆ (+-)	23472	25,3	33,1	0,82	0,93	-0,93
9	a507-a508	12,1	<i>S</i> ₅ (+-)	26940	47,7	51,9	0,06	0,98	-0,98
10			<i>S</i> ₆ (-+)	27908	41,8	35,0	2,03	-0,70	0,70
11	a509-a515	8,2	<i>S</i> ₅ (-+)	25408	32,5	32,3	0,22	-0,93	0,93
12			<i>S</i> ₆ (+-)	25650	35,7	33,2	0,33	0,99	-0,99
13	b512-a515	10,1	<i>S</i> ₅ (-+)	22423	33,7	39,1	0,122	-0,88	0,88
14			<i>S</i> ₆ (-+)	24037	27,4	33,1	0,54	-0,86	0,85
15			<i>S</i> ₈ (-+)	26698	35,1	40,5	0,19	-0,89	0,89
16	a513-b514	11,0	<i>S</i> ₆ (+-)	27505	53,4	50,7	0,00	1,00	-1,00

energijos, statiniai bei šuolio iš pagrindinės į sužadintąją būseną dipoliniai momentai. Krūvio pernašos būseną galima atskirti pagal mažą šuolio iš pagrindinės būsenos dipolinį momentą, didelį statinį dipolinį momentą pagrindinės būsenos atžvilgiu ir Miulikeno krūvių sumą, artimą +1 vienam ir -1 kitam pigmentui. Rezultatai Lhca1 subkompleksui pateikiami 3 lentelėje (Lhca2–Lhca4 subkompleksams rezultatai pateikiami Priedų skiltyje 10–12 lentelėse). Taip iš viso LHCI šviesorankos antenoje buvo surastos 69 krūvio pernašos būsenos, iš kurių po 16 – Lhca1 ir Lhca2 subkompleksuose, 17 – Lhca3 ir 20 – Lhca4 subkompleksuose.

3.3 Lhca1–Lhca4 baltymo grandinių modeliavimas

Visų keturių LHCI šviesorankos subkompleksų baltymo grandinėse yra lengvai deprotonuojamų aminorūgščių. Siekiant nustatyti baltymo grandinės protonavimo tipą, naudojant modulį PROPKA 3 [64,65] buvo apskaičiuotos šių aminorūgščių molekulių pusiausvyros konstantos vertės. Lengvai protonuojamoms aminorūgštims, esančioms Lhca1 baltymo grandinėje, nustatytos pK_a (bazėms – pK_b) vertės pateiktos 4 lentelėje (likusių subkompleksų baltymo grandinėms 13–15 lentelės pateiktos Priedų skiltyje).

Pagal gautas pusiausvyros konstantas vertes, laikant, kad baltymas apsuptas neutralaus pH tirpalo ($pH \approx 7$), remiantis (66) ir (67) formulėmis, gauta, kad visoje Lhca1 baltymo grandinėje yra 3 aminorūgštys, kurios yra nestandartinėje protonacijos būsenoje: N gale esantis ASP40, GLU98 ir HIS223. Šios aminorūgštys laikomos protonuotomis. Žinoma, kad rūgštinės aminorūgštys yra neutralios protonuotoje būsenoje, o bazinės – teigiamai įkrautos. Taigi asparato krūvis (neįskaičius

4 lentelė. Lengvai protonuojamų aminorūgščių rūšių Lhca1 baltymo grandinėje pusiausvyros konstantos vertės, nustatytos moduliu PROPKA 3 [64, 65].

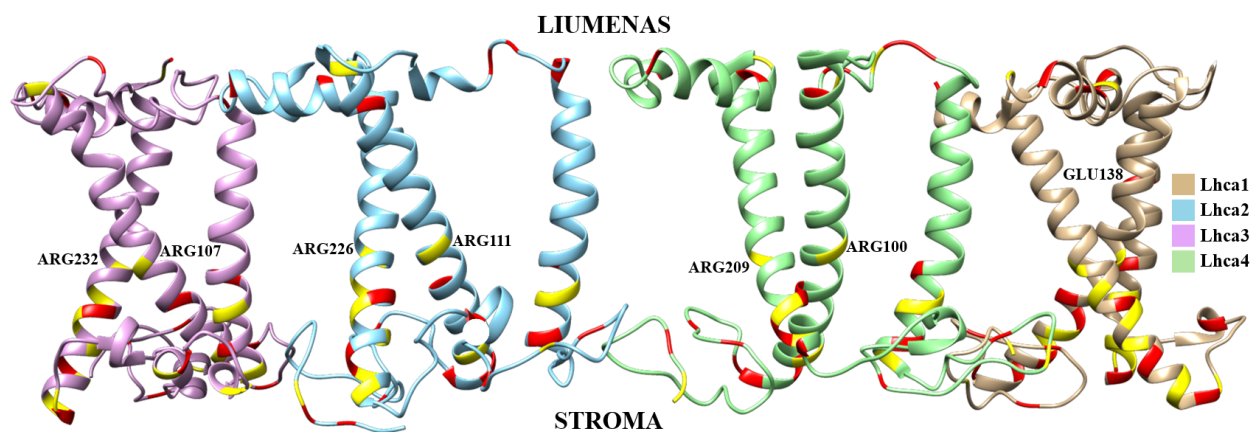
Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a
ASP	40	6,89	GLU	156	3,9	LYS	107	11,42
ASP	52	2,26	GLU	179	4,7	LYS	153	10,39
ASP	58	3,67	GLU	184	6,62	LYS	157	10,54
ASP	62	3,73	GLU	212	4,94	LYS	158	8,81
ASP	154	3,38	HIS	83	-1,92	LYS	159	10,7
ASP	166	3,34	HIS	147	6,15	LYS	172	10,3
ASP	173	3,08	HIS	178	5,6	LYS	175	10,65
ASP	220	3,06	HIS	217	5,96	LYS	176	10,48
GLU	68	4,77	HIS	223	7,24	LYS	181	9,22
GLU	71	4,63	CYS	84	13,84	LYS	183	9,07
GLU	74	4,77	CYS	199	12,32	LYS	186	9,42
GLU	78	5,42	TYR	50	13,61	ARG	47	12,08
GLU	80	6,72	TYR	121	10,99	ARG	65	12,29
GLU	98	7,77	TYR	160	15,1	ARG	75	10,56
GLU	110	3,59	TYR	170	10,75	ARG	85	12,72
GLU	138	6,94	TYR	180	10,88	ARG	149	11,5
GLU	146	6,68	TYR	205	11,22	ARG	189	11,27
GLU	152	4,69	LYS	77	9,65			

protonuotos amino grupės N gale) yra neutralus, tačiau, prisidėjus protonui N gale, gausime bendrą molekulės krūvį +1. Glutamas taip pat yra rūgštinė aminorūgštis, taigi jos krūvis bus neutralus, o histidinas, prisijungus protonui, taps teigiamai įkrautas. Likusios histidino molekulės (ne tik Lhca1, bet ir visų likusių subkompleksų baltymo grandinių atvejais) laikytos δ -tautomeriais (vandenilio atomas sudaro ryšį su N δ azoto atomu).

Naudojantis ta pačia metodika kaip ir Lhca1 baltymo grandinės atveju, Lhca2 baltymo grandinėje tik vienai aminorūgščiai buvo nustatyta nestandartinė protonacija. GLU156 yra protonuotoje būsenoje ir įgauna neutralų krūvį. Lhca3 grandinėje dvi glutamo molekulės (GLU120 ir GLU161) yra protonuotoje būsenoje, o Lhca4 grandinėje tik vienas glutamas (GLU145) yra protonuotoje būsenoje ir turi neutralų krūvį. Visose grandinėse likusios aminorūgštys (išskyrus N ir C galus) yra standartinėje protonacijos būsenoje.

Žinoma, kad baltymo grandinės galai (vadinamieji N galas ir C galas) taip pat yra lengvai deprotonuojami [47]. Remiantis literatūra [17] buvo nuspręsta baltymo N galą modeliuoti kaip teigiamą krūvį turinčią molekulę, kurios amino grupė (NH₂) pakeičiama NH₃ grupe, o C galą – kaip neigiamai įkrautą molekulę, kurios karboksilo grupė pakeista pseudo-karboksilo grupe (COO), tačiau tik tais atvejais, kai baltymo grandinės galuose yra išskirtos visos aminorūgštys (žr. 2 lentelę). Lhca2 ir Lhca3 baltymo N galuose trūksta molekulių, todėl buvo pasirinkta modeliuoti juos kaip neutralius acetiliuotus N galus, kai N gale pridedama acetilo grupė (CH₃). Lhca2 atveju, kur baltymo grandinei trūksta molekulių ir C gale, galas buvo amiduotas (pridėta amino grupė). Amiduotas ir acetiliuotas galai neturi krūvio ir geriau imituoja realų neužbaigtą baltymą.

Be nestandartinės protonacijos aminorūgščių ir baltymo galų teigiamai įkrautos aminorūgštys



5 pav. LHCI baltymo grandinės. Raudonai pažymėtos neigiamai įkrautos, o geltonai – teigiamai įkrautos aminorūgštys (po protonacijos tipo nustatymo kiekvienai grandinei). Kelios krūvį turinčios aminorūgštys, esančios toliau nuo struktūros kraštų, yra įvardintos.

yra standartinės protonacijos lizino molekulės ir arginino molekulės. Neigiamai įkrautos aminorūgštys yra standartinės protonacijos asparato ir glutamo molekulės. Sudėjus visų aminorūgščių atomų dalinius krūvius buvo gauta, kad Lhca1 baltymo krūvis yra -1 , Lhca2 baltymo bendras krūvis yra -8 , Lhca3 baltymo krūvis yra -2 , o Lhca4 baltymo krūvis yra -6 . Beveik visos baltymo grandinėje esančios įkrautos aminorūgštys yra arti stromos arba liumeno pusės (kitai tariant, erdvinės struktūros kraštuose) (žr. 5 pav.), kur vyrauja atitinkamai neigiami ir teigiami krūviai. Taigi, galima laikyti, kad gauta baltymo protonacija yra tikėtina.

