

А.Б. Дружко

БАКТЕРИОРОДОПСИН: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Москва 2022 УДК 544 ББК 24.5 Д 76

Рецензент:

Владимир Семенович Акатов доктор физ.-мат. наук, профессор

А.Б. Дружко «Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения» / М.: РАН, 2022. – с. 94, 31 ил.

Представлен обзор результатов исследований светочувствительных систем на основе бактериородопсина. Кратко даны современные представления о бактериородопсине и его свойствах, о фотоцикле его превращений. Показаны возможности и пути модификаций бактериородопсина, в частности, такие, как дегидратация, модификация с использованием химических добавок, изменение первичной последовательности белка с использованием генетических методов, замена хромофора его синтетическими аналогами. Такие модификации могут оптимизировать использование бактериородопсина для создания светочувствительных регистрирующих сред. Особое внимание уделено различным областям возможных применений светочувствительных материалов такого типа, в частности, полимерных плёнок на основе бактериородопсина и его производных, так называемых плёнок Биохром. Рассматриваются также возможности использования полимерных плёнок на основе БР не только как фотохромного материала для многократной записи, но и как материала для однократной записи и постоянной памяти (так называемого material for write-once recording of optical information).

Работа выполнена в Институте Теоретической и Экспериментальной Биофизики Российской Академии Наук.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. БАКТЕРИОРОДОПСИН И ЕГО СВОЙСТВА	5
1.1.Структура и функции бактериородопсина. Общие представления	5
1.2. Фотоцикл бактериородопсина	7
 Физико-химические и генетические вариации свойств бактериородопсина 	9
2. БАКТЕРИОРОДОПСИН КАК СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ РЕГИСТРИРУЮЩАЯ СРЕДА	19
2.1. Предлагаемые технические применения	19
2.2. Бактериородопсин как фотохромный материал	23
2.3. Методы получения ориентированных плёнок бактериородопсина для использования в качестве фотоэлектрических и оптоэлектронных преобразователей	26
2.4. Плёнки «Биохром» на основе бактериородопсина и его производных	32
2.4.1. Химические добавки, используемые для модификации в плёнках Биохром	34
2.4.2. Использование генно-модифицированного бактериородопсина в плёнках Биохром	35
2.4.3. Использование замены хромофора в плёнках Биохром	36
2.4.4. Использование производных бактериородопсина в плёнка Биохром	37
2.4.5. Использование реакции фотоиндуцированного гидроксил- аминолиза для однократной постоянной памяти в плёнках Биохром	47
2.4.6. Использование О-замещённых гидроксиламинов в плёнках Биохром	49
2.4.7. Влияния ультразвуковой обработки на реакцию фотоиндуцированного гидроксиламинолиза в суспензии пурпурных мембран и на процесс реконструкции апомембран	50
2.4.8. Фотоанизотропия и способность к голографической записи в полимерных плёнках Биохром на основе бактериородопсина	60
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	63
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	64

введение

В последние годы в связи с развитием идей создания оптической памяти и устройств обработки оптической информации значительный интерес вызывает поиск новых светочувствительных регистрирующих сред с усовершенствованными техническими параметрами [1, 2]. Причём поиск таких сред не ограничивается неорганическими соединениями, как было ранее. В поле зрения исследователей стали попадать биологические светочувствительные элементы разной природы, например, мембранные белки – ключевые элементы различных биомембран [3]. К числу таких элементов относятся и материалы на основе светочувствительного белка бактериородопсина (БР) [4, 5]. Такое внимание к этому белку обусловлено целым рядом его замечательных свойств, позволивших ему занять вполне заслуженное место в ряду возможных претендентов на использование в качестве светочувствительных фотохромных материалов.

Что же это за свойства? Во-первых, молекулы БР имеют квазикристаллическую упаковку, которая придаёт всей структуре невиданную устойчивость к физико-химическим воздействиям. Во-вторых, количество циклов работы такого природного фотохрома, которым является БР, существенно превышает таковое для неорганических природных и синтетических материалов. В-третьих, молекулы БР могут быть подвергнуты разнообразным модификациям, как белковой его части, так и хромофора, что говорит о том, что БР может служить своеобразной платформой для целого класса фотохромных материалов. Поэтому чрезвычайно важно провести современный анализ фотохимических и фотофизических свойств БР, их зависимости от различных факторов и решить, каковы же возможности применения различных модификаций БР в устройствах записи и хранения оптической информации.

1. БАКТЕРИОРОДОПСИН И ЕГО СВОЙСТВА

1.1. Структура и функции бактериородопсина. Общие представления

Родопсины – это светочувствительные мембранные белки с общей для всех семиспиральной конфигурацией в мембране и ретиналем в качестве хромофора. Родопсин был обнаружен в сетчатке животных в 1876 г., а другой тип родопсина – бактериородопсин – был открыт 95 лет спустя как составная часть клеточной мембраны клетки галофильных галобактерий *Halobacterium salinarum* [6].

БР – трансмембранный белок, осуществляющий бактериальный фотосинтез в *Halobacterium salinarum* – ветви экстремальных галофильных архибактерий. БР был открыт в 1971 году. Его молекула, однако, не содержит хлорофилла, который является типичным пигментом в фотосинтезе; скорее, БР возглавляет семейство ретиналь-содержащих белков и функционирует как светозависимая протонная помпа [7–9].

