

ФЕМТОСЕКУНДНАЯ ЭКСИТОННАЯ РЕЛАКСАЦИЯ В ХЛОРОСОМАХ ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ ЗЕЛЁНОЙ БАКТЕРИИ *Chloroflexus aurantiacus*

© 2023 А.Г. Яковлев*, А.С. Таисова, З.Г. Фетисова

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского,
119992 Москва, Россия; электронная почта: yakov@belozersky.msu.ru

Поступила в редакцию 30.01.2023

После доработки 20.03.2023

Принята к публикации 31.03.2023

В зелёных бактериях *Chloroflexus* (*Cfx.*) *aurantiacus* процесс фотосинтеза начинается с поглощения света хлоросомами — периферическими антеннами, состоящими из тысяч молекул бактериохлорофилла *c* (БХл *c*), объединённых в олигомерные структуры. При этом в БХл *c* образуются возбуждённые состояния, энергия которых мигрирует по хлоросоме по направлению к базовой пластинке и далее к реакционному центру, где происходит первичное разделение зарядов. Миграция энергии сопровождается безызлучательными электронными переходами между многочисленными экситонными состояниями, то есть экситонной релаксацией. В настоящей работе мы изучали динамику экситонной релаксации в хлоросомах *Cfx. aurantiacus* с помощью разностной фемтосекундной спектроскопии при криогенной температуре (80 К). Хлоросомы возбуждались световыми импульсами длительностью 20 фс на длинах волн в диапазоне от 660 до 750 нм, а разностные (свет—темнота) кинетики поглощения измерялись на длине волны 755 нм. Математический анализ полученных данных выявил кинетические компоненты с характерными временами 140, 220 и 320 фс, отвечающие за экситонную релаксацию. По мере уменьшения длины волны возбуждения количество и относительный вклад этих компонент увеличивались. Теоретическое моделирование полученных данных было проведено на основе представлений о цилиндрическом строении агрегатов БХл *c*. Безызлучательные переходы между группами экситонных полос описывались системой кинетических уравнений. Наиболее адекватной оказалась модель, учитывающая энергетический и структурный беспорядок хлоросом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фотосинтез, зелёные бактерии, *Chloroflexus aurantiacus*, хлоросома, фемтосекундная спектроскопия.

DOI: 10.31857/S0320972523050135, **EDN:** AZKOVQ

ВВЕДЕНИЕ

Фотосинтез отвечает за преобразование солнечной энергии в химическую энергию стабильных соединений, что в конечном счёте обуславливает само существование живой природы, производя кислород и органику на нашей планете. При всём многообразии фотосинтезирующих организмов первичный этап фотосинтеза у них одинаковый — это поглощение солнечного света специальными пигментами, объединёнными в светособирающие структуры, и передача энергии возбуждённых состояний этих пигментов в реакционные цен-

тры, где происходит разделение зарядов [1]. Энергия разделённых зарядов используется далее для синтеза химических соединений. Квантовая эффективность первичных стадий природного фотосинтеза близка к 100%, что пока недостижимо для искусственных преобразователей солнечной энергии. Эта уникальная особенность побуждает исследовать первичный фотосинтез на протяжении десятилетий.

Зелёные фотосинтезирующие бактерии обитают в условиях дефицита солнечного света, что обуславливает огромные размеры и сложную структуру их светособирающих комплексов — хлоросом. Типичная хлоросома (рис. 1) состоит

Принятые сокращения: БХл — бактериохлорофилл; ΔA — разность поглощения (свет—темнота); τ_{1-6} — характерное время кинетических компонент; $\lambda_{\text{возб.}}$ — длина волны возбуждения; $\lambda_{\text{зонд.}}$ — длина волны зондирования.

* Адресат для корреспонденции.

из 10^4 – 10^5 молекул бактериохлорофилла (БХл) *c*, *d*, *e* и имеет форму эллипсоида размером 100 – 200×40 – 100×10 – 30 нм, прикреплённого к внутренней стороне цитоплазматической мембраны [2]. Многочисленные исследования по спектроскопии хлоросом с помощью разнообразных методик показали сильную олигомеризацию молекул БХл в них [3–6]. Было показано, что в основе пространственной структуры хлоросом лежат квазилинейные цепи молекул БХл [5]. Олигомеризация молекул основного пигмента в хлоросомах происходит в основном благодаря образованию водородных связей между соседними молекулами [7–8]. В отличие от большинства других светособирающих комплексов, олигомеризация в хлоросомах происходит по принципу самоагрегации, то есть не требует наличия жёсткой белковой матрицы. Небольшое количество белка содержится только в оболочке хлоросом и в базовой пластинке, соединяющей хлоросому с мембраной [2, 9]. Эта уникальная особенность хлоросом позволяет рассматривать их в качестве прообраза для будущих искусственных преобразователей солнечной энергии. Базовая пластинка содержит молекулы БХл *a*, вмонтированные в белковую матрицу. Хлоросомы также содержат небольшое количество каротиноидов, выполняющих важную роль фотопротекции [9]. Оказалось, что зелёные бактерии одного и того же вида, живущие при разных интенсивностях света, отличаются размерами хлоросом: чем меньше световой поток, тем больше хлоросома [10, 11].

Пространственная организация хлоросом дебатировалась на протяжении многих лет, однако единого мнения пока не достигнуто [5, 12–19]. Определить координаты всех атомов хлоросом можно только с помощью рентгеноструктурного анализа кристаллов, однако получить такие кристаллы пока не удаётся. Данные электронной микроскопии хлоросом указывают на цилиндрические структуры диаметром 5–10 нм, расположенные параллельно их

длинной оси [13, 14]. Комбинируя эти данные с данными спектроскопии, было предложено несколько моделей пространственной структуры хлоросом [3, 9, 12, 15]. Согласно одной из них, хлоросома зелёной бактерии *Chloroflexus (Cfx.) aurantiacus* состоит из 10–20 полых цилиндрических структур (рис. 1), каждая из которых образована шестью параллельными цепями молекул БХл *c* [12]. Альтернативная модель предполагает наличие изогнутых параллельных плоскостей (ламелл), образованных двумерными агрегатами БХл [16]. Комбинация методов направленного мутагенеза, спектроскопии одиночных хлоросом и криоэлектронной микроскопии привела к представлению о концентрических спиральных нанотрубках, образованных слоями молекул БХл различной ориентации [17]. Ряд моделей предполагает структуру молекулярных агрегатов в виде рулонов или полуцилиндров [18, 19]. Принимая во внимание гетерогенность оптических свойств хлоросом, можно предположить, что все из перечисленных выше типов структур могут быть представлены в них.

В результате поглощения света хлоросомами образуются возбуждённые состояния олигомеров БХл. Теоретическое моделирование показало, что оптический спектр поглощения этих олигомеров состоит из большого количества экситонных полос, распределённых по нескольким группам [20]. Сильное перекрытие этих полос приводит к гладкому профилю интенсивной Q_y полосы поглощения хлоросом в красной области спектра. Миграция энергии возбуждения по олигомерам БХл в хлоросомах исследовалась в рамках различных экспериментальных и теоретических подходов [12, 20–30]. В цилиндрической модели хлоросом перенос энергии внутри отдельных цилиндров и между соседними цилиндрами занимает около 100 фс [30]. За 250 фс точечное возбуждение охватывает всю хлоросому, а через 500 фс оно концентрируется в тех агрегатах, которые

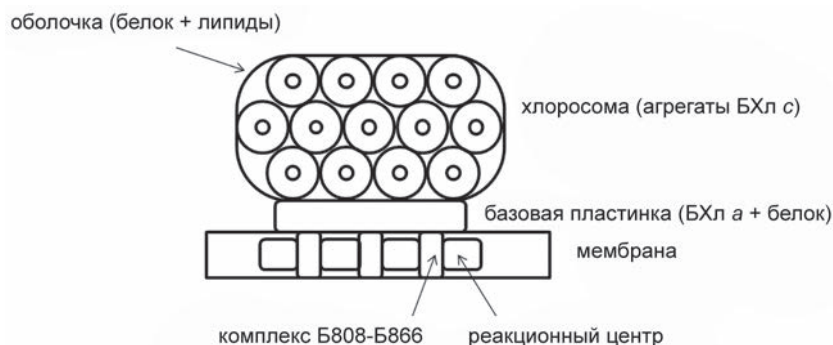


Рис. 1. Упрощённая структурная схема хлоросомы *Cfx. aurantiacus* (поперечный разрез) согласно цилиндрической модели

непосредственно примыкают к базовой пластинке. Таким образом, поток энергии направлен к базовой пластинке перпендикулярно главной оси хлоросомы и осям цилиндров. Далее происходит перенос энергии на молекулы БХл *a* базовой пластинки с характерным временем от одной до нескольких десятков пс, зависящем от вида бактерий и размера их хлоросом. Перенос энергии к реакционному центру также происходит в пикосекундном диапазоне. Миграция энергии по хлоросоме сопровождается её релаксацией, которая носит сложный экситонно-колебательный характер и происходит с характерным временем от ≤ 100 до 300 фс [22, 27–29, 31, 32]. В хлоросомах *Cfx. aurantiacus* экситонная релаксация была обнаружена при криогенной [22] и комнатной [28, 31, 32] температурах, хотя в более ранней работе [21] сообщалось о неудачной попытке обнаружения этого довольно слабого процесса. Отметим, что изучение процессов релаксации энергии в хлоросомах важно для углубления знаний о связи структуры и функции этих уникальных природных объектов.