3.4 Aplinkos įtaka chlorofilų monomerų energijoms

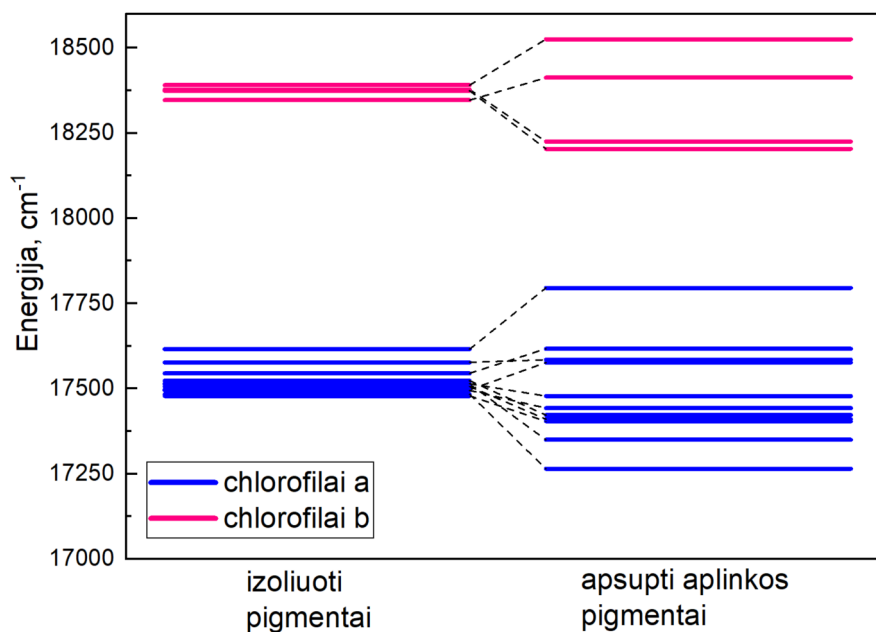
Sumodeliavus chlorofilus supančią aplinką ir apskaičiavus aplinkos blokų bei tiriamųjų monomerų ir dimerų dalinius atomų krūvius, naudojant CDC metodą ($\epsilon_{\text{eff}} = 1$) buvo apskaičiuota aplinkos pigmentų bei baltymo daroma įtaka visų LHCI monomerų žemiausios energijos sužadintoms būsenoms (kitai – Q_y būsenoms). Monomerų energijos vakuume ir energijos poslinkio dėl aplinkos elektrostatinės įtakos rezultatai Lhca4 subkompleksui pateikiami 5 lentelėje. Energijos vertės taip pat pateikiamos 6 paveikslėlyje. Energijos poslinkio rezultatai likusiems trimis subkompleksams pateikiami Priedų skiltyje (žr. 16–18 lenteles ir 12–14 pav.). Gauti energijų poslinkiai palyginami su pateiktais literatūroje [70], kur PSI chlorofilų energijų poslinkiams apskaičiuoti buvo naudotas tas pats CDC metodas (tačiau molekulių daliniai krūviai apskaičiuoti naudojant kitą hibridinį funkcionalą (B65LYP)). Iš pateiktų energijos poslinkio verčių matoma, kad energijos poslinkiai chlorofilams b gauti kiek mažesni nei chlorofilams a . Tą galima susieti su atitinkamai mažesnėmis chlorofilų b statinių dipolinių momentų vertėmis ir laikyti, kad aplinka maždaug vienodai veikia abiejų tipų chlorofilus. Galima pastebėti skirtumą tarp chlorofilų a ir b energijų įskaičiavus aplinkos elektrostatinę įtaką. Gautas energijos tarpas tarp dviejų rūšių chlorofilų yra apie 800 cm^{-1} (kai, tuo tarpu, literatūroje pateikiamas energijos tarpas yra kiek mažesnis ($500\text{--}600 \text{ cm}^{-1}$), bet aplinkai įskaityti naudojama kitokia metodika [71]).

Chlorofilo monomerų energijas taip pat galima palyginti su energijomis, gautomis mažesnės skiriamosios gebos struktūros atveju (Qin *et al.* [57]) (aprašytomis ankstesniame mokslo tiriamam-

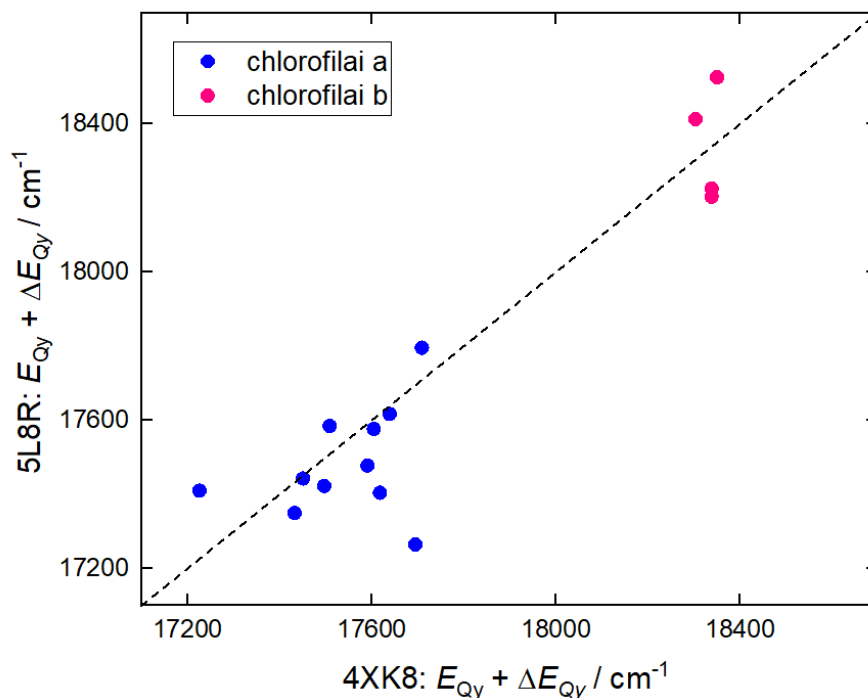
5 lentelė. Lhca4 chlorofilo monomerų Q_y energijos ir energijų poslinkiai dėl monomerus supančios aplinkos.

Monomeras	E_{Q_y}, cm^{-1}	$\Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$	$E_{Q_y} + \Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$	$ \mu_1 - \mu_0 , \text{D}$	$ \mu_{0 \rightarrow 1} , \text{D}$
a304	17479	-74	17405	0,752	4,252
a305	17497	80	17577	0,529	4,080
a306	17495	-52	17443	0,516	4,000
a307	17506	-96	17410	0,753	4,178
a308	17577	8	17585	0,761	4,230
a309	17514	-164	17350	0,708	4,125
a310	17523	-101	17423	0,592	4,118
a311	17616	180	17796	0,889	3,735
a312	17545	72	17617	0,587	4,124
b313	18347	66	18413	0,278	2,553
b314	18378	-153	18225	0,182	2,525
a315	17484	-219	17265	0,720	4,285
b316	18374	-170	18204	0,221	2,547
b317	18391	134	18526	0,169	2,552
a318	17514	-36	17478	0,742	4,334

jame darbe [39]). Monomerų energijos verčių, kai buvo įskaityta aplinkos daroma įtaka, palyginimas dviejų struktūrų atveju pateiktas 7 pav. Galima pastebėti, kad chlorofilų *a* energijos geresnės skyros struktūroje buvo gautos kiek mažesnės, o chlorofilų *b* – panašios kaip ir prastesnės skyros struktūroje. Skirtumus tarp energijų galėjo nulėmti skirtingos baltymo grandinės ir šalia chlorofilų esančios įkrautos aminorūgštys.



6 pav. Chlorofilo monomerų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrosstatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta.



7 pav. Monomerų pilnos energijos verčių palyginimas Qin *et al.* [57] (PDB ID: 4XK8) ir Mazor *et al.* [21] (PDB ID: 5L8R) struktūrų atveju.

3.5 Aplinkos įtaka chlorofilų dimerų CT būsenų energijoms

3.5.1 Lhca1

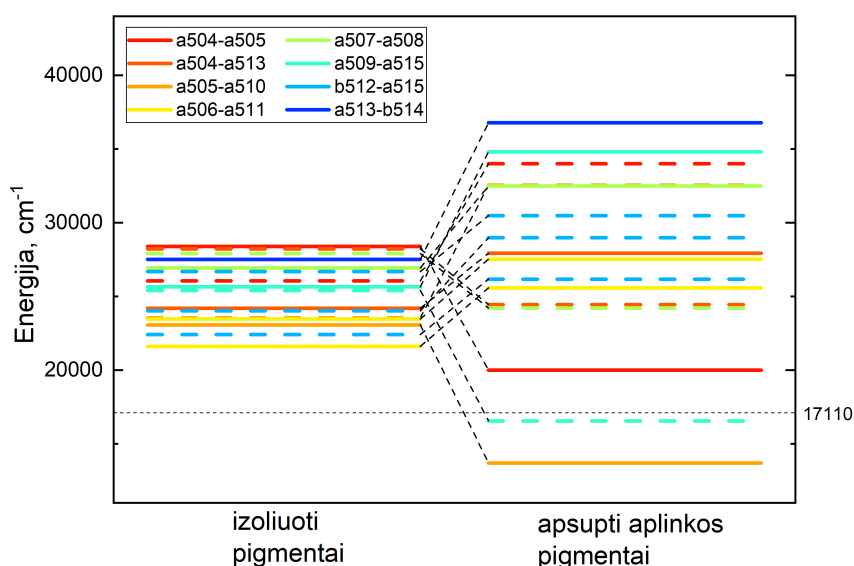
Naudojant CDC metodą ($\epsilon_{\text{eff}} = 1$) taip pat, kaip ir monomerams, buvo apskaičiuotos ir elektrostatinės aplinkos nulemtos energijos poslinkių vertės chlorofilo dimerų CT būsenoms. Gauti rezultatai Lhca1 subkomplekso atveju pateikiami 6 lentelėje ir 8 paveikslėlyje.

Galima pastebėti, kad baltymas ir aplinkiniai pigmentai daro įtaką tiriamųjų chlorofilų sužadintųjų būsenų energijai. Įskaičius aplinkos įtaką, penkioms iš šešiolikos krūvio pernašos būsenoms energija sumažėjo. Stipriausiai aplinkos įtakos buvo paveiktos a505-a510, a509-a515 bei a513-b514 dimerų krūvio pernašos būsenos. Pirmiesiems dviem paminėtiems dimerams didelis energijos pokytis dėl aplinkos lėmė, kad jų CT (penktųjų sužadintų) būsenų energijos yra žemesnės nei jas sudarančių monomerų Q_y energijos (žr. 16 lentelę Priedų skiltyje ir 8 pav.).

Dimero a505-a510 abiem susidariusioms CT būsenoms didelį (beveik 8000 cm^{-1}) energijos poslinkį lemia šalia (per $3,28 \text{ \AA}$ nutolusi) a510 monomero esanti lizino molekulė LYS186. Ši aminorūgštis yra standartinėje protonacijos būsenoje ir turi krūvį +1. Panaši situacija ir kito dimero atveju: jo CT būsenai didžiausią įtaką (energijos poslinkis viršija 4000 cm^{-1}) daro net dvi arginino molekulės: ARG75 ir ARG85. Abi arginino molekulės yra standartinėje protonacijos būsenoje ir turi krūvį +1. Lizinas ir argininas priklauso lengvai protonuojamų aminorūgščių grupei, tačiau jų disociacijos konstantos vertės rodo pakankamai stabilų protonacijos būseną (žr. 4 lentelę). Nepaisant to, pasikeitus aplinkos sąlygoms ar baltymo/aplinkinių pigmentų geometrijai, gali pakisti ir šių trijų aminorūgščių protonacijos būsenos ir krūvis. Tokiu būdu pasikeistų ir energijos poslinkis aplinkiniams pigmentams.

6 lentelė. Lhca1 subkomplekso krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys. R stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų. Stulpelyje ΔE pateiktas CT būsenos energijos pokytis. Atvejai, kai CT būsenos energija yra žemesnė nei monomerų Q_y energija, pateikti paryškintai.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	R , Å	S_{CT}	E , cm^{-1}	ΔE , cm^{-1}	$E + \Delta E$, cm^{-1}
1	a504-a505	11,5	$S_5(-+)$	26053	7954	34007
2			$S_8(+ -)$	28392	-8390	20002
3	a504-a513	11,5	$S_5(+ -)$	24198	3734	27932
4			$S_7(-+)$	28231	-3774	24457
5	a505-a510	9,0	$S_5(+ -)$	23069	-9360	13708
6			$S_6(-+)$	23553	9006	32559
7	a506-a511	9,5	$S_5(+ -)$	21617	3968	25585
8			$S_6(+ -)$	23472	4062	27534
9	a507-a508	12,2	$S_5(+ -)$	26940	5552	32493
10			$S_6(-+)$	27908	-3693	24215
11	a509-a515	8,2	$S_5(-+)$	25408	-8845	16563
12			$S_6(+ -)$	25650	9168	34818
13	b512-a515	10,1	$S_5(-+)$	22423	3759	26183
14			$S_6(-+)$	24037	4945	28982
15			$S_8(-+)$	26698	3790	30488
16	a513-b514	11,0	$S_6(+ -)$	27505	9273	36777



8 pav. Lhca1 subkomplekso chlorofilo dimerų CT būsenų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrostatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta. Punktyrine linija pažymėtos CT būsenos, kurioms susidarius pirmasis pigmentas (kaip surašyta dimero pavadinime) yra neigiamai įkrautas, o antrasis – teigiamai. Juoda punktyrinė linija žymi žemiausios energijos monomero (kai buvo įskaityta jam daroma aplinkos įtaka) Q_y energiją.