В настоящее время, наряду с *Halobacterium salinarum*, было обнаружено немало семейств бактерий – продуцентов ретиналь-содержащих белков [10–14]. Например, описаны выделение и биохимические характеристики БР из клеток Haloarcula marismortui, экстремальных галофилов из Мёртвого моря [15]. Также были обнаружены варианты БР из клеток галофилов вида Haloarchaeal в индийских солонцах [16]. Кроме этого, был открыт целый ряд структурно сходных с БР белков из разных источников – не только бактериальных, но также водорослей и грибов [17–20].

Наиболее известными из белков в галобактериальной клетке кроме БР являются: галородопсин – направленная внутрь бактериальной клетки хлорная помпа [21, 22] и два сенсорных родопсина, регулирующих поведение галобактериальной клетки в зависимости от количества падающего света [23–25]. Все эти функциональные элементы галобактериальной клетки позволяют ей находить оптимальные условия для роста в среде с высокой солевой концентрацией и светом как единственным неисчерпаемым источником энергии при дефиците других.

При росте галобактериальных клеток молекулы БР организуются в них в образованиях пурпурно-фиолетового цвета, называемых пурпурными мембранами (ПМ), диаметром 0,5 мкм и толщиной до 50 Å. В ПМ молекулы БР упакованы в гексагональную кристаллическую решётку с шагом 63 Å [26–28]. Все галобактериальные ретиналь-содержащие белки относятся к семейству трансмембранных 7-α-спиральных структур [27]. В эукариотах они представлены β-адренергическими рецепторами и пигментами зрения.

5

Многочисленные структурные исследования БР, имеющего молекулярную массу 26,8 кДа, позволили расшифровать его первичную структуру, состоящую из последовательности 248 аминокислот [28-31] и определить упаковку его в мембране. Таблица 1 демонстрирует основные молекулярные свойства БР. Молекула БР представляет собой 7-α-спиральных трансмембранных столбов (A, B, C, D, E, F, G). Они образуют замкнутую структуру типа поры, которая сформирована в основном спиралями В. С. F и G, причём С-конец белка обращён к цитоплазматической стороне, а N-конец – к внеклеточной [32]. Модель этой структуры демонстрирует ключевые аминокислоты и Шиффово основание (ШО) ретиналя, расположенные в центре поры (рис. 1). ШО ретиналя локализовано приблизительно посередине продольного сечения мембраны ближе к внешней её стороне и отделяет внеклеточный полуканал от цитоплазматического. В ПМ молекулы БР упакованы в тримеры, образуя квазикристаллическую структуру [31–33], что, как уже отмечалось выше, является одним из самых замечательных свойств БР, обусловившим его уникальную стабильность.

Ретиналь, являющийся хромофором в БР, ковалентно связан с є-аминогруппой остатка лизина – 216 в виде протонированного Шиффова основания (ШО) (рис. 1) [34, 35]. Общий отрицательный заряд, образованный окружающими хромофор остатками боковых цепей белка, выступает как противоион для положительно заряженного азота ШО ретиналя. Расстояние между этими зарядами, определяющее их взаимодействие, контролирует сдвиг спектра поглощения хромофорного центра (так называемый опсиновый сдвиг) [36–38]. Исходное положение максимума спектра поглощения БР подвержено влиянию целого ряда факторов. Это и замена хромофора его синтетическими аналогами [39-41], и влияние электрического поля (как внешнего [42], так и создаваемого связанными катионами [43]), и изменение микроокружения ретиналя при воздействии различных модифицирующих агентов [44]. Кроме опсинового сдвига (изменения положения максимума БР), во всех рассмотренных случаях изменяется эффективность функционирования БР, что свидетельствует о существенной роли хромофор-белковых взаимодействий в этом процессе.

При поглощении квантов видимого света БР переносит протоны через мембрану, создавая трансмембранный протонный градиент [38, 45, 46], используемый затем для синтеза АТФ [47, 48]. Данный путь галобактерии используют как альтернативный основному пути окислительного фосфорилирования при дефиците кислорода и питательных веществ в среде проживания (рис. 2).

Процесс сопряжения циклического изменения спектральных свойств БР и переноса протона в самом общем виде выглядит следующим образом. При поглощении кванта света происходит транс-цис-изомеризация ретиналя по связи $C_{13}=C_{14}$ [49], а протонированное положительно заряженное ШО в результате изомеризации перемещается от стабилизирующего противоиона в

менее полярную среду во внешнем полуканале, что ведёт к изменению его значения pK, повышению энергии протона и последующему депротонированию ШО (**рис. 2**) [45, 50–52]. Все эти процессы в конечном счёте вызывают выброс протона через остаток Asp-85 во внешний полуканал [53]. Затем депротонированное ШО репротонируется от внутрибелкового донора, которым является остаток другой Asp-96 из цитоплазматического полуканала, и происходит захват протона из внешней среды с последующей обратной изомеризацией ретиналя и релаксацией белка к исходному состоянию [38, 53, 54]. Это лишь общая картина сопряжения процесса переноса протона с циклическими фотохимическими превращениями БР.

1.2. Фотоцикл бактериородопсина

Два исходных спектральных состояния, которые может принимать БР в ходе его функционирования, – светоадаптированное (СА-БР) и темноадаптированное (ТА-БР) [53, 55, 56]. Эти два состояния различаются конфигурацией хромофоров в белке: в СА-БР хромофор существует в виде *полностью-транс, 15-анти*-конфигурации, а ТА-БР – как смесь полностью-*транс, 15 анти-* и *13-цис, 15-син*-конфигураций [38, 56,]. Обе формы пигмента фотоактивны, но только БР с *полностью-транс, 15-анти*-конфигурацией хромофора (**рис. 3**) осуществляет в ходе своих фотохимических превращений транспорт протона через мембрану при физиологических значениях рН [55]. Это доказывает важность процесса светоадаптации при функционировании БР.