Процессы миграции, переноса и трансформации энергии отражаются в кинетиках изменения поглощения (свет–темнота) хлоросом, в которых представлены несколько компонент, отличающихся по характерному времени. В хлоросомах *Cfx. aurantiacus* основная кинетическая компонента полосы Q_y БХл *c* имеет время жизни порядка 10 пс и отражает перенос энергии БХл *c* $\rightarrow$ БХл *a* [12, 21, 33]. Кроме этой компоненты, указанные кинетики содержат несколько более быстрых компонент с характерными временами порядка 1–2 и 0,1 пс [21–25]. Показано, что компонента 1–2 пс отражает перенос энергии БХл *c* $\rightarrow$ БХл *a*. Что касается самой быстрой компоненты 0,1 пс, то единого мнения о её происхождении нет. Скорее всего, эта компонента отражает некогерентную миграцию энергии между различными агрегатами хлоросомы [30], однако не исключена и её когерентная природа.

На примере хлоросомы зелёных бактерий природа демонстрирует изящный способ создания внешне простого устройства для высокоэффективного улавливания и переноса световой энергии. Для этого требуется определённое количество однотипных молекул, способных поглощать свет и одновременно способных к самоагрегации. Экситонное взаимодействие молекул пигмента обеспечивает высокую скорость миграции энергии, которая в конечном счёте переносится на реакционный центр, где происходит первичное разделение зарядов. При этом в хлоросоме отсутствует жёсткая матрица,

которая задаёт взаимное расположение молекул пигмента. Оптимальная пространственная конфигурация этих молекул в хлоросоме получается «сама собой» только благодаря олигомеризации. В результате хлоросома по своим физическим свойствам в чём-то напоминает жидкий кристалл. Несомненно, воспроизведение уникальных свойств хлоросом в работах по искусственному фотосинтезу поможет в создании высокоэффективных преобразователей солнечной энергии. Актуальность изучения хлоросом не ограничивается тематикой искусственного фотосинтеза. Построение адекватной математической модели переноса энергии в хлоросомах далеко от завершения, хотя отдельные стороны этого явления отражены теоретически достаточно полно (обзор в работе Яковлева и соавт. [1]). Эта модель должна органично учитывать как экситонное взаимодействие пигментов между собой, так и экситонно-колебательное взаимодействие пигментов с окружением. В этом контексте получение новой информации об экситонной релаксации в хлоросомах представляется актуальным.

В данной работе мы провели систематическое исследование фемтосекундных процессов экситонной релаксации в хлоросомах зелёной фотосинтезирующей бактерии *Cfx. aurantiacus*. Для возбуждения различных экситонных переходов длина волны импульсов возбуждения варьировалась от 660 до 750 нм, что соответствует всей полосе поглощения Q_y , включая протяжённое коротковолновое крыло. Длина волны зондирования была 755 нм, что близко к экситонному переходу с минимальной энергией и максимальным временем жизни [4]. В кинетиках разностного (свет–темнота) поглощения ΔA обнаружены слабые фемтосекундные компоненты, отвечающие за экситонную релаксацию. Оказалось, что количество, относительный вклад и характерные времена этих компонент зависят от длины волны возбуждения. Впервые экспериментально показано наличие экситонных переходов вдали от центра полосы Q_y , то есть в области слабого коротковолнового крыла при $\lambda < 700$ нм. Показано, что при возбуждении этих переходов происходит быстрая релаксация энергии к её минимальному значению, соответствующему длине волны ~ 755 нм. Теоретическое моделирование кинетик ΔA показало, что в хлоросомах одновременно происходят безызлучательные переходы между экситонными состояниями с различной энергией. Изменение энергии экситонов может быть обусловлено как их взаимодействием с окружением, так и миграцией по хлоросоме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культуры зелёной бактерии *Cfx. aurantiacus* Ok-70-f1 выращивали в анаэробных условиях при 55 °С на стандартной среде [10] при постоянном перемешивании и интенсивности света 500 Вт/м². Выделение хлоросом из клеток проводили в двух последовательных непрерывных градиентах концентраций (m/v) сахарозы (55–20% и 45–15%) в присутствии 10 мМ аскорбата натрия и 2 мМ тиоционата натрия, как описано ранее [34]. Фемтосекундные разностные (свет–темнота) кинетики поглощения (ΔA) измеряли с помощью лазерного спектрометра (рис. 2), собранного на базе титан-сапфирового генератора световых импульсов («Spectra Physics», США). В качестве генератора использовался лазер с синхронизацией продольных мод, работающий с частотой 76 МГц. В состав спектрометра также входил титан-сапфировый усилитель («Авеста», Россия) и многоканальный анализатор оптических спектров («Oriel», Франция). В процессе усиления световые импульсы проходили кристалл титан-сапфира 8 раз. Перед усилением фемтосекундные импульсы растягивались до пикосекундной длительности для предотвращения оптического пробоя кристалла. После усиления пикосекундные импульсы вновь сжимались до первоначальной фемтосекундной длительности. Разрешение по времени спектрометра составляло 20 фс. Выделение спектральных диапазонов возбуждения и зондирования проводили с помощью интерференционных фильтров из фемтосекундного континуума, для генерации которого усиленные импульсы (энергия 0,3 мДж, длина волны 805 нм, частота повторения 40 Гц) фокусировали в плоскую струю этиленгликоля толщиной 0,2 мм. Спектр континуума охватывал весь видимый диапазон, а также часть ближнего ИК- и ближнего УФ-диапазонов. Континуум разделялся на две части, меньшая из которых (~2%) после фильтрации использовалась для зондирования, а основная — для возбуждения образца. При необходимости возбуждающий свет дополнительно ослаблялся нейтральными светофильтрами. Для отсекающего рассеянного света континуума использовалось диафрагмирование с помощью пространственных фильтров. Спектральная дисперсия импульсов возбуждения и зондирования оптимизировалась перед входом в образец с помощью призмённых компрессоров. Возбуждение образцов проводили на длинах волн 660, 675, 690, 705, 720, 735 и 750 нм, а зондирование — на длине волны 755 нм. Интенсивность возбуждения соответствовала

линейному режиму измерений и составляла $2\text{--}6 \times 10^{12}$ фотонов/см² за один импульс. Спектральная ширина импульсов на входе в образец была ~15 нм. Угол между плоскостями поляризаций лучей возбуждения и зондирования составлял 54,7° (магический угол), что позволяло проводить изотропные (не зависящие от поляризации света) измерения. Коэффициент поглощения образцов хлоросом составлял 0,5 на длине волны 740 нм в кювете толщиной 1 мм. Для уменьшения уровня шумов проводили усреднение по 5000–15 000 измерений. Погрешность измерения кинетик ΔA составляла 0,4%. Изменение интервала времени между импульсами возбуждения и зондирования осуществлялось с помощью оптической линии задержки с точностью 1 фс. Задержка по времени между импульсами возбуждения и зондирования варьировала в диапазоне от –0,2 до 2 пс с шагом 10 фс. Рабочая частота спектрометра была 40 Гц. Измерения кинетик проводили при температуре 80 К, для чего кювету с хлоросомами помещали в криостат. При этом в образцы хлоросом добавляли глицерин в количестве 65% (v/v) для получения хорошей прозрачности. Для измерения стационарного спектра поглощения хлоросом при 80 К в качестве источника света использовалась лампа накаливания. Величины ΔA определялись как разность значений поглощения образца с возбуждением и без возбуждения:

$$\Delta A_{\lambda} = \log(I_0/I_{\text{возб.}})_{\lambda} - \log(I_0/I_{\text{без возб.}})_{\lambda}, \quad (1)$$