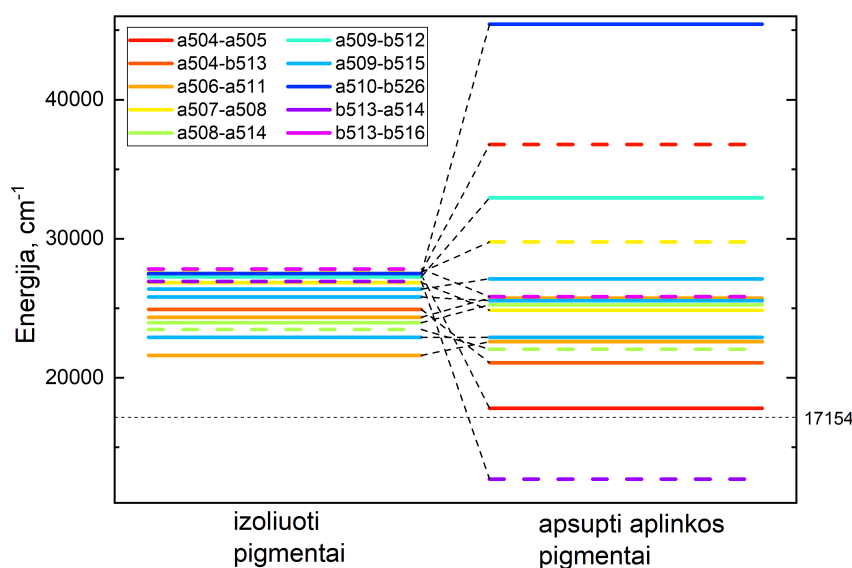
3.5.2 Lhca2

Tokia pati metodika, kaip ir Lhca1 subkompleksui, buvo pritaikyta ir Lhca2 subkomplekso chlorofilų dimerų CT būsenoms. Gauti rezultatai pateikiami 7 lentelėje ir 9 paveikslėlyje. Šiame subkomplekse didžiausia aplinkos įtaka buvo daroma a511-b526, b513-a514 ir a504-a505 dimerų krūvio pernašos būsenoms. Nejprastai mažas energijos poslinkis gautas dimero a509-b515 penktai sužadintai būsenai (kitų dviejų šio dimero CT būsenų energijos poslinkiai irgi nedideli, palyginus su daugumos CT būsenų energijos poslinkiais).

Šiame subkomplekse gauta viena CT būseną, kurios energija su pataisa yra žemesnė už monomerų Q_y energiją – b513-a514 šeštoji sužadinta būseną. Pataisos vertė viršija 14000 cm^{-1} ; tokį didelį energijos poslinkį lėmė daugiausiai trys aminorūgštys: ARG111 ($>7000\text{ cm}^{-1}$) bei šalia viena kitos esančios ARG166 ir GLU164 (abiejų įtaka dimero CT būsenoms yra $>5000\text{ cm}^{-1}$). Pastarųjų aminorūgščių padėtis yra tarp dimerą sudarančių chlorofilų, todėl jos maždaug vienodai veikia abu monomerus. ARG111 yra arčiau b513 monomero ir energijos postūmis dėl šio aminorūgšties smarkiau pasireiškia būtent šiam chlorofilui. Visos šios trys aminorūgštys yra standartinėje savo protonacijos būsenoje ir yra įkrautos (arginino krūvis yra +1, o glutamo – -1).

7 lentelė. Lhca2 subkomplekso krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys. R stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų. Stulpelyje ΔE pateiktas CT būsenos energijos pokytis. Atvejis, kai CT būsenos energija yra žemesnė nei monomerų Q_y energija, pateiktas paryškintai.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	R , Å	S_{CT}	E , cm^{-1}	ΔE , cm^{-1}	$E + \Delta E$, cm^{-1}
1	a504-a505	12,0	$S_5(+ -)$	27424	-9611	17814
2			$S_6(- +)$	27586	9194	36779
3	a504-b513	11,9	$S_5(+ -)$	24924	-3840	21084
4	a506-a511	9,3	$S_5(+ -)$	21617	981	22597
5			$S_6(+ -)$	24359	1379	25739
6	a507-a508	11,8	$S_6(+ -)$	26860	-1992	24868
7			$S_5(- +)$	27586	2186	29771
8	a508-a514	9,2	$S_5(- +)$	23472	-1408	22064
9			$S_6(+ -)$	23956	1292	25248
10	a509-b512	11,9	$S_6(+ -)$	27263	5685	32947
11	a509-b515	8,3	$S_5(+ -)$	22907	2	22910
12			$S_6(+ -)$	25811	-255	25556
13			$S_7(+ -)$	26376	741	27117
14	a510-b526	11,9	$S_6(+ -)$	27505	17926	45431
15	b513-a514	10,8	$S_6(- +)$	26940	-14219	12722
16	b513-b516	11,5	$S_7(- +)$	27828	-1987	25841



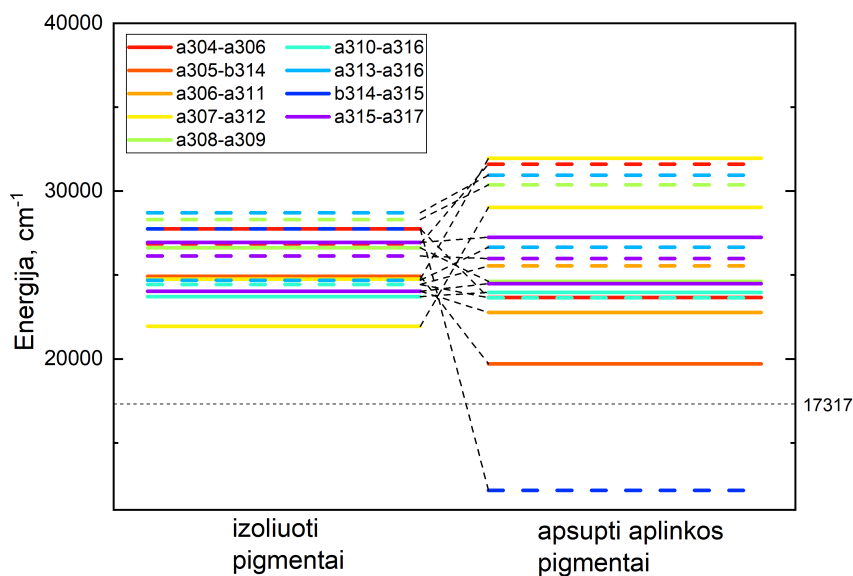
9 pav. Lhca2 subkomplekso chlorofilo dimerų CT būsenų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrosstatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta. Punktyrine linija pažymėtos CT būsenos, kurioms susidarius pirmasis pigmentas (kaip surašyta dimero pavadinime) yra neigiamai įkrautas, o antrasis – teigiamai. Juoda punktyrinė linija žymi žemiausios energijos monomero (kai buvo įskaityta jam daroma aplinkos įtaka) Q_y energiją.

3.5.3 Lhca3

Lhca3 subkomplekso aplinkos įskaitymo CT energijoms rezultatai pateikiami 8 lentelėje ir 10 pav. Šio subkomplekso aplinka lėmė didesnę nei 15000 cm^{-1} energijos poslinkį dimerui b314-a315. Iki aplinkos įskaitymo (vakuomo aplinkoje) šio dimero krūvio pernašos būseną buvo sąlygiškai aukštos energijos (27747 cm^{-1}), lyginant su kitomis Lhca3 surastomis CT būsenomis. Nepaisant to, baltymo ir aplinkinių pigmentų padaryta elektrosstatinė įtaka nulėmė, kad šio dimero CT būsenos pilna energija yra žemesnė nei monomerų Q_y energija. Didžiausią neigiamą energijos poslinkį šiai CT būsenai nulėmusios aplinkos dalys yra dvi arginino molekulės (ARG107 ir ARG171) bei glutamas GLU169. Bendra jų įtaka viršija 18500 cm^{-1} . Visos šios aminorūgštys yra apsupusios dimerą (ARG107 iš vienos, o ARG171 ir GLU169 iš kitos pusės), o jų padėtys yra tarp dimerą sudarančių chlorofilų, taip abiem monomerams šios trys molekulės lemia panašaus dydžio energijos poslinkį. Šios aminorūgštys yra standartinėje protonacijos būsenoje ir įkrautos (argininas – teigiamai, o glutamas – neigiamai). Verta paminėti, kad GLU169 pusiausvyros konstanta savo verte yra artima pH vertei (žr. 14 lentelę Priedų skiltyje), todėl gali lengvai pakeisti protonacijos būseną ir krūvį. Tokiu būdu būtų gaunamas šiek tiek mažesnis energijos poslinkis dimero b314-a315 krūvio pernašos būsenai.

8 lentelė. Lhca3 subkomplekso krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys. R stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų. Stulpelyje ΔE pateiktas CT būsenos energijos pokytis. Atvejis, kai CT būsenos energija yra žemesnė nei monomerų Q_y energija, pateiktas paryškintai.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	R , Å	S_{CT}	E , cm^{-1}	ΔE , cm^{-1}	$E + \Delta E$, cm^{-1}
1	a305-a306	11,4	S_5 (++)	26860	4749	31609
2			S_6 (+-)	27747	-4083	23664
3	a305-b314	12,0	S_5 (+-)	24924	-5223	19701
4	a306-a311	9,4	S_5 (+-)	24037	-1275	22762
5			S_6 (++)	24440	1099	25539
6	a307-a312	9,6	S_5 (+-)	21939	7099	29038
7			S_6 (+-)	24762	7193	31955
8	a308-a309	12,1	S_5 (+-)	26618	-2003	24615
9			S_8 (++)	28312	2069	30381
10	a310-a316	7,5	S_6 (+-)	23714	254	23968
11			S_7 (++)	24440	-789	23651
12	a313-a316	11,3	S_5 (++)	24682	1978	26660
13			S_8 (++)	28715	2240	30954
14	b314-a315	10,6	S_6 (++)	27747	-15590	12157
15	a315-a317	9,4	S_5 (+-)	24037	456	24492
16			S_6 (++)	26134	-157	25977
17			S_7 (+-)	26940	308	27249



10 pav. Lhca3 subkomplekso chlorofilo dimerų CT būsenų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrosstatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta. Punktyrine linija pažymėtos CT būsenos, kurioms susidarius pirmasis pigmentas (kaip surašyta dimero pavadinime) yra neigiamai įkrautas, o antrasis – teigiamai. Juoda punktyrinė linija žymi žemiausios energijos monomero (kai buvo įskaityta jam daroma aplinkos įtaka) Q_y energiją.