При постоянном освещении пигмента форма БР-СА накапливается до приблизительно 100% и имеет спектр поглощения с максимумом для основной полосы при 568–570 нм [56–58]. Поглощая квант света, СА-БР претерпевает фотохимический цикл, то есть проходит в своих превращениях через ряд промежуточных фотопродуктов, названных интермедиатами фотоцикла и обозначаемых латинскими буквами и цифрами, соответствующими максимумам спектров поглощения интермедиатов [56, 59–61] (рис. 4). Согласно рис. 4 фотоцикл начинается с пикосекундного интермедиата К-610, как наиболее стабильного и накапливающегося при низких температурах (жидкого азота и гелия). На самом же деле, как было установлено позднее, первичный акт фотоцикла включает ещё и ряд фемтосекундных интермедиатов и его схема может быть представлена в следующем виде [58, 62]:

100–200 фс 300–700фс 3–5 пс
БР-570
$$\rightarrow$$
 БР* \rightarrow I-460 \rightarrow J-625 \rightarrow K-610 (Схема 1)

Считается, что *транс-13-цис*-изомеризация ретиналя происходит уже в ходе первичного акта [63]. Повторим, что основные молекулярные свойства БР кратко представлены в **таблице 1**.

При нагревании образца пигмента БР с накопленным при -196 °С интермедиатом **К** до -130 ~ -140 °С наблюдается следующий интермедиат фотоцикла БР L [59, 64, 65] с конформацией хромофора, сходной с таковой у К, но менее скрученной, и ШО в анти-положении [66, 67]. Нагревая образец пигмента с накопленным L до -90 ~ -100° С, можно наблюдать частичный переход этого интермедиата в исходную форму **БР-570**, оставшаяся часть образует следующий интермедиат фотоцикла **M** [59, 67], который считается ключевым интермедиатом фотоцикла вследствие связи его образования и распада с переносом протона. В отличие от всех других интермедиатов ШО в **M** депротонировано, что подтверждает факт сопряжения образования и распада **M** с депротонированием и репротонированием ШО [67]. **M** имеет конформацию хромофора *13-цис-14-s-транс* с депротонированным ШО в *15-анти* конформации [67, 68] (**рис. 5**).

Целым рядом авторов отмечается множественность форм интермедиата **M** и не меньшее разнообразие его возврата в исходную форму. Во-первых, наблюдается двухкомпонентность кинетики перехода $L \rightarrow M$, связанная, по-видимому, с существованием двух форм L [64, 67–69]. Во-вторых, обнаружена многокомпонентность распада интермедиата **M** с различной зависимостью кинетик изменения концентраций компонентов распада от pH [70–73]. В третьих, кроме кинетической, наблюдается и коррелирующая с ней спектральная гетерогенность **M** [74, 75], которая может объясняться вибронной структурой спектра [56].

При переходе $\mathbf{M} \rightarrow \mathbf{N}$ ШО репротонируется от внутрибелкового донора, которым является остаток аспарагиновой кислоты-96 [38, 46, 56, 64, 76]. Конформация хромофора в N такая же, как и в $\mathbf{M} - 13$ -цис-14-s-транс, ШО протонировано, и для него характерна анти-конформация [77, 78]. Изменение конформации хромофора происходит на стадии $\mathbf{N} \rightarrow \mathbf{O}$ изомеризацией ретиналя из 13-цис-состояния в полностью транс, а в интермедиате \mathbf{O} хромофор содержится в полностью-транс-14-s-транс-конформации с протонированным ШО в анти-конформации [65, 77]. Кроме того, при переходе $\mathbf{N} \rightarrow \mathbf{O}$ протонируется остаток аспарагиновой кислоты-96 протоном, захваченным с цитоплазматической стороны [56, 78–81].

Интерес представляет и разветвление фотоцикла БР на стадии интермедиата **O** (**рис.4**). Далее, в следующих главах будет обсуждаться тот факт, что фотопродукты, входящие в это ответвление – **P** и **Q** – могут играть важную роль в возможных применениях БР. **P-490** был обнаружен как фотопродукт интермедиата **O** при последовательной двухфотонной фотоактивации БР [82]. Экстракция хромофора и HPLC анализ показал, что фотопродукт **P** имеет 9-цис кофигурацию хромофора [82] (**рис. 6**). Но 9-цис хромофор нестабилен в ячейке связывания и происходит гидролиз ШО с образованием 9-цис-ретиналя. В дальнейшем несвязанный хромофор вынужден находиться в этом же месте, так как изогнутая 9-цис-конфигурация не позволяет ему вновь образовать хромофор [83]. В результате этого образуется фотопродукт **Q** с максимумом поглощения 390 нм и барьером терморегенерации в БР $570 \sim 190 \text{ kJmol}^{-1}$ [83,84].

1.3. Физико-химические и генетические вариации свойств бактериородопсина

БР и родственные ему ретиналь-содержащие белки галобактерий могут быть модифицированы условиями окружающей среды (температура, pH, воздействие ионов, химические агенты, концентрация воды), заменой ретиналя его аналогами в ячейке связывания, генетическими изменениями первичной структуры белковой части (таблица 2). Рассмотрение влияния этих параметров представляет определённый интерес для решения задачи возможного использования БР в качестве элемента светочувствительных регистрирующих сред. Одно из проявлений влияния температуры и pH на свойства БР – изменение времён жизни интермедиатов фотоцикла, не участвующих в первичном акте, изображённом на схеме 1. В результате этого влияния изменяется их распределение в фотоцикле при фотостационарных условиях [56, 85, 86].