где I_0 — энергия света на входе в образец (опорный свет), I — энергия прошедшего через образец света. Аппроксимация экспериментальных кинетик ΔA проводилась суммой экспоненциальных и тригонометрических функций с учётом функции возбуждения J :

$$\Delta A(t) = J \times (B_0 + \sum (B_i \exp(-t/\tau_i) + C_i \cos(-\omega_i t) \exp(-t/\phi_i))), \quad (2)$$

где символ $\times$ означает свёртку, B_0 — амплитуда постоянной компоненты, B_i — амплитуда компоненты с характерным временем τ_i , C_i — амплитуда осциллирующей компоненты с частотой ω_i и характерным временем затухания ϕ_i . Наличие компоненты B_0 обусловлено медленными процессами с характерными временами, существенно превышающими временное окно измерений. В качестве функции возбуждения J использовалась кросс-корреляционная функция импульсов возбуждения и зондирования, которая измерялась при помощи коррелятора на основе нобата лития. Поскольку

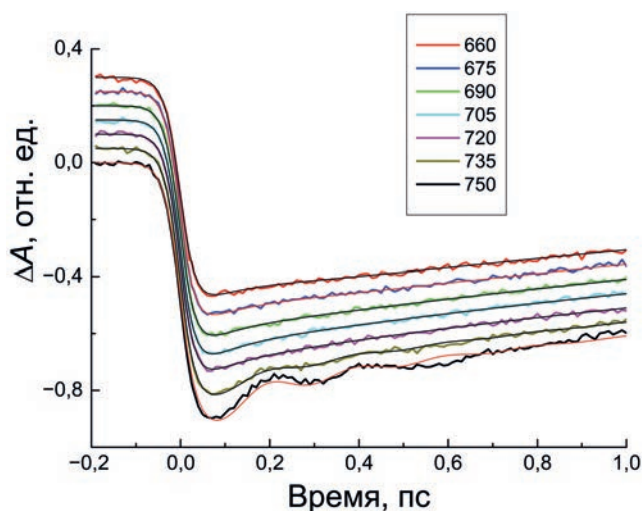


Рис. 4. Кинетики ΔA хлоросом *Cfx. aurantiacus*, измеренные на длине волны 755 нм при возбуждении импульсом длительностью 20 фс на длинах волн 660, 675, 690, 705, 720, 735 и 750 нм. Кинетики нормированы и смещены по вертикали для наглядности. Тонкими линиями даны аппроксимирующие кривые. Подробности аппроксимации — в тексте. В рамке указаны цвета кинетических кривых

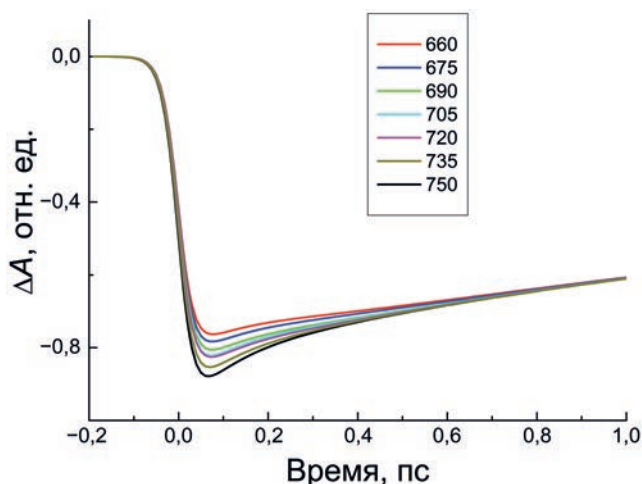


Рис. 5. Аппроксимирующие кривые кинетик ΔA , представленных на рис. 4, очищенные от осциллирующих компонент. Кривые нормированы при задержке 2 пс между импульсами возбуждения и зондирования. Параметры аппроксимации находятся в таблице и тексте. В рамке указаны цвета кинетических кривых

создаёт вынужденное излучение из возбуждённых состояний, что ещё более смещает ΔA в отрицательную сторону. После окончания импульса возбуждения все кинетики демонстрируют уменьшение заселённости возбуждённых состояний в пикосекундном диапазоне в основном из-за переноса энергии БХл *c* → БХл *a*. Если длины волн возбуждения и зондирования достаточно близки, в кинетиках ΔA наблюдаются слабые когерентные осцилляции, полностью затухающие в течение 1–2 пс по-

сле возбуждения (см. кинетики при $\lambda_{\text{возб.}} = 750$ и 735 нм). Согласно литературным данным, Фурье-анализ осцилляций в хлоросомах показывает спектр характерных частот в области 10–400 см^{-1} [1, 21]. Среди этих частот доминируют две: 50 и 150 см^{-1} , имеющие период около 600 и 200 фс соответственно. При аппроксимации кинетик мы ограничились учётом этих двух осцилляций в виде затухающих гармонических функций (см. формулу 2), что дало хорошее качественное приближение (см. тонкие линии на рис. 4). Математический анализ некогерентной части кинетик состоял в их аппроксимации суммой экспоненциальных функций с различными характерными временами и амплитудами. Результат этой аппроксимации показан на рис. 5, а параметры аппроксимирующих функций приведены в таблице. При аппроксимации учитывалась инструментальная функция, дающая начальный спад всех кинетик в результате возбуждения хлоросом. При анализе кинетик мы стремились минимизировать количество компонент и предпочитали варьировать их амплитуду, оставляя неизменным характерное время. Погрешность определения констант времени и амплитуд компонент составляла около 10%.

Компоненты τ_{1-3} представляют для нас наибольший интерес, поскольку имеют отрицательную амплитуду, то есть могут отражать дополнительный рост заселённости возбуждённых состояний БХл *c*. Характерные времена этих компонент составляют $\tau_1 = 140$, $\tau_2 = 220$ и $\tau_3 = 320$ фс, то есть значительно больше длительности импульса возбуждения. При $\lambda_{\text{возб.}} = 750$ нм данные компоненты отсутствуют в кинетике ΔA . При $\lambda_{\text{возб.}} = 735$ нм наблюдается одна компонента τ_1 , при $\lambda_{\text{возб.}} = 720$, 705 и 690 нм наблюдаются две компоненты, τ_1 и τ_2 , а при $\lambda_{\text{возб.}} = 675$ и 660 нм в кинетиках присутствуют три компоненты, τ_{1-3} . Суммарный вклад этих компонент возрастает от 4% при $\lambda_{\text{возб.}} = 735$ нм до 14% при $\lambda_{\text{возб.}} = 660$ нм, то есть остаётся относительно небольшим. Таким образом, по мере удаления $\lambda_{\text{возб.}}$ от $\lambda_{\text{зонд.}}$ наблюдается увеличение как числа компонент, так и их суммарного вклада. Наиболее вероятной причиной возникновения компонент τ_{1-3} является экситонная релаксация, в результате которой энергия возбуждения передаётся от коротковолновых к длинноволновым экситонным уровням. Избыток энергии поглощается окружением, в качестве которого могут выступать сами агрегаты БХл *c*. В этот процесс могут быть вовлечены разные колебательные состояния, поэтому правильнее считать эту релаксацию экситонно-колебательной.