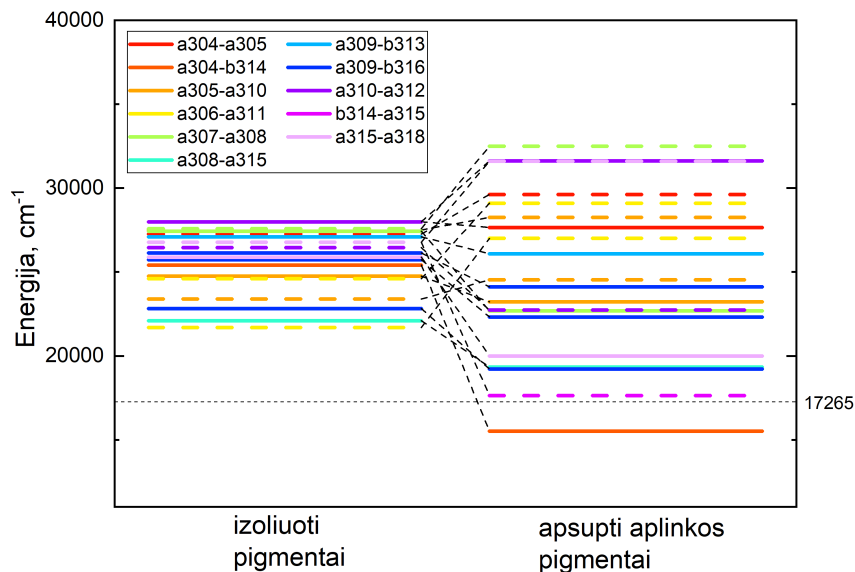
3.5.4 Lhca4

Paskutiniojo, Lhca4, subkomplekso aplinkos įtakos dimerų krūvio pernašos būsenoms rezultatui pateikiami 9 lentelėje ir 11 paveikslėlyje. Didžiausi energijos poslinkiai buvo apskaičiuoti dimerų a304-b314 ir b314-a315 krūvio pernašos būsenoms. Tai lėmė smarkų šių būsenų energijos sumažėjimą; pirmojo dimero CT būsenos energija tapo žemesnė nei monomerų Q_y energija, o antrojo dimero CT būsenos energija, nors savo verte tapo palyginama su monomerų Q_y energijomis, tačiau yra šiek tiek už jas didesnė.

Abiejuose minėtuose dimeruose yra tas pats chlorofilas b314. Tiek jam, tiek abiem minėtiems dimerams, trys aminorūgštys, lemiančios didžiausią energijos poslinkį iš visų aplinkos molekulių, yra prie pat b314 monomero esančios ARG155, ARG156 ir GLU153. Visos šios aminorūgštys yra standartinėje protonacijos būsenoje ir turi krūvį: arginino molekulių krūvis yra +1, o glutamo – -1. Žinoma, kad tiek argininas, tiek glutamas priklauso lengvai protonuojamų aminorūgščių grupei ir, pasikeitus aplinkos sąlygoms, gali pasikeisti jų protonacijos tipas. Galima įtarti, kad esant tam tikroms sąlygoms žemos energijos CT būsenų Lhca4 subkomplekse surastume daugiau (pvz. GLU156 protonacijos atveju gautume mažesnę šios aminorūgšties teigiamą indėlį į dimero b314-a315 CT būsenos energijos poslinkį ir jos energija taptų žemesnė) arba mažiau (pvz. bent vienai iš minėtųjų arginino molekulių esant kitos protonacijos būsenos, jų daromas neigiamas energijos

9 lentelė. Lhca4 subkomplekso krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys. *R* stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų. Stulpelyje ΔE pateiktas CT būsenos energijos pokytis. Atvejais, kai CT būsenos energija yra žemesnė nei monomerų Q_y energija, pateiktas paraiškintai.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	<i>R</i> , Å	S_{CT}	E , cm ⁻¹	ΔE , cm ⁻¹	$E + \Delta E$, cm ⁻¹
1	a304-a305	12,4	$S_5(-+)$	27262	2363	29625
2			$S_6(+ -)$	27988	-336	27652
3	a304-b314	11,7	$S_5(+ -)$	25407	-9896	15511
4	a305-a310	9,5	$S_5(-+)$	23391	1147	24537
5			$S_6(+ -)$	24762	-1542	23220
6			$S_7(-+)$	27504	750	28254
7	a306-a311	9,3	$S_5(-+)$	21697	5310	27006
8			$S_7(-+)$	24601	4503	29103
9	a307-a308	12,1	$S_5(+ -)$	27424	-4738	22686
10			$S_6(-+)$	27585	4917	32502
11	a308-a315	8,8	$S_5(+ -)$	22100	-2765	19335
12	a309-b313	12,0	$S_6(+ -)$	27101	-1012	26089
13	a309-b316	8,2	$S_5(+ -)$	22826	-3615	19211
14			$S_6(+ -)$	25730	-3414	22316
15			$S_7(+ -)$	26133	-2017	24116
16	a310-a312	11,4	$S_5(-+)$	26456	-3721	22734
17			$S_6(+ -)$	27988	3630	31618
18	b314-a315	10,8	$S_6(-+)$	26778	-9146	17632
19	a315-a318	10,4	$S_5(+ -)$	25891	-5905	19986
20			$S_6(-+)$	26778	4819	31597



11 pav. Lhca4 subkomplekso chlorofilo dimerų CT būsenų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrosstatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta. Punktūrinė linija pažymėtos CT būsenos, kurioms susidarius pirmasis pigmentas (kaip surašyta dimero pavadinime) yra neigiamai įkrautas, o antrasis – teigiamai. Juoda punktūrinė linija žymi žemiausios energijos monomero (kai buvo įskaityta jam daroma aplinkos įtaka) Q_y energiją.

poslinkis dimero a304-b314 CT būsenai pastebimai sumažėtų).

Iki šiol literatūroje (tiek teoriniuose [72, 73], tiek eksperimentiniuose [29, 30] darbuose) buvo aptariamas tik vienas dimeras, kuriame susiformuoja krūvio pernašos būseną. Tai yra dimeras a308-a315. Viena iš priežasčių, kodėl yra manoma, kad būtent šis dimeras yra atsakingas už CT būsenų susidarymą Lhca4 komplekse, yra nedidelis atstumas tarp jų sudarančių pigmentų ($R = 8,82 \text{ \AA}$). Tuo tarpu panašioje pozicijoje esantis kitas dimeras, a307-a308, nėra nagrinėjamas šiuo aspektu dėl didesnio atstumo tarp pigmentų ($R = 12,05 \text{ \AA}$). Šiame darbe buvo nagrinėjami chlorofilo dimerai, tarp kurių pigmentų yra ne didesnis nei $R = 12,5 \text{ \AA}$ atstumas, taip surandant dimerus, kurių chlorofilai yra ir kiek didesniu atstumu nei paprastai nagrinėjama literatūroje. Nors nedidelis atstumas tarp pigmentų yra būtina, tačiau nėra pakankama sąlyga CT būsenai susidaryti. Tą patvirtina faktas, kad mažiausias atstumas Lhca4 subkomplekse yra tarp chlorofilų a309 ir b316 ($R = 8,22 \text{ \AA}$), tačiau dimero a309-b316 CT būsenų energija yra didesnė, nei kai kurių dimerų, tarp kurių pigmentų yra mažesnis atstumas. Tuo tarpu nagrinėjamoje struktūroje literatūroje minimas dimeras a308-a315 yra gana žemos energijos (19335 cm^{-1}), tačiau ne žemesnės nei monomero Q_y energija. Šiam dimerui gana didelį energijos postūmį (4077 cm^{-1}) lemia šalia chlorofilo a315 esanti aminorūgštis GLU153. Buvo nustatyta, kad ji yra standartinėje protonacijos būsenoje ir turi krūvį -1 . Glutamas priklauso lengvai protonuojamų aminorūgščių grupei todėl negalima atmes-
ti galimybės, kad esant kitokioms aplinkos sąlygoms (pvz., membranos pH) arba nustačius gran-
dinės protonacijos būseną kitokiais metodais GLU153 būtų nestandartinėje protonacijos būsenoje ir

Lhca4 subkomplekse turėtume dar vieną žemos energijos CT būseną.

Rezultatus, gautus Mazor *et al.* [21] struktūros atveju, galima palyginti su rezultatais, gautais žemesnės skiriamosios gebos struktūroje (Qin *et al.* [57]), aprašytus mokslo tiriamajame darbe [39]. Pastaruoju atveju, Lhca4 subkomplekse įskaičius aplinkos daromą įtaką, buvo rastos keturios žemos energijos CT būsenos, kurių atitikmenys naudojant šios struktūros chlorofilų žymėjimus būtų dimeruose a307-a308, a308-a315, a304-b314 ir b314-b317. Mazor *et al.* [21] struktūros atveju buvo rasta tik viena žemos energijos CT būseną a304-b314 dimere. Galimybė žemos energijos CT būsenai atsirasti dimere a308-a315 jau buvo aptarta anksčiau ir yra susijusi su aminorūgšties GLU153 protonacijos būseną. a307-a308 dimero atveju abiem susidariusiems CT būsenoms didelę įtaką (kartu sudėjus gaunasi apie 8066 cm^{-1}) daro dvi lizino molekulės (LYS52 ir LYS53), esančios baltymo grandinės N gale ir turinčios krūvį, kurio vertė kartu sudėjus lygi +3. Šios dvi molekulės N gale būdingos tik aukštesnės skyros erdvinei Lhca4 struktūrai, tuo tarpu Qin *et al.* [57] struktūroje jų nėra ir N gale yra glicinas GLY54 ir glutamas GLU55, kurių krūvis (kartu sudėjus) yra neutralus. Galima laikyti, kad žemos energijos CT būsenos nebuvimas Mazor *et al.* [21] Lhca4 struktūroje susijęs su baltymo struktūros pasikeitimu (lyginant su žemesnės skyros erdvine struktūra). Galiausiai, dimere b314-b317, nagrinėjant sužadintąsias būsenas iki aštuntosios, nebuvo surasta susidarančių CT būsenų. Tačiau, žinant, kad tokios būsenos susidarė žemesnės skyros struktūroje, šiam dimeriui buvo atlikti kvantinės chemijos skaičiavimai vakuume iki dvyliktosios sužadintos būsenos. Taip buvo rastos dvi dimere b314-b317 susidarančios krūvio pernašos būsenos (devintoji ir vienuoliktoji sužadinta būseną). Vis dėlto, kadangi jos yra aukštesnės nei šiame darbe buvo pasirinkta nagrinėti (iki aštuntos sužadintosios būsenos), tolimesni skaičiavimai joms nebuvo atlikti. Galima tikėtis, kad ateityje nagrinėjant aukštesnes dimerų sužadintąsias būsenas, bus rasta daugiau žemos energijos CT būsenų Lhca4 subkomplekse.

3.5.5 Gautų rezultatų palyginimas su LHCI fluorescencijos spektru

Iš pateiktų CT būsenų LHCI šviesorankos antenoje galima išskirti penkias būsenas, kurių energija įskaičius aplinkos elektrostatinę įtaką yra žemesnė nei dimerą sudarančių monomerų Q_y būsenų energija. Tokias būsenas sudarantys dimerai yra $a505^+a510^-$ ir $a509^-a515^+$ Lhca1 subkomplekse, $b513^-a514^+$ Lhca2 subkomplekse, $b314^-a315^+$ Lhca3 subkomplekse bei $a304^+b314^-$ Lhca4 subkomplekse (6–9 lentelėse šių būsenų energijos pateiktos paryškintai, monomerų energijos palyginimui pateiktos 5 lentelėje bei Priedų skiltyje 12–14 lentelėse). Žinoma, kad Lhca1/4 bei Lhca2/3 dimerų fluorescencijos spektruose stebimos dvi smailės (viena ties maždaug 680 nm, o kita – ties maždaug 730 nm), kurias skiria maždaug 1000 cm^{-1} energijos tarpas. Kaip jau buvo paminėta teoriniame įvade, manoma, kad pirmosios (ties $\sim 680\text{ nm}$) smailės susiformavimas yra nulemtas pavienių pigmentų sužadintųjų būsenų. Šiame darbe CDC metodu apskaičiuojant energijos poslinkį tiek monomerų Q_y būsenų, tiek ir dimerų CT būsenų atvejais buvo laikoma, kad konstanta, lemianti poslinkio dydį ir atsakinga už dielektrinio baltymo ekranavimo ir paklaidų dėl atominių dalinių krūvių įtakos reguliavimą, yra lygi vienetui ($\epsilon_{\text{eff}} = 1$). Būtent šios konstantos tikslumu minėtųjų keturių dimerų CT būsenų energijos atitinka antrosios smailės poziciją fluorescencijos spektruose. Galima įtarti, kad šios keturios CT būsenos lemia smailės ties 730 nm atsiradimą. Svar-

bu paminėti, kad CT būsenų energijų vertės gaunamos palyginamos su chlorofilo monomerų Q_y būsenų energijomis tik įskaičius elektrostatinius efektus. Vakuumo aplinkoje tokio efekto pasiekti neįmanoma dėl pernelyg didelio šių energijų skirtumo.