Влияние на свойства БР деионизации или, наоборот, повышенного содержания ионов (высокой ионной силы) проявляется в основном в изменениях спектральных свойств пигмента и не затрагивает кинетические характеристики. Например, при удалении прочно связанных с ПМ двухвалентных катионов кальция и магния наблюдается появление так называемых синих мембран [56, 87, 88], сходных с формой БР, обнаруженной ранее при уменьшении рН в суспензии РМ ниже 4 [56, 87]. Максимум их поглощения находится в области 605 нм и рК образования приблизительно равен 3. Это позволяет связать появление такой кислотной формы БР с вытеснением катионов кальция и магния. Длинноволновый спектральный сдвиг, возникающий при удалении связанных с внутренней стороны ПМ двухвалентных катионов, обратим при добавлении одно-, двух- и трёхвалентных катионов [87-89]. Синие мембраны не образуются при модификации карбоксильных групп, что подтверждает специфичность мест связывания катионов в БР. БР в синих мембранах фотоактивен и претерпевает фотоцикл, начальные стадии которого сходны с таковыми для БР-570, а интермедиат М отсутствует [73, 90]. При введении в ПМ ионов хлора или понижении pH до 0,5 регистрируется другая форма мембран с максимумом ~ 565 нм – так называемые кислые ПМ, которые обладают фотоциклом с интермедиататми типа К и О [91]. Приведённые выше данные позволяют считать модификации БР, получаемые при введении или удалении ионов, ограниченно применимыми для целей нашего исследования, вследствие невыраженности изменений кинетических параметров фотоцикла БР.

Модификации свойств БР различными химическими агентами могут быть специфическими (направленное изменение определённых групп в

белке) и неспецифическими (влияние на молекулу белка в целом). Мишенями модификаций первой группы являются, прежде всего, хромофор пигмента и отдельные остатки аминокислот, неспецифическое же воздействие на БР осуществляется в основном денатурирующими, солюбилизирующими и другими мембранотропными агентами. Хромофор БР модифицируется в первую очередь гидроксиламином (ГА) в ходе реакции фотоиндуцированного гидроксиламинолиза (ФГА) с разрывом альдиминной связи и образованием ретинальоксима [38, 87, 92]. В качестве такого рода модификаторов известны также так называемые О-замещённые ГА, некоторые из которых имеют большее сродство к ретиналю, чем собственно ГА, и, вследствие этого, большую скорость образования ретинальоксима [93] (таблица 3).

К числу модификаций, наиболее влияющих на спектрально-кинетические свойства БР, относятся модификации остатков тирозина соединениями йода, ди- и триаминами, приводящие к сильному замедлению распада **М** и блокированию в результате этого протонного транспорта, и в то же время необратимо изменяющие конформацию БР [94, 95].

На время жизни фотопродукта **M** активно влияют заряженные молекулы, такие, как гуанидин гидрохлорид, диамины, ионы трёхвалентных металлов. При этих модификациях наблюдается резкое замедление распада интермедиата **M** до времён порядка десятка секунд [96, 97], что связано, по-видимому, либо с влиянием на подвижность белка в области цитоплазматического полуканала, либо с взаимодействием модифицирующих агентов с отрицательно заряженными аминокислотами [38]. Не обсуждая здесь природу этого замедления, нужно отметить тот факт, что оно является чрезвычайно важным и применимым для целей нашего исследования.

Важным параметром БР-содержащей системы является изменение концентрации воды, которое достигается пассивной или принудительной дегидратацией. В воздушно-сухих плёнках, полученных простым высушиванием суспензии ПМ на подложке при комнатной влажности, дегидратация считается неглубокой, но и она ведёт к значительному замедлению фотоцикла на стадии распада М и нарушению светоадаптации [98, 99]. В таких системах фотоцикл отличается ещё и отсутствием интермедиата L, что может быть причиной ускорения фотообразования интермедиата М [99]. При выдерживании воздушно-сухих плёнок в среде с относительной влажностью до 10% светоадаптация блокируется полностью [99, 100], а применение более сильной принудительной дегидратации (вакуумной откачкой) приводит к полному торможению переноса протона [100], в отличие от сохранения движения протона в плёнках ПМ, дегидратированных при комнатной влажности. Хотя это движение, как показывают фотоэлектрические эксперименты, имеет значительно меньшую амплитуду, чем в обычных ПМ, по-видимому, вследствие того, что протон не выходит за пределы мембраны, а репротонирует ШО со стороны выходного полуканала (так называемые токи смещения) [42, 99, 101]. При уменьшении пороговой величины соотношения вода/БР (по массе) ниже 0,5 происходит резкое изменение конформации белка и блокирование протонного транспорта [100]. При дегидратации структурные изменения в мономерах незначительны и представляют собой небольшие отклонения α-спиралей [99], в то время как организация тримеров значительно меняется. Четыре молекулы воды, входящие в состав хромофорного центра, не могут быть удалены даже при самой глубокой дегидратации [102].