Параметры аппроксимирующих функций экспериментальных кинетик ΔA

$\lambda_{\text{возб.}},$ нм	$\tau_1, \text{ пс}$	$\tau_2, \text{ пс}$	$\tau_3, \text{ пс}$	$\tau_4, \text{ пс}$	$\tau_5, \text{ пс}$	$\tau_6, \text{ пс}$
750				$0,1 \pm 0,012$ ($+0,16 \pm 0,01$)	$1,3 \pm 0,05$ ($+0,34 \pm 0,006$)	$11 \pm 0,3$ ($+0,5 \pm 0,008$)
735	$0,14 \pm 0,03$ ($-0,04 \pm 0,006$)			$0,1 \pm 0,007$ ($+0,16 \pm 0,01$)	$1,3 \pm 0,06$ ($+0,34 \pm 0,005$)	$11 \pm 0,4$ ($+0,5 \pm 0,008$)
720	$0,14 \pm 0,023$ ($-0,07 \pm 0,006$)	$0,22 \pm 0,04$ ($-0,01 \pm 0,0023$)		$0,1 \pm 0,008$ ($+0,16 \pm 0,012$)	$1,3 \pm 0,08$ ($+0,34 \pm 0,007$)	$11 \pm 0,3$ ($+0,5 \pm 0,01$)
705	$0,14 \pm 0,022$ ($-0,04 \pm 0,006$)	$0,22 \pm 0,025$ ($-0,04 \pm 0,0045$)		$0,1 \pm 0,008$ ($+0,16 \pm 0,013$)	$1,3 \pm 0,08$ ($+0,34 \pm 0,005$)	$11 \pm 0,4$ ($+0,5 \pm 0,007$)
690	$0,14 \pm 0,02$ ($-0,05 \pm 0,007$)	$0,22 \pm 0,03$ ($-0,05 \pm 0,005$)		$0,1 \pm 0,01$ ($+0,16 \pm 0,012$)	$1,3 \pm 0,06$ ($+0,34 \pm 0,006$)	$11 \pm 0,4$ ($+0,5 \pm 0,006$)
675	$0,14 \pm 0,025$ ($-0,04 \pm 0,005$)	$0,22 \pm 0,0035$ ($-0,04 \pm 0,004$)	$0,32 \pm 0,04$ ($-0,04 \pm 0,004$)	$0,1 \pm 0,006$ ($+0,16 \pm 0,015$)	$1,3 \pm 0,07$ ($+0,34 \pm 0,005$)	$11 \pm 0,3$ ($+0,5 \pm 0,008$)
660	$0,14 \pm 0,02$ ($-0,04 \pm 0,005$)	$0,22 \pm 0,03$ ($-0,04 \pm 0,003$)	$0,32 \pm 0,03$ ($-0,06 \pm 0,005$)	$0,1 \pm 0,008$ ($+0,16 \pm 0,012$)	$1,3 \pm 0,1$ ($+0,34 \pm 0,006$)	$11 \pm 0,3$ ($+0,5 \pm 0,01$)

Примечание. $\lambda_{\text{возб.}}$ — длина волны возбуждения, τ_{1-6} — характерное время экспоненциальной компоненты. В скобках даны относительные амплитуды компонент. Знак «+» или «-» обозначает рост или спад величины ΔA с течением времени

Компоненты τ_{4-6} имеют положительную амплитуду, что соответствует уменьшению заселённости возбуждённых состояний. Характерные времена и относительные вклады этих компонент практически не зависят от длины волны возбуждения с точностью около 10%. Мультиэкспоненциальный характер распада возбуждённых состояний хлоросом *Cfx. aurantiacus* с характерными временами, близкими к приведённым в таблице, отмечается во многих работах [21–23, 28, 31, 32]. Компоненты $\tau_5 = 1,3$ пс и $\tau_6 = 11$ пс отражают перенос энергии БХл $c \rightarrow$ БХл a , поскольку в кинетиках ΔA БХл a наблюдаются зеркальные изменения с близкими временами. Компонента $\tau_5 = 1,3$ пс может также отражать миграцию энергии между агрегатами БХл c . При измерениях кинетик с задержкой более 100 пс выявлен ряд слабых медленных компонент [21]. Природа компоненты $\tau_4 = 0,1$ пс до конца не выяснена. Данная компонента может быть следствием процессов синглет-синглетной аннигиляции экситонов, которая присуща спектроскопическим измерениям в хлоросомах даже при очень низкой энергии возбуждения [26, 27]. Кроме того, компонента τ_4 может иметь когерентную или артефактную природу.

Аннигиляция экситонов может существенно исказить кинетику ΔA в хлоросомах. При увеличении плотности возбуждения от $\sim 10^{12}$ до $\sim 10^{14}$ фотонов/см² за один импульс в кинетике

ΔA появляются новые субпикосекундные компоненты, имеющие разный знак и значительно меняющие начальную динамику ΔA [27]. В нашей работе оптическая плотность образцов при $\lambda < 700$ нм была в ~ 15 раз меньше таковой в центре полосы Q_y (рис. 3), а плотность возбуждения была в 3 раза больше (2×10^{12} фотонов/см² при $\lambda_{\text{возб.}} \geq 700$ нм и 6×10^{12} фотонов/см² при $\lambda_{\text{возб.}} \leq 700$ нм). Это означает, что начальная плотность экситонов для кинетик, измеренных при $\lambda_{\text{возб.}} \leq 700$ нм, была в несколько раз меньше, чем таковая для кинетик, измеренных при $\lambda_{\text{возб.}} \geq 700$ нм. Соответственно, влияние аннигиляции экситонов на кинетики, измеренные при $\lambda_{\text{возб.}} \leq 700$ нм, было меньше, чем на кинетики, измеренные при $\lambda_{\text{возб.}} \geq 700$ нм. Может показаться, что чем ближе $\lambda_{\text{возб.}}$ к центру полосы Q_y , тем больше быстрых компонент в неосциллирующей части экспериментальных кинетик (рис. 5). Сравнение кинетик, измеренных при разных $\lambda_{\text{возб.}}$, показывает, что это не так. Кинетики, измеренные при $\lambda_{\text{возб.}} = 660, 675, 690$ и 705 нм, имеют заметные отличия при $t < 300$ фс, тогда как начальная плотность экситонов в этих измерениях была примерно одинаковой. То же самое можно утверждать для неосциллирующих частей кинетик, измеренных при $\lambda_{\text{возб.}} = 720$ и 750 нм. Кинетика, измеренная при $\lambda_{\text{возб.}} = 735$ нм, имела самую большую начальную плотность экситонов среди всех

кинетик, однако она демонстрирует более пологий подъем неосциллирующей части, чем кинетика, измеренная при $\lambda_{\text{возб.}} = 750$ нм (рис. 5). По-видимому, полностью избавиться от аннигиляции невозможно даже при плотности возбуждения $\sim 10^{11}$ фотонов/см² за один импульс [27]. Другим серьёзным фактором, осложняющим анализ наших данных, являются когерентные явления, возникающие при фемтосекундном возбуждении хлоросом. Отделение осцилляций, имеющих сложную форму, от неосциллирующей части кинетик всегда содержит неопределённость. Эта задача становится неразрешимой при закритическом затухании когерентности. В этом случае периодическая осцилляция превращается в набор экспоненциальных компонент и становится неотличимой от некогерентных вкладов.

Впервые экситонная релаксация в хлоросомах *Cfx. aurantiacus* наблюдалась при криогенной температуре [22]. В этой работе была обнаружена слабая кинетическая компонента ΔA ($\tau = 300$ фс) с отрицательной амплитудой при $\lambda_{\text{возб.}} = 731$ нм и $\lambda_{\text{зонд.}} = 758$ нм. Позднее кинетические компоненты ΔA , присущие экситонной релаксации, были обнаружены в кинетиках хлоросом *Cfx. aurantiacus* при комнатной температуре [28, 31, 32]. В работе Martiskainen et al. [28] эта компонента имела характерное время 150 фс и наблюдалась при $\lambda_{\text{возб.}} = 685$ нм и $\lambda_{\text{зонд.}} = 758$ нм, но отсутствовала при $\lambda_{\text{зонд.}} = 742$ нм. В работе Yakovlev et al. [31] обнаружена очень слабая компонента с характерным временем 70 фс при $\lambda_{\text{возб.}} = 725$ нм и $\lambda_{\text{зонд.}} = 755$ нм. В работе Yakovlev et al. [32] при $\lambda_{\text{возб.}} = 490$ нм и $\lambda_{\text{зонд.}} = 620\text{--}770$ нм наблюдались, среди прочих компонент, две компоненты кинетик ΔA с характерными временами 100–130 фс и 220–270 фс, которые можно объяснить экситонной релаксацией. В хлоросомах других фотосинтезирующих бактерий также обнаружены явные признаки экситонной релаксации. Так, в кинетиках хлоросом бактерии *Chlorobium phaeobacteroides*, состоящей из агрегатов БХЛ *e*, наблюдались компоненты экситонной релаксации с временами 200–500 фс [27]. В кинетиках хлоросом зелёных фотосинтезирующих бактерий *Chlorobaculum tepidum* и *Prosthecochloris aestuarii* при $\lambda_{\text{возб.}} = 685$ нм и $\lambda_{\text{зонд.}} = 758$ нм были выделены компоненты с временами 117–160 фс, которые были приписаны переносу энергии между экситонными полосами с различной энергией [29]. Подчеркнём, что пространственная миграция энергии внутри хлоросом неразрывно связана с релаксацией энергии, поскольку каждая экситонная полоса имеет собственное распределение электрон-

ной плотности по агрегатам БХЛ [30]. Из этого следует, что в общем случае безызлучательные переходы между экситонными уровнями могут быть связаны как с потерями энергии, так и с её миграцией. Трудность обнаружения кинетических компонент ΔA , отвечающих экситонной релаксации, связана с присутствием в этих кинетиках близких компонент, которые отражают иные процессы. В нашем случае компоненты $\tau_1 = 0,14$ пс и $\tau_4 = 0,1$ пс имеют разный знак и поэтому частично компенсируют друг друга. Отметим ещё раз, что серьёзным фактором, затрудняющим анализ кинетик, является синглет-синглетная аннигиляция, присущая молекулярным агрегатам [37]. В хлоросомах эта аннигиляция заметно искажает кинетику ΔA , что заставляет применять импульсное возбуждение с очень низкой интенсивностью порядка $10^{11}\text{--}10^{12}$ фотонов/см² для минимизации этого искажения [27]. Применение более интенсивного возбуждения ускоряет начальный этап кинетик, что может привести к ошибочному выводу о наличии очень быстрых процессов переноса энергии. В нашей работе интенсивность возбуждения была 2×10^{12} фотонов/см² при $\lambda_{\text{возб.}} \geq 700$ нм и 6×10^{12} фотонов/см² при $\lambda_{\text{возб.}} \leq 700$ нм, что соответствует относительно небольшой аннигиляции.