Tačiau, kaip buvo minėta teoriniame įvade, rekonstruotų Lhca1 ir Lhca2 subkompleksų fluorescencijos spektruose nėra į raudonąją spektro pusę paslinktos smailės. Darant prielaidą, kad ši smailė atsiranda dėl subkompleksuose susidarančių krūvio pernašos būsenų, reiktų tikėtis, kad tokių būsenų modeliuojant Lhca1 ir Lhca2 atsirasti neturėtų. Kaip jau buvo parodyta šiame darbe, chlorofilų monomerų ir dimerų sužadintųjų būsenų energijoms iš visų aplinkos molekulių didžiausią įtaką daro aminorūgštys. Baltymas, kuris nėra statiška, bet labiau dinamiška sistema, keisdamas savo protonacijos būseną, keičia ir įtaką aplinkinių chlorofilų energijoms. Galima tikėtis, kad ateityje, įskaičius baltymo protonaciją pažangesniais ir daugiau baltymo bei membranos savybių apimančiais metodais, bus gauti geriau su eksperimentiniais duomenimis ir literatūra sutampantys rezultatai.

Be to, svarbu paminėti ir tai, kad krūvio pernašos energija nėra vienintelis veiksnys, lemiantis energijos pernašą šviesorankos antenoje. Šiame darbe chlorofilo dimerai buvo nagrinėti kaip viena sistema, o susidarančios krūvio pernašos būsenos yra tikrinės būsenos šiai sistemai. Tokios CT būsenos yra įskaitomos kartu su eksitoninėmis molekulių būsenomis, todėl nėra grynos. Išreikštai neįskaičius CT būsenų sąveikos su molekulinio sužadinimo būsenomis, energijos pernašai reikšmingomis laikomos krūvio pernašos būsenos parenkamos tik pagal energijos vertę. Tačiau, jei tokia būseną neturi sąveikos su molekulinio sužadinimo būseną arba sąveika yra silpna, šios būsenos neturės įtakos fluorescencijos spektrui. Tam, kad krūvio pernašos būseną pasireikštų energijos pernašoje, ji turi sąveikauti su molekulinio sužadinimo būsenomis ir iš jų gauti sužadinimo energiją. Ateityje, atsižvelgus į tokią sąveiką tarp būsenų pagal literatūroje [74] naudojamą metodiką, būtų galima gauti labiau spektroskopinius duomenis atitinkančius rezultatus.

Rezultatai ir išvados

1. Pagal atstumą tarp chlorofilų porfirino žiedų centruose esančių magnio atomų buvo atrinktos 44 chlorofilų poros, tarp kurių gali susidaryti krūvio pernašos būsenos. Iš jų devynios – Lhca1 subkomplekse, dvylika – Lhca2, dešimt – Lhca3 ir trylika – Lhca4 subkompleksuose.
2. Pagal Miulikeno krūvių sumą, dimerų statinius bei šuolio dipolinius momentus nagrinėjamoose šviesorankos kompleksuose buvo nustatytos 69 skirtingos tarpchlorofilinės krūvio pernašos būsenos. Po šešiolika iš jų susidaro Lhca1 ir Lhca2 subkompleksuose, septyniolika – Lhca3 ir dvidešimt – Lhca4 subkompleksuose. Nustatyta, kad mažas atsumas tarp dviejų pigmentų yra būtina, tačiau nėra pakankama sąlyga CT būsenai susiformuoti.
3. Nustačius labiausiai tikėtiną baltymo protonacijos būseną visoms keturioms baltymo grandinėms LHCI šviesorankos antenoje, buvo gauta, kad nestandartinės protonacijos būsenoje yra septynios aminorūgštys: asparatas (ASP40), glutamas (GLU98) ir histidinas (HIS223) Lhca1 baltymo grandinėje, glutamas (GLU156) Lhca2 baltymo grandinėje, du glutamai (GLU120 ir GLU161) Lhca3 grandinėje ir glutamas (GLU145) Lhca4 baltymo grandinėje.
4. Įvertinus baltymo protonaciją, CDC metodu buvo apskaičiuoti elektrostatinės aplinkos įtakos nulemti energijų poslinkiai dimerų CT būsenoms ir monomerų Q_y būsenoms. Nustatyta, kad krūvį turinčios aminorūgštys daro didesnę įtaką chlorofilų sužadintųjų ir CT būsenų energijoms nei kiti aplinkos blokai bei kad pasikeitus šių aminorūgščių protonacijai, atitinkamai pasikeistų ir jų nulemtos energijos poslinkio vertės tiriamųjų pigmentų sužadintosioms būsenoms.
5. Visoje LHCI šviesorankos antenoje surastos penkios CT būsenos, kurių energijos, įskaičius aplinkos elektrostatinę įtaką, gautos žemesnės nei monomerų Q_y būsenų energijos. Šios būsenos yra $a505^+a510^-$ ir $a509^-a515^+$ Lhca1 subkomplekse, $b513^-a514^+$ Lhca2 subkomplekse, $b314^-a315^+$ Lhca3 subkomplekse bei $a304^+b314^-$ Lhca4 subkomplekse. Tikėtina, kad būtent šių chlorofilo dimerų CT būsenos ir yra atsakingos už LHCI šviesorankos kompleksų fluorescencijos spektre stebimą smailę raudonojoje spektro srityje.

Padėka

Dėkoju savo darbo vadovui doc. dr. Jevgenij Chmeliiov už visokeriopą pagalbą ir paramą rengiant mokslo tiriamuosius darbus bei baigiamąjį darbą. Taip pat dėkoju doc. dr. Andriui Gelžiniui už atsakymus į kvailus ir nekvailus klausimus. Be to, esu dėkinga ir prof. habil. dr. Leonui Valkūnui už prieš beveik ketverius metus parodytą pasitikėjimą priimant dirbti ir mokytis Biofizikinių tyrimų laboratorijoje. Taip pat dėkoju dr. Francesca Mocci už pagalbą modeliuojant baltymą.

Darbe buvo naudotas Vilniaus universiteto aukšto našumo superkompiuteris VU HPC Fizikos fakulteto dalyje.

Literatūra

- [1] A. Stirbet, D. Lazár, Y. Guo, and G. Govindjee, Photosynthesis: Basics, History and Modeling, *Annals of Botany*, 2020, **126**, 511–537.
- [2] R. E. Blankenship, *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. John Wiley & Sons, 2021.
- [3] A. Larkum, Limitations and Prospects of Natural Photosynthesis for Bioenergy Production, *Current opinion in biotechnology*, 2010, **21**, 271–276.
- [4] A. Amunts and N. Nelson, Functional Organization of a Plant Photosystem I: Evolution of a Highly Efficient Photochemical Machine, *Plant Physiology and Biochemistry*, 2008, **46**, 228–237.
- [5] R. Croce and H. Van Amerongen, Light-Harvesting in Photosystem I, *Photosynthesis Research*, 2013, **116**, 153–166.
- [6] T. Forster, Intermolecular energy transfer and fluorescence, *Annalen der Physik Leipzig*, 1948, **2**, 55–75.
- [7] H. van Amerongen, R. van Grondelle, and L. Valkunas, *Photosynthetic Excitons*. WORLD SCIENTIFIC, 2000.
- [8] M. Tros, V. I. Novoderezhkin, R. Croce, R. van Grondelle, and E. Romero, Complete Mapping of Energy Transfer Pathways in the Plant Light-Harvesting Complex Lhca4, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2020, **22**, 25720–25729.
- [9] R. Croce, A. Chojnicka, T. Morosinotto, *et al.*, The Low-Energy Forms of Photosystem I Light-Harvesting Complexes: Spectroscopic Properties and Pigment-Pigment Interaction Characteristics, *Biophysical journal*, 2007, **93**, 2418–2428.
- [10] E. Wientjes, I. H. Van Stokkum, H. Van Amerongen, and R. Croce, Excitation-Energy Transfer Dynamics of Higher Plant Photosystem I Light-Harvesting Complexes, *Biophysical Journal*, 2011, **100**, 1372–1380.
- [11] T. Morosinotto, M. Mozzo, R. Bassi, and R. Croce, Pigment-Pigment Interactions in Lhca4 Antenna Complex of Higher Plants Photosystem I, *Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**, 20612–20619.
- [12] F. Muh, M. E.-A. Madjet, and T. Renger, Structure-Based Identification of Energy Sinks in Plant Light-Harvesting Complex II, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2010, **114**, 13517–13535.
- [13] A. Sirohiwal, F. Neese, and D. A. Pantazis, Protein Matrix Control of Reaction Center Excitation in Photosystem II, *Journal of the American Chemical Society*, 2020, **142**, 18174–18190.

- [14] F. Müh, M. E.-A. Madjet, J. Adolphs, *et al.*, α -Helices Direct Excitation Energy Flow in the Fenna–Matthews–Olson Protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, **104**, 16862–16867.
- [15] F. Müh, M. E.-A. Madjet, and T. Renger, Structure-Based Simulation of Linear Optical Spectra of the CP43 Core Antenna of Photosystem II, *Photosynthesis research*, 2012, **111**, 87–101.
- [16] F. Müh, D. Lindorfer, M. S. am Busch, and T. Renger, Towards a Structure-Based Exciton Hamiltonian for the CP29 Antenna of Photosystem II, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2014, **16**, 11848–11863.
- [17] F. Müh, M. Plöckinger, H. Ortmayr, M. S. Am Busch, D. Lindorfer, J. Adolphs, and T. Renger, The Quest for Energy Traps in the CP43 Antenna of Photosystem II, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2015, **152**, 286–300.
- [18] J. Adolphs and T. Renger, How Proteins Trigger Excitation Energy Transfer in the FMO Complex of Green Sulfur Bacteria, *Biophysical journal*, 2006, **91**, 2778–2797.
- [19] E. Wientjes, G. Roest, and R. Croce, From Red to Blue to Far-Red in Lhca4: How Does the Protein Modulate the Spectral Properties of the Pigments?, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2012, **1817**, 711–717.
- [20] S. Varma and E. Jakobsson, Ionization States of Residues in OmpF and Mutants: Effects of Dielectric Constant and Interactions Between Residues, *Biophysical journal*, 2004, **86**, 690–704.
- [21] Y. Mazor, A. Borovikova, I. Caspy, and N. Nelson, Structure of the Plant Photosystem I Supercomplex at 2.6 Å Resolution, *Nature plants*, 2017, **3**, 1–9.
- [22] M. Ballottari, L. Dall’Osto, T. Morosinotto, and R. Bassi, Contrasting behavior of higher plant photosystem i and ii antenna systems during acclimation, *Journal of Biological Chemistry*, 2007, **282**, 8947–8958.
- [23] M. Ballottari, C. Govoni, S. Caffarri, and T. Morosinotto, Stoichiometry of LHCI Antenna Polypeptides and Characterization of Gap and Linker Pigments in Higher Plants Photosystem I, *European Journal of Biochemistry*, 2004, **271**, 4659–4665.
- [24] F. Klimmek, U. Ganeteg, J. A. Ihalainen, *et al.*, Structure of the higher plant light harvesting complex i: in vivo characterization and structural interdependence of the lhca proteins, *Biochemistry*, 2005, **44**, 3065–3073.
- [25] T. Morosinotto, M. Ballottari, F. Klimmek, S. Jansson, and R. Bassi, The association of the antenna system to photosystem I in higher plants, *Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**, 31050–31058.