Достаточно часто встречающейся модификацией БР является замещение хромофора. При замене хромофора его синтетическими аналогами исследователи получают хромопротеиды со свойствами, отличающимися от таковых у собственно БР. Эти хромопротеиды называются аналогами БР [39, 40, 103, 104, 105]. Используя аналоги БР, можно выявить те структурные группы, которые необходимы для связывания с бактериоопсином (БР без хромофора, БО), изменить положение полосы поглощения пигмента, величину опсинового сдвига, фотохимические и функциональные свойства получаемого пигмента. Кроме того, использование аналогов ретиналя, несущих репортерные (спиновые, флуоресцентные, электроплотные ядра ¹³С или ¹⁹F) или реакционноспособные группировки, позволяет установить пространственное расположение хромофорной группы.

Все синтетические аналоги ретиналя можно условно разделить на 3 группы: аналоги ретиналя с модификациями в полиеновой цепи, в циклогексеновом кольце и смешанные модификации. В настоящее время известно несколько сотен аналогов БР [39, 106].

Различные модификации полиеновой цепи, а именно: дезметильные и полиметильные её производные, в особенности удаление или замещение метильной группы при атоме С13 различными объёмными заместителями, ещё раз продемонстрировали приведённое выше положение о ключевой роли этой группы в хромофор-белковых взаимодействиях [107-111]. Её изменение приводит к замедлению распада интермедиата М, нарушению светоадаптации и появлению независимого цис-цикла [41, 107, 111]. При возрастании объёма замещающих групп в положении С13 (например, при использовании нафтил-ретиналя) встраивание не нарушается. Это свидетельствует о том, что ниша ретиналя в белке представляет собой довольно объёмную полость или же не является жёсткой [111-113]. Введение заместителей в положение С14 приводит к образованию нековалентного комплекса, не способного превратиться в хромопротеид [38, 110, 111]. Превращение двойной связи С11=С12 в тройную ведёт к нарушению светоадаптации и появлению новой изомерной формы в цикле [111], отличной от полностью-транс и 13-цис. Введение в полиеновую цепь молекулы ретиналя электроотрицательных атомов галогенов, в частности группировки CF₃ в качестве заместителя при атоме С13, позволяет получить хромопротеид со значительно большим по сравнению с ретиналем опсиновым сдвигом максимум поглощения полученного хромопротеида находится при 624 нм

[114, 115]. Использование в качестве хромофора синтетических аналогов ретиналя с фиксированными конформациями полиеновой цепи, для которых исключена возможность *13-цис* ↔ полностью-*транс*-изомеризации, подтверждает ключевую роль изомеризации этой связи для протекания фотоцикла в БР [116, 117]. Все приведённые выше данные свидетельствуют о важности полиеновой цепи ретиналя и в особенности её участка, прилегающего к атому С13, для функционирования БР.

Исследование аналогов БР с различными модификациями в циклогексеновом кольце показало, что, по сравнению с полиеновой цепью, кольцо, на первый взгляд, не играет столь важной роли в процессе функционирования БР [118–120]. При исследовании аналогов с отсутствующим циклогексеновым кольцом было показано, что хромопротеид при реконструкции образуется, но для существования интермедиата М и переноса протона в таких пигментах важна длина цепи сопряжённых двойных связей [117, 118]. С другой стороны, для ряда аналогов, модифицированных в положении С4 кольца, с введёнными по связи С5=С6 эпокси- и дигидрогруппировками с увеличением числа двойных связей в кольце, отмечаются снижение активности протонного транспорта, замедленная релаксация интермедиата М и снижение квантового выхода фотоцикла [106, 119, 120]. Это подтверждается также и работами, в которых детально изучен аналог БР с кетогруппой в положении C4 циклогексенового кольца [105, 121–124]. Аналоги БР с заместителями в С4 положении кольца демонстрируют гипсохромный сдвиг максимумов поглощения пигментов [39, 105, 121-124]. Процесс светоадаптации в модифицированных в кольце аналогах БР часто аномален – накапливается при светоадаптации не *транс-*, а *цис-*пигмент, а в исходном пигменте существуют независимые *транс-* и *иис*-циклы [39, 105, 123]. Есть данные о роли кольца на стадии перехода К→L, при замене кольца ароматическими группами этот переход замедляется [117, 119]. Возвращаясь к исследованию фотоцикла аналога БР с 4-кеторетиналем в качестве хромофора, следует отметить, что авторами впервые для этого аналога был зарегистрирован бато-интермедиат фотоцикла типа К со временем образования < 30 пс и характерным временем распада 50 мкс; в отличие от нативного БР не регистрируется интермедиат L; зарегистрированы по крайней мере три спектрально и кинетически различающихся интермедиата типа M [105, 121] (рис.7). Времена жизни интермедиатов M в этом аналоге (в частности, длинноволновых их форм) достигают в суспензии нескольких десятков минут, что позволило рассматривать данный аналог как очень перспективный в прикладном отношении. Но об этом речь пойдет ниже.

При использовании смешанных модификаций хромофора, например, при лишении пяти метильных групп и двойной связи C5=C6, не наблюдается существенного изменения функциональных свойств полученного хромопротеида [109].

Выбор в качестве хромофора бициклических производных ретиналя, а также хромофоров с электроотрицательными заместителями или дополнительными двойными связями в кольце, показал, что фотохимические свойства БР, по-видимому, не связаны с конформационными и электронными сдвигами в полиеновой цепи до атома С9 включительно [120, 125], и, таким образом, свойства интермедиата К определяются изменениями в ближайшем окружении протонированного азота альдиминной связи [117, 125].