Как отмечалось во Введении, имеется большое количество структурных моделей хлоросом. Без точного знания атомных координат выбор в пользу той или иной модели невозможен. Общим для всех моделей является представление о квазилинейных цепях молекул БХЛ, которые могут образовывать более сложные трёхмерные структуры. Спектр поглощения хлоросом определяется в основном именно свойствами этих линейных цепей, и только в меньшей степени — взаимным расположением цепей. Данное утверждение особенно верно для хлоросом *Cfx. aurantiacus*, в которых относительно небольшая плотность упаковки молекул БХЛ приводит к тому, что среднее расстояние между соседними цепями (1–2 нм) исключает возможность образования водородных связей между молекулами из соседних цепей [12]. В этом случае слабое взаимодействие цепей достигается за счёт сил Ван-дер-Ваальса.

Для теоретического моделирования экситонной релаксации в хлоросоме *Cfx. aurantiacus* мы выбрали модель цилиндрических агрегатов БХЛ *c* [12, 36]. Эта модель предполагает, что линейные цепи молекул БХЛ объединены в длинные полые цилиндры. В рамках этой модели типичная хлоросома *Cfx. aurantiacus* состоит из 10–20 таких цилиндров, расположенных в 1–3 слоя по несколько цилиндров

в каждом слое. Каждый цилиндр состоит из примерно 500 молекул БХл *c* и поделен на одинаковые элементарные блоки по 20–40 молекул в каждом блоке. Для определённости мы предположили, что элементарный блок состоит из 6 линейных цепей, каждая из которых состоит из нескольких молекул БХл *c*. Данная модель хорошо объясняет экспериментальные спектры стационарного поглощения и флуоресценции при комнатной и криогенной температуре [36], спектры кругового дихроизма и фемтосекундные спектры ΔA [38], а также согласуется с данными количественного анализа хлоросом *Cfx. aurantiacus* [12]. Для имитации разброса энергетических и структурных параметров мы варьировали энергию взаимодействия соседних молекул БХл *c* и количество молекул в каждой цепи. Такой подход согласуется с экспериментами по спектроскопии одиночных хлоросом [39] и широко применяется во многих теоретических работах. В расчётах мы использовали гауссовский профиль экситонных переходов. Колебательная структура экситонных полос и эффект гиперхромизма не учитывались.

Рассчитанный спектр полосы поглощения полосы Q_y представлен на рис. 6. Детали теоретического моделирования можно найти в работах Fetisova et al. и Mairing et al. [12, 36]. Спектр образован большим количеством экситонных переходов. Теоретический спектр близок по форме к экспериментальному: он имеет асимметричную форму с растянутым коротковолновым крылом. Это крыло протянулось вплоть до $\lambda \sim 620$ нм, при этом центральная длина волны поглощения мономерных молекул БХл *c* полагалась равной 663 нм в соответствии с данными эксперимента [24]. Самый длинноволновый переход находится при 752,4 нм, а самый интенсивный – при 742 нм. Группа интенсивных переходов образует центральную часть полосы Q_y , а большая часть слабых переходов находится при $\lambda \leq 700$ нм. Для получения гладкого профиля полосы Q_y ширина каждого перехода полагалась много больше разности энергий между соседними переходами.

Для приближённого расчёта динамики релаксации энергии мы разделили все экситонные переходы на несколько групп, расположенных последовательно на шкале энергий, и рассмотрели безызлучательные переходы между возбуждёнными состояниями этих групп без детализации процессов, происходящих внутри каждой группы (рис. 7, вставка справа). Иными словами, каждая группа считалась одним состоянием с определённой энергией. Такой подход оправдан в случае сильного пе-

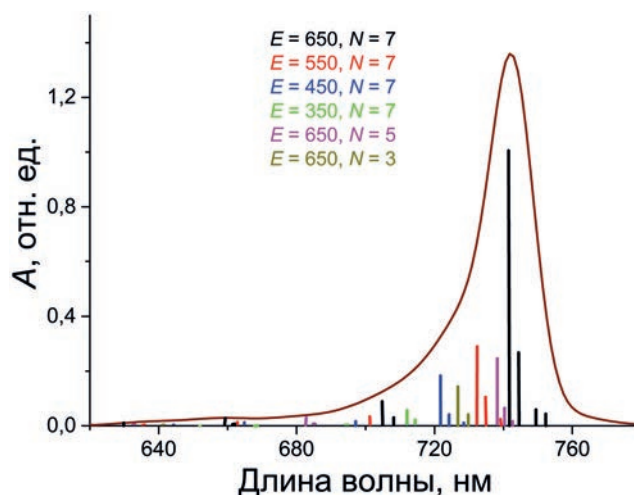


Рис. 6. Теоретический спектр стационарного поглощения полосы Q_y хлоросом *Cfx. aurantiacus*, полученный на основе модели цилиндрического агрегата [12, 36, 38]. Амплитуды и центральные длины волн экситонных переходов, дающих вклад в суммарный спектр, показаны вертикальными линиями разной высоты. Слабые переходы со вкладом менее 0,5% не показаны. Цветом выделены переходы для различных энергий взаимодействия E соседних молекул БХл и различного количества молекул N в каждой цепи агрегата. Математические подробности приведены в оригинальных теоретических работах

рекрытия энергий соседних переходов, когда невозможно селективное возбуждение и зондирование отдельного перехода, но каждая группа может возбуждаться селективно. Число таких групп составило 7 в диапазоне 660–750 нм в соответствии с набором из семи длин волн возбуждения в эксперименте. Учитывались прямые и обратные переходы как между соседними группами на шкале энергий, так и между более удалёнными по энергии группами (см. вставку на рис. 7). Отношение скоростей прямых и обратных переходов равнялось фактору Больцмана [40]. Предполагалось, что каждая группа реализует прямой перенос БХл *c* $\rightarrow$ БХл *a* (потери энергии системы) с одной одинаковой скоростью и независимо от других групп. Отметим, что так называемые лестничные или каскадные модели, подобные нашей, широко применяются для моделирования различных процессов релаксации энергии, в том числе для описания колебательной релаксации мономерных молекул [40, 41].