- [26] E. Wientjes, G. T. Oostergetel, S. Jansson, E. J. Boekema, and R. Croce, The role of Lhca complexes in the supramolecular organization of higher plant photosystem I, *Journal of Biological Chemistry*, 2009, **284**, 7803–7810.
- [27] E. Lam, W. Ortiz, and R. Malkin, Chlorophyll a/b Proteins of Photosystem I, *FEBS letters*, 1984, **168**, 10–14.
- [28] E. Wientjes and R. Croce, The Light-Harvesting Complexes of Higher-Plant Photosystem I: Lhca1/4 and Lhca2/3 Form Two Red-Emitting Heterodimers, *Biochemical Journal*, 2011, **433**, 477–485.
- [29] J. A. Ihalainen, R. Croce, T. Morosinotto, I. H. M. van Stokkum, R. Bassi, J. P. Dekker, and R. van Grondelle, Excitation Decay Pathways of Lhca Proteins: A Time-Resolved Fluorescence Study, *J. Phys. Chem. B*, Oct. 2005, **109**, 21150–21158.
- [30] E. Romero, M. Mozzo, I. H. Van Stokkum, J. P. Dekker, R. Van Grondelle, and R. Croce, The Origin of the Low-Energy form of Photosystem I Light-Harvesting Complex Lhca4: Mixing of the Lowest Exciton with a Charge-Transfer State, *Biophysical journal*, 2009, **96**, L35–L37.
- [31] G. D. Scholes, G. R. Fleming, A. Olaya-Castro, and R. Van Grondelle, Lessons from Nature About Solar Light Harvesting, *Nature chemistry*, 2011, **3**, 763–774.
- [32] E. Runge and E. K. Gross, Density-Functional Theory for Time-Dependent Systems, *Physical review letters*, 1984, **52**, 997.
- [33] a. E. Gross, J. Dobson, and M. Petersilka, Density Functional Theory of Time-Dependent Phenomena, *Density functional theory II*, 1996, 81–172.
- [34] C. Fiolhais, F. Nogueira, and M. A. Marques, *A Primer in Density Functional Theory*, vol. 620. Springer Science & Business Media, 2003.
- [35] M. A. Marques and E. K. Gross, Time-Dependent Density Functional Theory, *Annual review of physical chemistry*, 2004, **55**, 427–455.
- [36] B. E. Sundahl, *Time Dependent Density-Functional Theory-Linear Response*, 2013.
- [37] G. Rankelytė, Pirmosios fotosistemos šviesorankos komplekso chlorofilų sužadintosios būsenos, teorinės fizikos ir astrofizikos magistrantūros studijų mokslo tiriamasis darbas I/III, Vilniaus universitetas, 2023.
- [38] G. Rankelytė, Baltyminės aplinkos elektrostatinė įtaka šviesorankos kompleksų sužadintosioms būsenoms, teorinės fizikos ir astrofizikos magistrantūros studijų mokslo tiriamasis darbas II/III, Vilniaus universitetas, 2023.
- [39] G. Rankelytė, Aminorūgščių protonavimo įtaka chlorofilų elektroninio sužadavimo būsenoms, teorinės fizikos ir astrofizikos magistrantūros studijų mokslo tiriamasis darbas II/III, Vilniaus universitetas, 2024.

- [40] F. Aryasetiawan and O. Gunnarsson, Exchange-Correlation Kernel in Time-Dependent Density Functional Theory, *Physical Review B*, 2002, **66**, 165119.
- [41] M. E. Casida and D. Chong, Recent Advances in Density Functional Methods, *Computational Chemistry: Reviews of Current Trends*, 1995.
- [42] T. Yanai, D. P. Tew, and N. C. Handy, A New Hybrid Exchange–Correlation Functional Using the Coulomb-Attenuating Method (CAM-B3LYP), *Chemical physics letters*, 2004, **393**, 51–57.
- [43] R. Bauernschmitt and R. Ahlrichs, Treatment of Electronic Excitations Within the Adiabatic Approximation of Time Dependent Density Functional Theory, *Chemical Physics Letters*, 1996, **256**, 454–464.
- [44] A. Dreuw and M. Head-Gordon, Failure of Time-Dependent Density Functional Theory for Long-Range Charge-Transfer Excited States: the Zinbacteriochlorin-Bacteriochlorin and Bacteriochlorophyll-Spheroidene Complexes, *Journal of the American Chemical Society*, 2004, **126**, 4007–4016.
- [45] H. Iikura, T. Tsuneda, T. Yanai, and K. Hirao, A Long-Range Correction Scheme for Generalized-Gradient-Approximation Exchange Functionals, *The Journal of Chemical Physics*, 2001, **115**, 3540–3544.
- [46] A. D. Becke, Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic Behavior, *Physical review A*, 1988, **38**, 3098.
- [47] T. Renger and F. Müh, Understanding Photosynthetic Light-Harvesting: a Bottom Up Theoretical Approach, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013, **15**, 3348–3371.
- [48] M. Madjet, A. Abdurahman, and T. Renger, Intermolecular Coulomb Couplings from ab initio Electrostatic Potentials: Application to Optical Transitions of Strongly Coupled Pigments in Photosynthetic Antennae and Reaction Centers, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2006, **110**, 17268–17281.
- [49] J. Adolphs, F. Müh, M. E.-A. Madjet, and T. Renger, Calculation of Pigment Transition Energies in the FMO Protein: from Simplicity to Complexity and Back, *Photosynthesis research*, 2008, **95**, 197–209.
- [50] B. R. Brooks, C. L. Brooks III, A. D. Mackerell Jr, *et al.*, CHARMM: the Biomolecular Simulation Program, *Journal of computational chemistry*, 2009, **30**, 1545–1614.
- [51] A. D. MacKerell Jr, D. Bashford, M. Bellott, *et al.*, All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins, *The journal of physical chemistry B*, 1998, **102**, 3586–3616.

- [52] C. M. Breneman and K. B. Wiberg, Determining Atom-Centered Monopoles from Molecular Electrostatic Potentials. The Need for High Sampling Density in Formamide Conformational Analysis, *Journal of Computational Chemistry*, 1990, **11**, 361–373.
- [53] J. Kyte, *Structure in Protein Chemistry*. Garland Science, 2006.
- [54] G. Wu, Amino Acids: Metabolism, Functions, and Nutrition, *Amino acids*, 2009, **37**, 1–17.
- [55] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*. Cengage learning, 2013.
- [56] E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, and T. E. Ferrin, UCSF Chimera—a Visualization System for Exploratory Research and Analysis, *Journal of computational chemistry*, 2004, **25**, 1605–1612.
- [57] X. Qin, M. Suga, T. Kuang, and J.-R. Shen, Structural Basis for Energy Transfer Pathways in the Plant PSI-LHCI Supercomplex, *Science*, 2015, **348**, 989–995.
- [58] R. Dennington, T. A. Keith, and J. M. Millam, GaussView Version 6, 2019. Semichem Inc. Shawnee Mission KS.
- [59] A. Mikalčiūtė, A. Gelžinis, M. Mačernis, C. Büchel, B. Robert, L. Valkunas, and J. Chmeliov, Structure-Based Model of Fucoxanthin–Chlorophyll Protein Complex: Calculations of Chlorophyll Electronic Couplings, *The Journal of Chemical Physics*, 2022, **156**, 234101.
- [60] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, *et al.*, Gaussian~16 Revision C.01, 2016. Gaussian Inc. Wallingford CT.
- [61] L. Premvardhan, D. J. Sandberg, H. Fey, R. R. Birge, C. Buchel, and R. van Grondelle, The Charge-Transfer Properties of the S2 State of Fucoxanthin in Solution and in Fucoxanthin Chlorophyll-*a/c*2 Protein (FCP) Based on Stark Spectroscopy and Molecular-Orbital Theory, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2008, **112**, 11838–11853.
- [62] A. F. Marmolejo-Valencia, Z. Mata-Pinzón, and C. Amador-Bedolla, Charge-Transfer Electronic States in Organic Solar Cells: a TDDFT Study, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2021, **23**, 16806–16815.
- [63] S. Jo, T. Kim, V. G. Iyer, and W. Im, Charmm-gui: A web-based graphical user interface for charmm, *Journal of Computational Chemistry*, June 2008, **29**, 1859–1865.
- [64] M. H. Olsson, C. R. Søndergaard, M. Rostkowski, and J. H. Jensen, PROPKA3: Consistent Treatment of Internal and Surface Residues in Empirical pK_a Predictions, *Journal of chemical theory and computation*, 2011, **7**, 525–537.
- [65] C. R. Søndergaard, M. H. Olsson, M. Rostkowski, and J. H. Jensen, Improved Treatment of Ligands and Coupling Effects in Empirical Calculation and Rationalization of K_a Values, *Journal of chemical theory and computation*, 2011, **7**, 2284–2295.

- [66] F. Tian Lu, Multiwfn: A Multifunctional Wavefunction Analyzer, *J. Comput., and Chem*, 2012, **33**.
- [67] J. Zhang and T. Lu, Efficient Evaluation of Electrostatic Potential with Computerized Optimized Code, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2021, **23**, 20323–20328.
- [68] Z. Liu, H. Yan, K. Wang, *et al.*, Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72Å resolution, *Nature*, Mar. 2004, **428**, 287–292.
- [69] Y. Zhang and J. Skolnick, Scoring function for automated assessment of protein structure template quality, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Oct. 2004, **57**, 702–710.
- [70] J. Adolphs, F. Müh, M. E.-A. Madjet, M. Schmidt am Busch, and T. Renger, Structure-Based Calculations of Optical Spectra of Photosystem I Suggest an Asymmetric Light-Harvesting Process, *JACS*, Feb. 2010, **132**, 3331–3343.
- [71] S. Jurinovich, L. Viani, I. G. Prandi, T. Renger, and B. Mennucci, Towards an *ab initio* Description of the Optical Spectra of Light-Harvesting Antennae: Application to the CP29 Complex of Photosystem II, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 14405–14416.
- [72] V. I. Novoderezhkin, R. Croce, M. Wahadoszamen, I. Polukhina, E. Romero, and R. van Grondelle, Mixing of Exciton and Charge-Transfer States in Light-Harvesting Complex Lhca4, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2016, **18**, 19368–19377.
- [73] V. Sláma, L. Cupellini, V. Mascoli, N. Liguori, R. Croce, and B. Mennucci, Origin of Low-Lying Red States in the Lhca4 Light-Harvesting Complex of Photosystem I, *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2023, **14**, 8345–8352.
- [74] M. Nottoli, S. Jurinovich, L. Cupellini, A. T. Gardiner, R. Cogdell, and B. Mennucci, The role of charge-transfer states in the spectral tuning of antenna complexes of purple bacteria, *Photosynthesis Research*, 2018, **137**, 215–226.