При использовании в качестве хромофоров ациклических полиеналей с разной длиной полиеновой цепи без метильных групп в ней получаются пигменты, которые, подобно БР, претерпевают фотоцикл, однако альдиминные группы обладают в них меньшей основностью, чем в БР, а сами пигменты не проявляют чёткой способности функционировать как протонные насосы [126]. Для таких хромопротеидов прослеживается чёткая линейная зависимость между положением максимумов поглощения пигментов и числом сопряжённых двойных связей в цепи, что может указывать на положение большинства групп, ответственных за батохромный сдвиг полосы поглощения пигмента, вблизи альдиминной связи [127]. Однако, при использовании в качестве хромофоров так называемых азуленовых ретиноидов, соответствующие пигменты демонстрируют очень значительный батохромный сдвиг (в некоторых из них максимум поглощения сдвигается к 800 нм [128]), что обусловило интерес к их использованию в качестве фоторегистрирующих материалов.

Модификации структуры белковой части БР приводят к появлению мутантов с целым спектром разнообразных и отличных от собственно БР свойств. Сайт-специфичный мутагенез и дальнейшая селекция точечных мутантов галобактерий *in vivo* позволяют выбирать из массы случайных мутантов образцы с определёнными свойствами: со сдвинутым в ту или иную сторону спектром поглощения, с замедленным фотоциклом и с изменённой эффективностью протонного транспорта.

В первую очередь генетическими методами заменялись аминокислоты, предположительно играющие важную роль в процессе функционирования БР, как, например, остатки аспарагиновой кислоты, тирозина, триптофана и аргинина [76, 129–132]. Наиболее широко методом генетических мутаций изучалась роль остатка аспарагиновой кислоты-96, которая считается внутрибелковым донором, репротонирующим ШО ретиналя и участвующим в захвате протона из среды на стадии распада **M** [76, 131, 133]. При замене остатка аспарагиновой кислоты-96 аспарагином релаксация интермедиата **M** в таком мутанте сильно замедляется и становится монофазной при нейтральных и щелочных pH. При добавлении же в этот мутант азида натрия, который в данном случае выступает, как донор протонов, все эти эффекты устраняются, и нормальная кинетика восстанавливается [76, 131, 134]. Характер зависимости от pH в нейтральных и щелочных средах указывает на то, что скорость репротонирования лимитируется активностью прото-

13

нов в транспортирующем протон полуканале, а не концентрацией протонов в объёмной фазе [132–134]. Таким образом, используя прицельную замену аминокислот в БР методом точечных мутаций, можно не только выяснить роль каждой аминокислоты в процессах функционирования БР, но и получить хромопротеиды с заранее прогнозируемыми свойствами, которые впоследствии можно использовать в практических целях, в частности, как светочувствительную фоторегистрирующую среду.

Таблица 1. Основные молекулярные свойства бактериородопсина

- 1. Полипептидная цепь состоит из 248 аминокислот.
- 2. Молекулярный вес = 26,784 К Da.
- 3. Имеет изоэлектрическую точку около рН 4-5.

4. Хромофор – остаток ретиналя имеет наклон 20° от плоскости мембраны, циклогексеновое кольцо ориентировано ⊥ плоскости мембраны.

5. После фотовозбуждения хромофорная группа претерпевает: обратимое изменение конфигурации *all-trans* (\$) *13cis*, обратимое де-/репротонирование азота ШО, обратимое изменение конформации белковой части, изменяющее доступность азота ШО для протонов.

6. Квантовая эффективность первичной фотореакции $\Phi_{B\to I} \ge 0,64$ (~64%).

7. Фотохимический цикл не имеет рефрактерного периода.



Рисунок 1. Трехмерная модель структуры молекулы БР. Голубой цвет – α-спирали белковых цепей, зеленый цвет – ШО ретиналя приблизительно в центре поры, коричневый цвет – ключевые аминокислоты, участвующие в транспорте протона



Рисунок 2. Схематическое изображение галобактериальной клетки и ее главных функциональных систем для фотосинтеза и фототаксиса. В клеточной мембране клетки располагаются участки, представляющие собой двухмерные кристаллические структуры, состоящие из молекул БР и липидов и называющиеся пурпурными мембранами (ПМ) вследствие их интенсивной окраски. Каждая молекула БР действует как светозависимая, направленная во вне протонная помпа. Другие компоненты – необходимые составляющие бактериального фотосинеза – мембранно-связанная АТФ-синтетаза, сенсорные родопсины I и II, галородопсин и флагелла, с помощью которой осуществляются движения клетки



Рисунок 3. Структурная формула хромофорного центра молекулы СА-БР в исходном незасвеченном состоянии. Голубой цвет – протонированное ШО (PSB) полностью-*транс*-ретиналя, красный цвет – лизин 216



Рисунок 4. Схема фотоцикла светоадаптированного БР. Максимумы поглощения интермедиатов и времена жизни указаны в скобках



Рисунок 5. Структурная формула хромофорного центра молекулы БР в состоянии интермедиата М фотоцикла. Голубой цвет – протонированное ШО (PSB) *13-цис*-ретиналя, красный цвет – лизин 216



Рисунок 6. Структурная формула хромофорного центра молекулы БР в состоянии интермедиата Р фотоцикла. Голубой цвет – протонированное ШО (PSB) 9-цис- ретиналя, красный цвет – лизин 216

Таблица 2. Физико-химические и генетические вариации свойств бактериородопсина
и методы их достижения