Результат моделирования кинетики группы возбуждённых состояний с минимальной энергией (длина волны 750 нм) представлен на рис. 7. Для наглядности кинетики нормированы при задержке 2 пс. Оказалось, что хорошее качественное согласие с экспериментом (рис. 7, вставка слева) достигается, если характерное время безызлучательного перехода между соседними группами равно 140 фс,

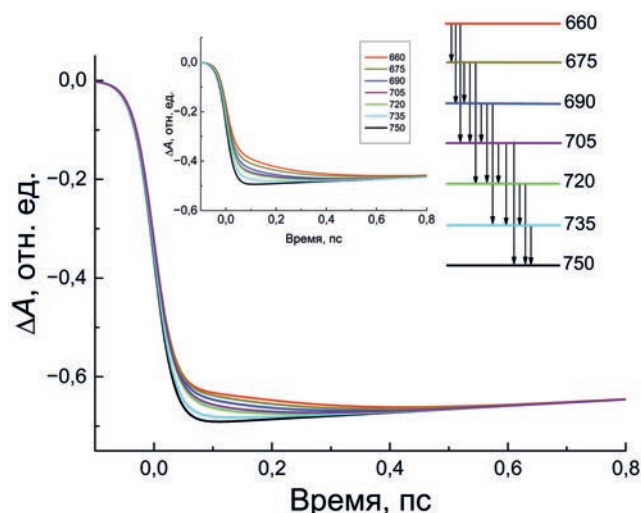


Рис. 7. Теоретические кинетики ΔA хлоросом *Cfx. aurantiacus*, рассчитанные на основе модели релаксационных переходов между группами экситонных полос, поглощающих на длинах волн 660, 675, 690, 705, 720, 735 и 750 нм (см. вставку справа). Цветом выделены кинетики для соответствующих длин волн возбуждения. Длина волны зондирования считалась равной 755 нм. Кривые нормированы при задержке 2 пс между импульсами возбуждения и зондирования. На вставке слева — аппроксимирующие кинетики с рис. 5, из которых удалены компоненты τ_4 и τ_5 . Подробности — в тексте

а между группами, разделёнными на шкале энергий одной или двумя соседними группами, это время составило около 220 и 320 фс. Эти времена совпадают с экспериментальными константами кинетических компонент (таблица). Возбуждение на длине волны 750 нм даёт кинетику, не содержащую релаксационных переходов. При $\lambda_{\text{возб.}} = 735$ нм в кинетике появляется компонента экситонной релаксации с константой времени 140 фс, соответствующая безызлучательному переходу в соседнюю группу. При $\lambda_{\text{возб.}} = 720$ нм в кинетике появляется вторая компонента релаксации с константой времени 220 фс, соответствующая безызлучательному переходу между группами, поглощающими при 720 и 750 нм. Третья компонента с константой времени 320 фс соответствует безызлучательным переходам типа 705 $\rightarrow$ 750, 690 $\rightarrow$ 735 и т. д. Эта компонента становится заметной при $\lambda_{\text{возб.}} \leq 690$ нм.

К сожалению, даже при криогенной температуре не удаётся селективно возбудить и зондировать отдельные экситонные переходы в хлоросомах. Можно предположить, что релаксационные переходы между соседними экситонными уровнями в хлоросомах *Cfx. aurantiacus* происходят за время ≤ 100 фс. Это предположение согласуется с результатами ряда работ. Так, общая теория динамики поляронов в двумерной молекулярной матрице, применённая к цилиндрической модели

хлоросом, показывает, что делокализация и релаксация экситонов происходят за время около 100 фс [42]. К такому же выводу о том, что диффузия экситонов происходит за время ≤ 100 фс, приводят данные по двумерной электронной спектроскопии хлоросом зелёных серных бактерий [43].

Таким образом, данные нашей работы показывают, что увеличение разности энергий экситонных уровней приводит к общему замедлению релаксационного переноса энергии между ними в соответствии с теорией диссипации энергии в открытых системах [40]. В простейшем случае двухуровневой системы и слабой электронно-колебательной связи зависимость скорости релаксации от величины энергетического зазора приближённо описывается экспоненциальной функцией. В нашем случае эта зависимость качественно иная: с увеличением разности энергий между группами экситонных переходов возникают более медленные компоненты релаксации, но скорости всех компонент практически не зависят от этой разности. Наличие нескольких релаксационных компонент можно объяснить множественностью путей миграции экситонов по хлоросоме. Экситоны могут возбуждаться в разных частях хлоросомы и преодолевать разные расстояния до момента перехода в базовую пластинку. Чем больше времени длится миграция экситона по хлоросоме, тем больше энергии он потеряет, и наоборот. С другой стороны, диссипация энергии экситонов может происходить с участием разных термостатов и, следовательно, иметь разную скорость. В простейшем случае в качестве термостата может выступать одна колебательная мода [44]. В этом случае безызлучательный переход между двумя экситонными уровнями будет происходить по механизму внутренней конверсии. Поскольку в хлоросомах отсутствует белковая матрица [2], в качестве термостатирующего окружения могут выступать различные группы атомов, принадлежащих молекулам БХл, а также каротиноиды или белки и липиды, образующие оболочку хлоросом.

Аппроксимация спектра поглощения хлоросом *Cfx. aurantiacus* в рамках цилиндрической структурной модели даёт хороший результат (рис. 6). Тем не менее коротковолновое крыло экспериментального спектра может содержать колебательные переходы, не учтённые нашей моделью. Спектроскопия вынужденного комбинационного рассеяния хлоросом *Cfx. aurantiacus* выявила ряд колебательных переходов, самые сильные из которых имеют частоты 94, 148, 272, 753, 1153 и 1540 см^{-1} [45].

Фактор Хуана–Риса (Huang–Rhys) всех этих мод очень мал: он варьирует от 0,008 для моды 753 см^{-1} до 0,05 для моды 272 см^{-1} . Для самого сильного экситонного перехода ($\lambda = 742\text{ нм}$) 0–1 колебательный переход этих мод имеет длины волн в спектре поглощения при 737, 733, 727, 702, 683 и 666 нм соответственно. Возбуждение на длинах волн от 660 до 750 нм в нашей работе могло привести к заселению первого уровня данных мод. Колебательная релаксация в возбуждённом состоянии даёт дополнительное изменение спектра ΔA в области 0–0 перехода [41]. Величина этого изменения не превышает нескольких процентов. Характерные времена колебательной релаксации мономерных хлорофиллов составляют несколько сотен фс [44]. Аналогичные времена для хлоросом до сих пор не определены, однако допускается, что при олигомеризации хлорофиллов эти времена могут дополнительно уменьшиться. Кроме того, олигомеризация БХл с в хлоросомах *Cfx. aurantiacus* приводит к эффекту гиперхромизма, когда взаимодействие Q_y и $B_{x,y}$ переходов приводит к тому, что дипольный момент переходов Q_y дополнительно усиливается за счёт ослабления переходов $B_{x,y}$ [46]. Влияние этого эффекта на динамику экситонов не исследовано.

В хлоросомах *Cfx. aurantiacus* фемтосекундное возбуждение приводит к появлению когерентных осцилляций при достаточной близости длин волн возбуждения и зондирования (рис. 4). Эти осцилляции затухают в течение 1–2 пс после возбуждения и имеют частоты, характерные для колебательной когерентности, что подтверждается их близостью к частотам резонансного комбинационного рассеяния хлоросом [21, 47]. Первый, самый интенсивный пик этих осцилляций наблюдается сразу после возбуждения и имеет характерную длительность порядка 100 фс и относительную амплитуду до 10%. Когерентное возбуждение нескольких колебательных уровней формирует волновой пакет [48], который совершает осциллирующее движение по потенциальной поверхности возбуждённого электронного состояния. При своём движении волновой пакет излучает, причём длина волны этого излучения меняется во времени. Теоретически каждый экситонный уровень хлоросом имеет собственную потенциальную поверхность. Переход волнового пакета с одной поверхности на другую (если таковой возможен) сопровождается его деградацией. При значительной разнице между $\lambda_{\text{возб.}}$ и $\lambda_{\text{зонд.}}$ волновой пакет должен совершить несколько таких переходов и побывать на потенциальных поверхностях всех экситонных уровней, чьи

спектры находятся между $\lambda_{\text{возб.}}$ и $\lambda_{\text{зонд.}}$, прежде чем он начнёт излучать вблизи $\lambda_{\text{зонд.}}$. Это неизбежно приведёт к его полному исчезновению, что и подтверждается отсутствием осцилляций при $\lambda_{\text{возб.}} < 740\text{ нм}$ (рис. 4). При близких $\lambda_{\text{возб.}}$ и $\lambda_{\text{зонд.}}$ могут возбуждаться и зондироваться одни и те же экситонные переходы, поэтому волновой пакет может успешно достичь области зондирования и остаться на первоначальной потенциальной поверхности. Отметим, что когда когерентные осцилляции имеют затухание больше критического, они становятся аperiодическими и могут быть ошибочно приняты за обычные кинетические компоненты. Детальное исследование когерентных эффектов в хлоросомах может дать новую информацию о спектре экситонных переходов и, следовательно, о пространственном строении хлоросом.

В заключение отметим, что длинноволновые экситонные полосы с низкой энергией играют ключевую роль в процессе светосбора в хлоросомах, эффективно накапливая энергию перед её отправкой в базовую пластинку и далее в реакционный центр. Широкополосный солнечный свет приводит к экситонным переходам во всём видимом диапазоне, однако уже через несколько сотен фс после поглощения очередной порции фотонов их энергия преобразуется в энергию возбуждённых состояний, расположенных в красной области спектра (вблизи 752 нм в хлоросомах *Cfx. aurantiacus*). Эта релаксация энергии отражает миграцию экситонов по хлоросоме к базовой пластинке. Для эффективной передачи энергии в базовую пластинку экситоны с низкой энергией локализуются на агрегатах БХл, непосредственно примыкающих к базовой пластинке. Таким образом, изучение спектральной динамики экситонов раскрывает их пространственную динамику.