Priedas

Lhca2–Lhca4 CT būsenos

10 lentelė. Krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys Lhca2 subkomplekse. SDM stulpelyje pateiktas statinis dipolinis momentas, TDM – šuolio dipolinis momentas. R stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	R , Å	S_{CT}	E , cm ⁻¹	SDM, D		TDM, D	Miulikeno krūviai	
					$ \mu_n $	$ \mu_n - \mu_0 $	$ \mu_{0 \rightarrow n} $	Chl1	Chl2
1	a504-a505	12,0	$S_5(+ -)$	27424	50,6	51,9	0,56	0,97	-0,97
2			$S_6(- +)$	27586	52,2	50,7	0,27	-0,98	0,98
3	a504-b513	11,9	$S_5(+ -)$	24924	49,2	45,7	0,41	0,97	-0,97
4	a506-a511	9,3	$S_5(+ -)$	21617	25,8	33,2	0,26	0,78	-0,78
5			$S_6(+ -)$	24359	23,7	30,9	1,17	0,76	-0,76
6	a507-a508	11,8	$S_6(+ -)$	26860	48,1	50,8	0,06	1,00	-1,00
7			$S_5(- +)$	27586	53,1	50,1	0,00	-0,99	0,99
8	a508-a514	9,2	$S_5(- +)$	23472	27,1	28,5	0,80	-0,88	0,88
9			$S_6(+ -)$	23956	31,2	29,4	0,85	0,89	-0,89
10	a509-b512	11,9	$S_6(+ -)$	27263	52,0	54,9	0,00	1,00	-1,00
11	a509-b515	8,3	$S_5(+ -)$	22907	32,9	33,5	0,37	0,92	-0,92
12			$S_6(+ -)$	25811	31,3	31,8	0,21	0,92	-0,92
13			$S_7(+ -)$	26376	27,3	27,0	3,44	0,78	-0,79
14	a510-b526	11,9	$S_6(+ -)$	27505	48,7	53,1	0,00	1,00	-1,00
15	b513-a514	10,8	$S_6(- +)$	26940	50,5	50,2	0,00	-1,00	1,00
16	b513-b516	11,5	$S_7(- +)$	27828	33,4	32,1	3,77	-0,65	0,65

11 lentelė. Krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys Lhca3 subkomplekse. SDM stulpelyje pateiktas statinis dipolinis momentas, TDM – šuolio dipolinis momentas. *R* stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	<i>R</i> , Å	<i>S</i> _{CT}	<i>E</i> , cm ⁻¹	SDM, D		TDM, D	Miulikeno krūviai	
					$ \mu_n $	$ \mu_n - \mu_0 $	$ \mu_{0 \rightarrow n} $	Chl1	Chl2
1	a305-a306	11,4	<i>S</i> ₅ (-+)	26860	49,4	48,2	0,28	-0,98	0,98
2			<i>S</i> ₆ (+-)	27747	43,6	44,3	1,35	0,88	-0,88
3	a305-b314	12,0	<i>S</i> ₅ (+-)	24924	48,6	43,8	0,49	0,94	-0,94
4	a306-a311	9,4	<i>S</i> ₅ (+-)	24037	34,9	32,2	0,60	0,96	-0,96
5			<i>S</i> ₆ (-+)	24440	29,4	31,5	0,55	-0,91	0,91
6	a307-a312	9,6	<i>S</i> ₅ (+-)	21939	29,3	34,7	0,44	0,86	-0,86
7			<i>S</i> ₆ (+-)	24762	27,8	33,0	0,60	0,86	-0,86
8	a308-a309	12,1	<i>S</i> ₅ (+-)	26618	49,2	52,1	0,13	0,98	-0,98
9			<i>S</i> ₈ (-+)	28312	50,7	47,8	2,71	-0,93	0,93
10	a310-a316	7,5	<i>S</i> ₆ (+-)	23714	25,6	25,5	1,23	0,64	-0,64
11			<i>S</i> ₇ (-+)	24440	27,9	24,2	1,42	-0,91	0,91
12	a313-a316	11,3	<i>S</i> ₅ (-+)	24682	40,5	46,2	0,16	-0,98	0,98
13			<i>S</i> ₈ (-+)	28715	41,1	46,8	0,39	-0,98	0,98
14	b314-a315	10,6	<i>S</i> ₆ (-+)	27747	48,6	49,1	0,00	-1,00	1,00
15	a315-a317	9,4	<i>S</i> ₅ (+-)	24037	31,9	34,6	0,60	0,83	-0,83
16			<i>S</i> ₆ (-+)	26134	36,6	32,2	0,94	-0,89	0,89
17			<i>S</i> ₇ (+-)	26940	26,7	29,3	0,50	0,75	-0,75

12 lentelė. Krūvio pernašos būsenos ir jas apibūdinantys duomenys Lhca4 subkomplekse. SDM stulpelyje pateiktas statinis dipolinis momentas, TDM – šuolio dipolinis momentas. *R* stulpelyje pateikti atstumai tarp pigmentų magnio atomų.

Nr.	Dimeras (Chl1-Chl2)	<i>R</i> , Å	<i>S</i> _{CT}	<i>E</i> , cm ⁻¹	SDM, D		TDM, D	Miulikeno krūviai	
					$ \mu_n $	$ \mu_n - \mu_0 $	$ \mu_{0 \rightarrow n} $	Chl1	Chl2
1	a304-a305	12,4	<i>S</i> ₅ (-+)	27262	55,4	51,2	0,30	-0,91	0,91
2			<i>S</i> ₆ (+-)	27988	45,3	48,4	1,77	0,91	-0,91
3	a304-b314	11,7	<i>S</i> ₅ (+-)	25407	47,8	44,9	0,35	0,96	-0,96
4	a305-a310	9,5	<i>S</i> ₅ (-+)	23391	29,1	30,6	0,67	-0,89	0,89
5			<i>S</i> ₆ (+-)	24762	34,6	31,7	0,82	0,96	-0,96
6			<i>S</i> ₇ (-+)	27504	16,6	18,0	2,55	-0,51	0,51
7	a306-a311	9,3	<i>S</i> ₅ (-+)	21697	23,1	32,8	0,20	-0,82	0,82
8			<i>S</i> ₇ (-+)	24601	16,2	25,1	0,87	-0,66	0,66
9	a307-a308	12,1	<i>S</i> ₅ (+-)	27424	47,1	51,5	0,29	0,98	-0,98
10			<i>S</i> ₆ (-+)	27585	56,0	50,7	0,28	-0,99	0,99
11	a308-a315	8,8	<i>S</i> ₅ (+-)	22100	18,4	17,5	2,06	0,59	-0,59
12	a309-b313	12,0	<i>S</i> ₆ (+-)	27101	53,0	55,8	0,00	1,00	-1,00
13	a309-b316	8,2	<i>S</i> ₅ (+-)	22826	28,9	31,6	0,49	0,83	-0,83
14			<i>S</i> ₆ (+-)	25730	26,6	29,1	1,67	0,80	-0,80
15			<i>S</i> ₇ (+-)	26133	22,2	23,7	4,12	0,64	-0,64
16	a310-a312	11,4	<i>S</i> ₅ (-+)	26456	56,5	51,0	0,00	-1,00	1,00
17			<i>S</i> ₆ (+-)	27988	46,1	51,5	0,03	1,00	-1,00
18	b314-a315	10,8	<i>S</i> ₆ (-+)	26778	50,4	49,7	0,00	-1,00	1,00
19	a315-a318	10,4	<i>S</i> ₅ (+-)	25891	39,9	43,9	0,27	0,95	-0,95
20			<i>S</i> ₆ (-+)	26778	44,3	38,6	2,17	-0,91	0,91

Lhca2–Lhca4 baltymo grandinių lengvai deprotonuojamų aminorūgščių pusiausvyros konstantos vertės

13 lentelė. Lengvai protonuojamų aminorūgščių rūšių Lhca2 baltymo grandinėje pusiausvyros konstantos vertės, nustatytos moduliu PROPKA 3 [64, 65].

Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a
ASP	63	3,94	GLU	124	6,78	TYR	241	10,5
ASP	78	2,36	GLU	142	4,84	LYS	128	11,16
ASP	84	4,44	GLU	144	4,61	LYS	187	10,37
ASP	88	4,51	GLU	156	8,68	LYS	213	10,4
ASP	95	3,26	GLU	164	3,17	LYS	215	9,75
ASP	148	1,45	GLU	216	4,01	LYS	220	8,36
ASP	170	5,69	GLU	221	2,26	LYS	223	8,1
ASP	180	1,94	HIS	109	-2	ARG	64	12,12
ASP	192	3,09	HIS	239	5,06	ARG	100	12,24
ASP	202	4,48	HIS	253	5,66	ARG	111	11,28
ASP	248	3,79	HIS	259	6,64	ARG	166	10,88
ASP	256	3,72	CYS	176	9,7	ARG	167	11,89
GLU	61	4,5	TYR	138	9,98	ARG	218	13,19
GLU	97	4,03	TYR	145	12,29	ARG	226	10,66
GLU	106	6,79	TYR	195	12,65			

14 lentelė. Lengvai protonuojamų aminorūgščių rūšių Lhca3 baltymo grandinėje pusiausvyros konstantos vertės, nustatytos moduliu PROPKA 3 [64, 65].

Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a
ASP	69	3,9	GLU	222	3,64	LYS	124	10,35
ASP	75	4,33	GLU	227	4,99	LYS	178	10,42
ASP	79	2,21	HIS	170	5,2	LYS	184	10,27
ASP	85	2,59	HIS	259	4,96	LYS	192	10,43
ASP	153	2,31	HIS	275	6,39	LYS	218	11,44
ASP	175	5,53	TYR	67	13,45	LYS	221	10,43
ASP	216	3,58	TYR	76	10,89	LYS	224	9,01
ASP	258	4,38	TYR	100	12,07	LYS	226	9,42
GLU	87	4,63	TYR	121	10,19	LYS	229	8,39
GLU	94	4,83	TYR	148	10,48	ARG	55	12,5
GLU	102	4,26	TYR	150	13	ARG	96	11,95
GLU	120	7,04	TYR	155	10,43	ARG	107	11,77
GLU	131	4,61	TYR	186	10,16	ARG	171	10,21
GLU	161	8,23	TYR	202	14,05	ARG	172	13,95
GLU	169	6,43	TYR	241	13,85	ARG	232	11,69
GLU	191	4,4	TYR	253	10,74			
GLU	217	4,31	LYS	62	10,47			

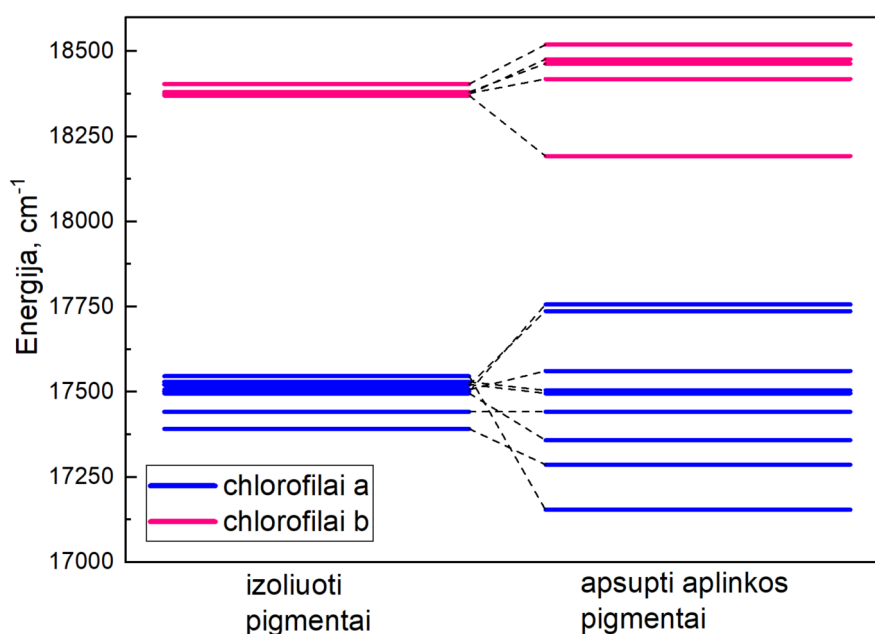
15 lentelė. Lengvai protonuojamų aminorūgščių rūšių Lhca4 baltymo grandinėje pusiausvyros konstantos vertės, nustatytos moduliu PROPKA 3 [64, 65].

Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a	Aminorūgštis	ID	pK_a
ASP	73	3,26	GLU	145	8,01	TYR	184	13,7
ASP	77	4,07	GLU	153	-0,48	LYS	52	10,26
ASP	84	3,62	GLU	181	4,54	LYS	53	10,31
ASP	128	3,71	GLU	199	4,24	LYS	89	11,16
ASP	159	5,47	GLU	202	5,58	LYS	125	11,95
ASP	169	2,69	GLU	204	2,42	LYS	131	11,17
ASP	231	2,76	HIS	150	6,03	LYS	161	9,72
ASP	239	3,91	HIS	222	5,01	LYS	173	10,45
GLU	55	4,67	HIS	236	5,65	LYS	201	9,49
GLU	83	4,77	HIS	242	6,64	LYS	203	10,06
GLU	86	3,91	TYR	65	13,22	LYS	227	10,4
GLU	95	6,62	TYR	127	11,76	ARG	100	11,9
GLU	113	6,13	TYR	134	12,42	ARG	155	10,94
GLU	132	4,9	TYR	151	10,79	ARG	156	12,22
GLU	133	4,6	TYR	175	10,2	ARG	209	10,9

Aplikos įtaka Lhca1–Lhca3 monomerų energijoms

16 lentelė. Lhca1 subkomplekso chlorofilo monomerų Q_y energijos ir energijų poslinkiai dėl monomerus supančios aplinkos.

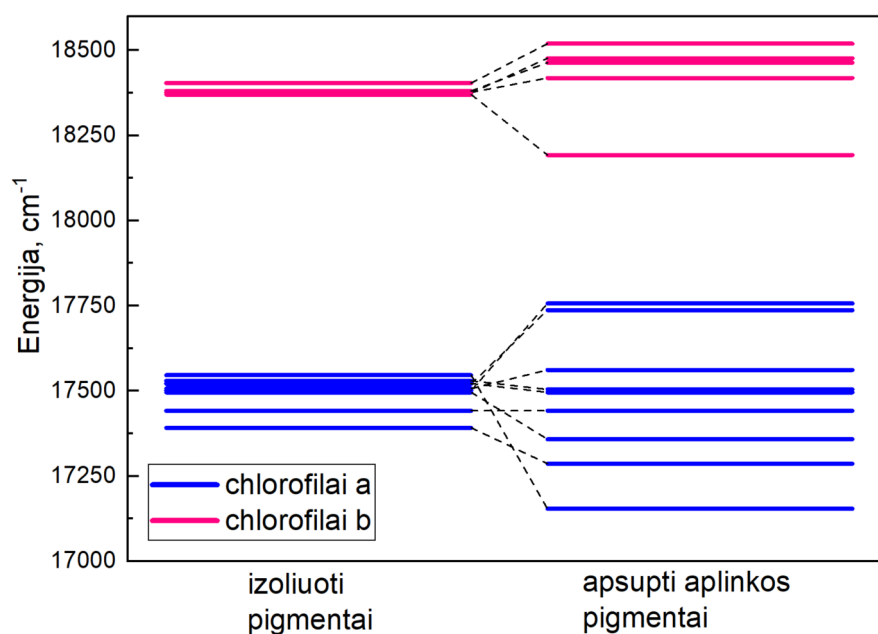
Monomeras	E_{Q_y}, cm^{-1}	$\Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$	$E_{Q_y} + \Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$
a504	17473	-363	17110
a505	17533	148	17681
a506	17621	-151	17470
a507	17510	4	17514
a508	17535	29	17564
a509	17528	49	17577
a510	17596	275	17871
a511	17512	54	17566
b512	18337	-346	17991
a513	17513	-88	17424
b514	18365	18	18384
a515	17534	418	17952
a516	17534	-268	17266
b521	18385	155	18540



12 pav. Lhca1 subkomplekso chlorofilo monomerų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrosstatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta.

17 lentelė. Lhca2 subkomplekso chlorofilo monomerų Q_y energijos ir energijų poslinkiai dėl monomerus supančios aplinkos.

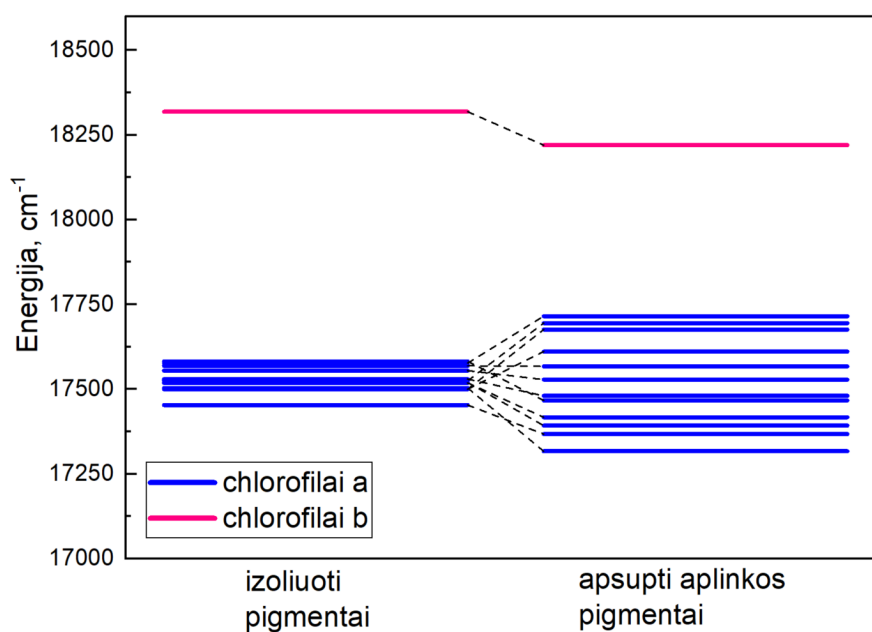
Monomeras	E_{Q_y}, cm^{-1}	$\Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$	$E_{Q_y} + \Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$
a504	17547	-392	17154
a505	17521	216	17737
a506	17392	-105	17287
a507	17442	0	17442
a508	17496	-137	17358
a509	17530	-25	17505
a510	17502	255	17757
a511	17507	55	17562
b512	18375	102	18477
b513	18370	-177	18193
a514	17522	-26	17496
b515	18377	42	18419
b516	18404	115	18520
b526	18381	83	18464



13 pav. Lhca2 subkomplekso chlorofilo monomerų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrostatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta.

18 lentelė. Lhca3 subkomplekso chlorofilo monomerų Q_y energijos ir energijų poslinkiai dėl monomerus supančios aplinkos.

Monomeras	E_{Q_y}, cm^{-1}	$\Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$	$E_{Q_y} + \Delta E_{Q_y}, \text{cm}^{-1}$
a305	17520	-127	17393
a306	17525	170	17695
a307	17453	-85	17368
a308	17518	-101	17417
a309	17569	-2	17567
a310	17582	-115	17467
a311	17577	138	17715
a312	17501	175	17676
a313	17504	-187	17317
b314	18319	-98	18220
a315	17500	111	17611
a316	17530	-49	17480
a317	17555	-26	17528



14 pav. Lhca3 subkomplekso chlorofilo monomerų energijos lygmenų diagrama. Kairiajame stulpelyje pateikti energijos lygmenys neįskaičius aplinkos elektrostatinės įtakos, o dešiniajame – kai aplinkos įtaka įskaityta.

Electrostatic Interaction in Photosynthetic Complexes

Gabrielé Rankelytė

Summary

Photosynthesis is one of the most important processes on Earth. The most efficient organisms that carry out photosynthesis are higher plants. In the thylakoid membrane of chloroplasts there are two systems that carry out photosynthesis – Photosystem I (PSI) and Photosystem II (PSII), both with their own light harvesting complexes LHCI and LHCII. PSI is the most efficient light-to-energy conversion apparatus with quantum yield almost equal to 1. One of the prerequisites for high efficiency is very fast energy transfer between the molecules in light harvesting complex. Light-harvesting complex of PSI absorbs and emits light at the longest wavelengths compared to other pigment–protein complexes found in land plants. In plants, light harvesting antenna of PSI is composed of four species of LHCI complexes. They all have very similar structure; however, their spectral properties are different. The red-shifted peak in the fluorescence spectra of these light harvesting sub-complexes is observed at different wavelengths.

The excitation dynamics in LHCI is highly affected by the charge-transfer (CT) states that occur between two or more pigments (chlorophylls or carotenoids). Some sites in which CT states occur in LHCI are known, however, they do not completely explain the spectral properties of this antenna, such as the red-shifted peak in fluorescence spectrum. The energy of the excited states of pigments (including the CT states) are highly affected by the surrounding environment, consisting of other pigments and the protein chain. Therefore, it is necessary to account for the environment in order to model light-harvesting complexes properly.

The aim of this work is to describe the electrostatic impact that the protein environment has on the excited electronic states of single pigments and intermolecular CT states, forming between two chlorophylls. The main tasks of this work were to identify CT states, forming between two chlorophyll molecules in the Lhca1–Lhca4 subcomplexes, model the electrostatic environment surrounding the chlorophylls while considering possible protein protonation patterns, and calculate the resulting energy shifts for the chlorophyll monomer Q_y states and chlorophyll dimer CT states.

We chose to analyze the structure of LHCI that was obtained as the 1st–4th chains of PSI supercomplex structure at 2.6 Å resolution, freely accessible on Protein Data Bank (PDB ID: 5L8R). The structure was compared to the structure of LHCI at 2.8 Å resolution (PDB ID: 4XK8) in order to later set recent results side by side to the previous studies. Since short distance between the chlorophylls is a prerequisite for a CT state to form, we calculated the distances between magnesium atoms of all chlorophylls (for all four subcomplexes) and chose 44 pairs in LHCI, that satisfied this condition (relatively short distance was chosen to be ≤ 12.5 Å). We performed quantum chemical calculations to obtain energies of chlorophyll dimer CT states *in vacuo*. The values of the sum of Mulliken partial charges, static and transition dipole moments for excited states were analyzed and thus 69 CT states forming in LHCI were found.

The environment (single chlorophylls, carotenoids and the protein chain molecules in their ground state) was included in our calculations by obtaining atomic partial charges of both environmental blocks and dimers of interest and evaluating the electrostatic interaction between these charges. In case of the protein chains, we estimated the most probable protonation pattern for every subcomplex in neutral solution and thus found that seven amino acids are in non-standard protonation states in LHCI (ASP40, GLU98 and HIS223 in Lhca1, GLU156 in Lhca2, GLU120 and GLU161 in Lhca3 and GLU145 in Lhca4 protein chain).

The energy shifts caused by the environment were calculated using the CDC method for both chlorophyll monomer Q_y states and dimer CT states. There are five cases in LHCI antenna, where the energy of all monomer Q_y states exceeds the energy of the CT states. These CT states are $a505^+a510^-$ and $a509^-a515^+$ in Lhca1, $b513^-a514^+$ in Lhca2, $b314^-a315^+$ in Lhca3 and $a304^+b314^-$ in Lhca4 subcomplex. The energies of these states correspond to the spectral position of the red shifted peak in the fluorescence spectra of Lhca1/Lhca4 and Lhca2/Lhca3 dimers if the effective dielectric constant in CDC method is chosen appropriately.