Функциональные модули БР	Изменения	Методы
	химические добавки	хим
Протонные пути	аминокислотный обмен	ген
Остаток ретиналя	аналоги ретиналя	ХИМ
Связывание ШО	связанный или свободный хромофор	ген
	различные места связывания	ген
Боковые белковые цепи	химические модификации	ХИМ
	аминокислотный обмен	ген
Внешние поля, Т°	электрическое поле, То	физ
Субстрат (протоны)	наличие (сушка), подвижность (добавки)	физ

Гидроксиламин (ГА) и <i>О-</i> замещенные ГА	Структурные формулы ГА и <i>О-</i> ГА	Относительные константы скорости k/k _{она} обесцвечивания БР
НА	H – ONH2	1,0
MHA	$CH_3 - ONH_2$	0
ВНА	$C_4H_9 - ONH_2$	1,8
FBHA	F F CH ₂ ONH ₂	10,1
NBHA	O ₂ N-CH ₂ ONH ₂	10,8
HAS	$HO_3SO - ONH_2$	0,3

Таблица 3. Химические реагенты, используемые в ходе реакции фотоиндуцированного гидроксиламинолиза





2. БАКТЕРИОРОДОПСИН КАК СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНАЯ РЕГИСТРИРУЮЩАЯ СРЕДА

2.1. Предлагаемые технические применения

БР с самого начала его исследований, в некоторых случаях чисто гипотетически, в иных – на основании результатов экспериментов, рассматривался как перспективный объект для конструирования различных технических устройств [135, 136]. Все идеи относительно практического использования БР основаны на следующих его свойствах:

1) БР – это светозависимая протонная помпа, 2) БР генерирует протон-движущую силу ~ 300 мВ через мембрану, 3) БР – хромофорсодержащий белок, 4) характеристическое время первичной стадии фотоцикла БР (**БР** \rightarrow **J**) составляет 10⁻¹³ с, 5) спектр поглощения БР и его фотохимические характеристики чувствительны к параметрам окружающей среды.

Каждый класс приложений отличается в сложности соответствующих устройств и в требованиях, предъявляемых к биологическим компонентам. Для успешного интегрирования БР в техническую систему должно быть выполнено два условия: во-первых, структурирование собственно биологического материала, во-вторых, интерфейс биокомпонентов должен быть совместим с остальными частями обычных технических систем. Из таблицы 4 видно, что для этих двух критериев уровень технических требований наименее высок в случае фотохромных применений. Действительно, в этом случае не требуется высокого уровня ориентации ПМ, необходимо просто гомогенное распределение ПМ в оптически инертном матриксе. Поскольку интерфейс оптический, очень легко обеспечить защиту БР-содержащих сред. Такие среды могут быть попросту помещены между двумя стёклами и изолированы от внешней среды. Именно по этой причине большинство обсуждаемых применений БР основано на его фотохромных свойствах. Приложения, основанные на использовании фотоэлектрических свойств переноса заряда, значительно более затруднительны как в смысле приготовления образцов с требуемой микроструктурной организацией, так и в смысле интерфейса.

Практическое применение БР, основанное на использовании его фотоэлектрических свойств, позволяет рассматривать БР как возможный элемент мембранных биореакторов [137]. В принципе, протонный градиент, создаваемый БР на мембране, может быть использован для регенерации АТФ из АДФ в биореакторах подобно тому, как это делается в галобактериальной клетке. Низкая эффективность данного процесса компенсируется низкой ценой продуцируемой АТФ [138].

Рассмотрим некоторые применения БР, не связанные с использованием его фотохромных свойств. В последнее время достаточно часто стали создаваться системы гибридного характера, где использованный БР был не единственным биологическим элементом системы. Не так давно была сделана попытка объединить систему бесклеточного синтеза белка и небольшие протеолипосомы, содержащие АТФ-синтетазу и БР, в гигантской однослойной везикуле с целью синтезировать белок, используя продукцию АТФ под действием света. Такая фотосинтезированная АТФ потребляется как субстрат для транскрипции и как энергия для трансляции, в конечном счёте запуская синтез БР или составляющего белка АТФ-синтетазы как исходных необходимых компонентов протеолипосомы. Вновь синтезированные БР и части АТФ-синтетазы интегрируются в искусственную фотосинтетическую органеллу и усиливают фотосинтетическую активность АТФ через положительную обратную связь [139] (**рис. 8**).

Рассмотрены свойства ретиналь-белкового комплекса БР как перспективного компонента интегрированных мембранных систем, способного осуществлять регуляторные функции [140]. Кроме этого БР, как управляемый светом ионно-обменник, может быть использован в устройствах для опреснения морской воды, т.к. обычно в состав галобактериальной клетки входит ещё и галородопсин, ответственный за транспорт ионов Cl⁻ и K⁺ [141].

Преобразование солнечной энергии в электрическую можно рассмотреть на следующем примере: если абсорбировать ориентированные молекулы БР на тонкий слой фольги, то тогда такая система под действием света будет действовать как протонная помпа и генерировать протонный транспорт через эту искусственную мембрану. Такие системы реализовывались только в лабораторных условиях и их эффективность зависит от двух факторов: степени ориентации ПМ в плёнке и квантовой эффективности переноса протона в данных условиях [142–144].