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность покойному академику В.А. Шувалову за общую поддержку и постоянное внимание к их работе.

Вклад авторов. З.Г. Фетисова – общее руководство работой, постановка задачи, обсуждение результатов; А.Г. Яковлев – постановка задачи, проведение экспериментов и расчётов, обсуждение результатов, написание статьи; А.С. Таисова – приготовление образцов, написание статьи.

Финансирование. Работа выполнена за счёт средств госзадания «Фотобиофизика преобразования солнечной энергии в живых системах» (№ АААА-А17-117120540070-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо ис-

следований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Яковлев А. Г., Таисова А. С., Фетисова З. Г. (2020) Перенос энергии в светособирающих аппаратах природного фотосинтеза, *Усп. совр. биол.*, **140**, 166-182, doi: 10.31857/S0042132420020088.
2. Frigaard, N.-U., and Bryant, D. (2006) Chlorosomes: antenna organelles in green photosynthetic bacteria, in: *Complex Intracellular Structures in Prokaryotes. Microbiology Monographs* (Shively, J. M., ed), Springer, Berlin, pp. 79-114, doi: 10.1007/7171_021.
3. Blankenship, R. E., Olson, J. M., and Miller, M. (1995) Antenna complexes from green photosynthetic bacteria, in *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria* (Blankenship, R. E., Madigan, M. T., Bauer, C. E., eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 399-435, doi: 10.1007/0-306-47954-0_20.
4. Fetisova, Z., and Muring, K. (1992) Experimental evidence of oligomeric organization of antenna bacteriochlorophyll *c* in green bacterium *Chloroflexus aurantiacus* by spectral hole burning, *FEBS Lett.*, **307**, 371-374, doi: 10.1016/0014-5793(92)80715-s.
5. Fetisova, Z., Freiberg, A., and Timpmann, K. (1988) Long-range molecular order as an efficient strategy for light harvesting in photosynthesis, *Nature (London)*, **334**, 633-634, doi: 10.1038/334633a0.
6. Van Dorssen, R. J., Vasmel, H., and Ames, J. (1986) Pigment organization and energy transfer in the green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus*. II. The chlorosome, *Photosynth. Res.*, **9**, 33-45, doi: 10.1007/BF00029729.
7. Krasnovsky, A., and Bystrova, M. (1980) Self-assembly of chlorophyll aggregated structures, *BioSystems*, **12**, 181-194, doi: 10.1016/0303-2647(80)90016-7.
8. Smith, K., Kehres, L., and Fajer, J. (1983) Aggregation of bacteriochlorophylls *c*, *d* and *e*. Models for the antenna chlorophylls of green and brown photosynthetic bacteria, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 1387-1389, doi: 10.1021/ja00343a062.
9. Olson, J. M. (1998) Chlorophyll organization and function in green photosynthetic bacteria, *Photochem. Photobiol.*, **67**, 61-75, doi: 10.1111/j.1751-1097.1998.tb05166.x.
10. Pierson, B., and Castenholz, R. (1974) Pigments and growth in *Chloroflexus aurantiacus*, a phototrophic filamentous bacterium, *Arch. Microbiol.*, **100**, 283-305, doi: 10.1007/BF00446324.
11. Oelze, J. (1992) Light and oxygen regulation of the synthesis of bacteriochlorophyll *a* and bacteriochlorophyll *c* in *Chloroflexus aurantiacus*, *J. Bacteriol.*, **174**, 5021-5026, doi: 10.1128/jb.174.15.5021-5026.1992.
12. Fetisova, Z. G., Freiberg, A. M., Muring, K., Novoderezhkin, V. I., Taisova, A. S., and Timpmann, K. E. (1996) Excitation energy transfer in chlorosomes of green bacteria: Theoretical and experimental studies, *Biophys. J.*, **71**, 995-1010, doi: 10.1016/S0006-3495(96)79301-3.
13. Sprague, S., Staehelin, L., DiBartolomeis, M., and Fuller, R. (1981) Isolation and development of chlorosomes in the green bacterium *Chloroflexus aurantiacus*, *J. Bacteriol.*, **147**, 1021-1031, doi: 10.1128/jb.147.3.1021-1031.1981.
14. Staehelin, L., Golecki, J., Fuller, R., and Drews, G. (1978) Visualization of the supramolecular architecture of chlorosomes (*Chlorobium* type vesicles) in freeze-fractured cells of *Chloroflexus aurantiacus*, *Arch. Microbiol.*, **119**, 269-277, doi: 10.1007/BF00405406.
15. Olson, J. M. (1980) Chlorophyll organization in green photosynthetic bacteria, *Biochim. Biophys. Acta*, **594**, 33-51, doi: 10.1016/0304-4173(80)90012-9.
16. Psencik, J., Ikonen, T. P., Laurinmaki, P., Merckel, M. C., Butcher, S. J., Serimaa, R. E., and Tuma, R. (2004) Lamellar organization of pigments in chlorosomes, the light harvesting complexes of green photosynthetic bacteria, *Biophys. J.*, **87**, 1165-1172, doi: 10.1529/biophysj.104.040956.
17. Günther, L., Jendry, M., Bloemsma, E., Tank, M., Oostergetel, G., Bryant, D., Knoester, J., and Köhler, J. (2016) Structure of light-harvesting aggregates in individual chlorosomes, *J. Phys. Chem. B*, **120**, 5367-5376, doi: 10.1021/acs.jpcc.6b03718.
18. Sawaya, N., Huh, J., Fujita, T., Saikin, S., and Aspuru-Guzik, A. (2015) Fast delocalization leads to robust long-range excitonic transfer in a large quantum chlorosome model, *Nano Lett.*, **15**, 1722-1729, doi: 10.1021/nl504399d.
19. Fujita, T., Huh, J., Saikin, S., Brookes, J., and Aspuru-Guzik, A. (2014) Theoretical characterization of excitation energy transfer in chlorosome light-harvesting antennae from green sulfur bacteria, *Photosynth. Res.*, **120**, 273-289, doi: 10.1007/s11120-014-9978-7.
20. Prokhorenko, V. I., Steensgaard, D. B., and Holzwarth, A. R. (2000) Exciton dynamics in the chlorosomal antennae of the green bacteria *Chloroflexus aurantiacus* and *Chlorobium tepidum*, *Biophys. J.*, **79**, 2105-2120, doi: 10.1016/S0006-3495(00)76458-7.
21. Savikhin, S., Zhu, Y., Lin, S., Blankenship, R. E., and Struve, W. S. (1994) Femtosecond spectroscopy of chlorosome antennae from the green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus*, *J. Phys. Chem.*, **98**, 10322-10334, doi: 10.1021/j100091a056.

22. Savikhin, S., Zhu, Y., Blankenship, R. E., and Struve, W. S. (1996) Intraband energy transfers in the BChl *c* antenna of chlorosomes from the green photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus*, *J. Phys. Chem.*, **100**, 17978-17980, doi: 10.1021/jp961752b.
23. Savikhin, S., Buck, D. R., Struve, W. S., Blankenship, R. E., Taisova, A. S., Novoderezhkin, V. I., and Fetisova, Z. G. (1998) Excitation delocalization in the bacteriochlorophyll *c* antenna of the green bacterium *Chloroflexus aurantiacus* as revealed by ultrafast pump-probe spectroscopy, *FEBS Lett.*, **430**, 323-326, doi: 10.1016/S0014-5793(98)00691-7.
24. Yakovlev, A., Taisova, A., and Fetisova, Z. (2002) Light control over the size of an antenna unit building block as an efficient strategy for light harvesting in photosynthesis, *FEBS Lett.*, **512**, 129-132, doi: 10.1016/S0014-5793(02)02238-x.
25. Yakovlev, A., Novoderezhkin, V., Taisova, A., and Fetisova, Z. (2002) Exciton dynamics in the chlorosomal antenna of the green bacterium *Chloroflexus aurantiacus*: experimental and theoretical studies of femtosecond pump-probe spectra, *Photosynth. Res.*, **71**, 19-32, doi: 10.1023/A:1014995328869.
26. Psencik, J., Ma, Y. Z., Arellano, J. B., Garcia-Gil, J., Holzwarth, A. R., and Gillbro, T. (2002) Excitation energy transfer in chlorosomes of *Chlorobium phaeobacteroides* strain CL1401: the role of carotenoids, *Photosynth. Res.*, **71**, 5-18, doi: 10.1023/A:1014943312031.
27. Psencik, J., Ma, Y. Z., Arellano, J. B., Hala, J., and Gillbro, T. (2003) Excitation energy transfer dynamics and excited-state structure in chlorosomes of *Chlorobium phaeobacteroides*, *Biophys. J.*, **84**, 1161-1179, doi: 10.1016/S0006-3495(03)74931-5.
28. Martiskainen, J., Linnanto, J., Kananavičius, R., Lehtovuori, V., and Korppi-Tommola, J. (2009) Excitation energy transfer in isolated chlorosomes from *Chloroflexus aurantiacus*, *Chem. Phys. Lett.*, **477**, 216-220, doi: 10.1016/j.cplett.2009.06.080.
29. Martiskainen, J., Linnanto, J., Aumanen, V., Myllyperkiö, P., and Korppi-Tommola, J. (2012) Excitation energy transfer in isolated chlorosomes from *Chlorobaculum tepidum* and *Prosthecochloris aestuarii*, *Photochem. Photobiol.*, **88**, 675-683, doi: 10.1111/j.1751-1097.2012.01098.x.
30. Linnanto, J. V., and Korppi-Tommola, J. E. I. (2013) Exciton description of excitation energy transfer in the photosynthetic units of green sulfur bacteria and filamentous anoxygenic phototrophs, *J. Phys. Chem. B*, **117**, 11144-11161, doi: 10.1021/jp4011394.
31. Yakovlev, A. G., Taisova, A. S., Shuvalov, V. A., and Fetisova, Z. G. (2019) Ultrafast excited-state dynamics in chlorosomes isolated from the photosynthetic filamentous green bacterium *Chloroflexus aurantiacus*, *Physiologia Plantarum*, **166**, 12-21, doi: 10.1111/ppl.12887.
32. Yakovlev, A. G., Taisova, A. S., and Fetisova, Z. G. (2021) Utilization of blue-green light by chlorosomes from the photosynthetic bacterium *Chloroflexus aurantiacus*: Ultrafast excitation energy conversion and transfer, *Biochim. Biophys. Acta Bioenergetics*, **1862**, 148396, doi: 10.1016/j.bbabi.2021.148396.
33. Causgrove, T. P., Brune, D. C., Wang, J., Wittmershaus, B. P., and Blankenship, R. E. (1990) Energy transfer kinetics in whole cells and isolated chlorosomes of green photosynthetic bacteria, *Photosynth. Res.*, **26**, 39-48, doi: 10.1007/BF00048975.
34. Taisova, A. S., Keppen, O. I., Lukashev, E. P., Arutyunyan, A. M., and Fetisova, Z. G. (2002) Study of the chlorosomal antenna of the green mesophilic filamentous bacterium *Oscillochloris trichoides*, *Photosynth. Res.*, **74**, 73-85, doi: 10.1023/A:1020805525800.
35. Mukamel, S. (1995) *Principles of Nonlinear Optical Spectroscopy*, Oxford University Press, New York/Oxford.
36. Muring, K., Novoderezhkin, V., Taisova, A., and Fetisova, Z. (1999) Exciton levels structure of antenna bacteriochlorophyll *c* aggregates in the green bacterium *Chloroflexus aurantiacus* as probed by 1.8-293 K fluorescence spectroscopy, *FEBS Lett.*, **456**, 239-242, doi: 10.1016/S0014-5793(99)00953-9.
37. May, V. (2014) Kinetic theory of exciton-exciton annihilation, *J. Chem. Phys.*, **140**, 054103, doi: 10.1063/1.4863259.
38. Yakovlev, A., Taisova, A., Arutyunyan, A., Shuvalov, V., and Fetisova, Z. (2017) Variability of aggregation extent of light-harvesting pigments in peripheral antenna of *Chloroflexus aurantiacus*, *Photosynth. Res.*, **133**, 343-356, doi: 10.1007/s11120-017-0374-y.
39. Jendry, M., Aartsma, T. J., and Köhler, J. (2014) Insights into the excitonic states of individual chlorosomes from *Chlorobaculum tepidum*, *Biophys. J.*, **106**, 1921-1927, doi: 10.1016/j.bpj.2014.03.020.
40. Петров Э. Г. (1984) *Физика переноса зарядов в биосистемах*, Наукова думка, Киев.
41. Struve, W. S. (1995) Vibrational equilibration in absorption difference spectra of chlorophyll *a*, *Biophys. J.*, **69**, 2739-2744, doi: 10.1016/S0006-3495(95)80145-1.
42. Márquez, A. S., Chen, L., Sun, K., and Zhao, Y. (2016) Probing ultrafast excitation energy transfer of the chlorosome with exciton-phonon variational dynamics, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **18**, 20298, doi: 10.1039/c5cp06491k.
43. Dostál, J., Mančal, T., Augulis, R., Vácha, F., Pšenčík, J., and Zigmantas, D. (2012) Two-dimensional electronic spectroscopy reveals ultrafast energy diffusion in chlorosomes, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 11611-11617, doi: 10.1021/ja3025627.
44. Dong, L.-Q., Niu, K., and Cong, S.-L. (2007) Theoretical analysis of internal conversion pathways and vibrational relaxation process of chlorophyll-a in ethyl ether solvent, *Chem. Phys. Lett.*, **440**, 150-154, doi: 10.1016/j.cplett.2007.04.021.

45. Cherepy, N. J., Du, M., Holzwarth, A. R., and Mathies, R. A. (1996) Near-infrared resonance Raman spectra of chlorosomes: probing nuclear coupling in electronic energy transfer, *J. Phys. Chem.*, **100**, 4662-4671, doi: 10.1021/jp952992e.
46. Gülen, D. (2006) Significance of the excitonic intensity borrowing in the J-/H-aggregates of bacteriochlorophylls/chlorophylls, *Photosynth. Res.*, **87**, 205-214, doi: 10.1007/s11120-005-8408-2.
47. Yakovlev, A. G., Taisova, A. S., Shuvalov, V. A., and Fetisova, Z. G. (2018) Estimation of the bacteriochlorophyll *c* oligomerisation extent in *Chloroflexus aurantiacus* chlorosomes by very low-frequency vibrations of the pigment molecules: A new approach, *Biophys. Chem.*, **240**, 1-8, doi: 10.1016/j.bpc.2018.05.004.
48. Соколов А. А., Тернов И. М. (1970) *Квантовая механика и атомная физика*, Просвещение, Москва.

FEMTOSECOND EXCITON RELAXATION IN CHLOROSOMES OF THE PHOTOSYNTHETIC GREEN BACTERIUM *Chloroflexus aurantiacus*

A. G. Yakovlev*, A. S. Taisova, and Z. G. Fetisova

*Lomonosov Moscow State University, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology,
119992 Moscow, Russia; e-mail: yakov@belozersky.msu.ru*

In the green bacteria *Chloroflexus* (*Cfx.*) *aurantiacus*, the process of photosynthesis begins with the absorption of light by chlorosomes, peripheral antennas consisting of thousands of bacteriochlorophyll *c* (BChl *c*) molecules combined into oligomeric structures. In this case, excited states are formed in BChl *c*, the energy of which migrates along the chlorosome towards the baseplate and further to the reaction center, where the primary charge separation occurs. Energy migration is accompanied by nonradiative electronic transitions between numerous exciton states, that is exciton relaxation. In this work, we studied the dynamics of exciton relaxation in *Cfx. aurantiacus* chlorosomes using difference femtosecond spectroscopy at cryogenic temperature (80 K). Chlorosomes were excited by 20 fs light pulses at wavelengths from 660 to 750 nm, and the difference (light–dark) kinetics were measured at a wavelength of 755 nm. Mathematical analysis of the data obtained revealed the kinetic components with characteristic time constants of 140, 220, and 320 fs responsible for the exciton relaxation. As the excitation wavelength decreased, the number of components and their relative contribution increased. Theoretical modeling of the results obtained was carried out on the base of the cylindrical model of BChl *c* aggregates. Nonradiative transitions between groups of exciton bands were ascribed by the system of kinetic equations. The model in which the energetic and structural disorder was taken into account turned out to be the most adequate.

Keywords: photosynthesis, green bacterium, *Chloroflexus aurantiacus*, chlorosome, femtosecond spectroscopy