Недавно было установлено, что структурно-модифицированный БР может быть использован как эффективный биосенсибилизатор для применения в солнечных батареях. Были изготовлены солнечные батареи с использованием структурно- изменённого БР как сенсибилизатора (bio-sensitized solar cells – BSSCs) и измерены их фотоэлектрические характеристики. BSSCs на основе мономера БР демонстрировали отличные фотоэлектрические параметры (максимум фототока короткого замыкания – 0,93 мА см², эффективность фотоэлектрического преобразования – 0,47%). Эти параметры предполагают возможность замены нативного БР на TX-100 БР, что позволит существенно уменьшить стоимость производства BSSCs [145] (**рис. 9**).

ПМ могут быть использованы в качестве хемо- и биосенсоров, позволяющих контролировать величину pH среды или наличие в ней некоторых ионов [146]. Что касается использования БР в качестве сенсора, было проведено исследование, имеющее целью разработать фотоэлектрический иммуносенсор на основе БР, используя белок A из *Staphylococcus aureus* (SpA) как ловушку антител для определения микроорганизмов. SpA ковалентно связывался через сшивающие агенты, содержащие N-гидроксисукцинимид эфир, на электроде, покрытом монослоем ПМ. Была показана высокая адаптивность этой системы вкупе с высокой селективностью обнаружения и высокой чувствительностью [147].

Разработан и охарактеризован гель диоксида титана с инкапсулированным БР для производства водорода. Наличие резонансной передачи энергии Фёрстера между молекулами БР и частицами золя диоксида титана позволяет сделать вывод, что существует близкое взаимодействие БР и диоксида титана в нанометровой шкале. В результате, перенос электронов и накачка протонов в нанометровой близости с гелем диоксида титана представляются возможным объяснением увеличения продукции (образования) водорода без необходимости сшивания БР с титановым гелем. Это исследование может заложить фундамент для дальнейшей разработки скорее аморфных, а не кристаллических титан-инкапсулированных БР-систем, работающих на солнечной энергии, для получения водорода при расщеплении воды [148].

Была сформулирована стратегия последовательной клеточной инженерии с целью разработки новой искусственной системы фотосинтеза для снижения уровня CO_2 . Система представляет собой ПМ-везикулы, окутывающие полые пористые наночастицы TiO_2 , осаждённые на Pd. В этой гибридной системе мембранный белок БР не только сохраняет и проявляет свою природную биологическую функцию протонной помпы, но выступает также как фотосенсибилизирующее средство, инжектирующее электроны в зону проводимости TiO_2 . Соответственно, электроны захватывались Pd (палладием) как совместно действующим катализатором, а протоны, накапливающиеся внутри этого подобия клетки, действовали согласованно, чтобы восстановить CO_2 в ходе протонно-связанных процессов мультиэлектронного переноса (**рис. 10**). Это исследование представляет альтернативный инструментарий для разработки функциональных рукотворных фотосинтетических систем для преобразования солнечной энергии и снижения выбросов CO_2 [149].

Было обнаружено, что БР повышает эффективность работы солнечных батарей на основе перовскита. Показано, что диоксид титана (перовскит), действующий вместе с БР, ускоряет инжекцию электронов из экситонов, образующихся в слое перовскита (рис. 11). Это исследование предсказывает силу протяжённого экситонного транспорта между отдельными слоями перовскита и БР. Результаты показали, что клетки, включающие слои БР/ TiO₂, демонстрируют гораздо более высокие фотоэлектрические показатели. Это исследование открывает возможность для разработки нового класса солнечных батарей на основе биоперовскита с улучшенными показателями и стабильностью [150].

Ряд биогибридных устройств продолжает наногенератор на основе БР и горизонтально ориентированных длинных углеродных нанотрубок (CNTs). В

устройстве наблюдается взаимодействие типа «электрон-ион» для эффективного преобразования энергии света. Слой молекул БР работает как протонная помпа, в то время как CNTs используются для усиления фототока; таким образом, частотная характеристика фототока значительно улучшается из-за эффекта электронно-ионного взаимодействия. Было обнаружено, что высокая плотность CNTs способствовала повышению производительности наногенераторов. Кроме того, в статье предложена модель высвобождения ионов H⁺ для интерпретации механизма работы биогибридного наногенератора. Делается вывод, что биогибридный наногенератор демонстрирует большой потенциал для применения в качестве источника энергии для бионаносистем [151].

Заметное усиление фотоэлектрической эффективности БР было обнаружено в комплексах квантовая точка – ПМ при двухфотонном возбуждении. Полупроводниковые квантовые точки (КТ) имеют поперечное сечение двухфотонного поглощения на два порядка больше, чем у БР, и могут эффективно передавать преобразованную с повышением частоты энергию двух фотонов в БР через резонансный перенос энергии Фёрстера. В данной работе была сконструирована фотоэлектрохимическая ячейка на основе гибридного материала, состоящего из КТ и БР-содержащих ПМ из Halobacterium salinarum, и показано, что эта ячейка может генерировать электрический сигнал при двухфотонном лазерном возбуждении. Также было показано, что эффективность преобразования света гибридным материалом ПМ-КТ при двухфотонном возбуждении до 4,3 раз выше, чем эффективность преобразования только ПМ. Делается вывод, что нелинейный характер двухфотонного возбуждения может дать значительные преимущества, такие, как резкий порог чувствительности и возможность точной трёхмерной локации возбуждения в голографии и оптических вычислениях [152].

И ранее делались, и в настоящее время делаются попытки создания фоторегистрирующих сред на основе фоточувствительного белка БР, изучаются свойства получаемых систем. Интересные результаты обещает использование БР в устройствах записи и хранения оптической информации, как в обычном [4, 5, 153–156], так и в голографическом режимах [157–160]. Существование нелинейности свойств БР, а также фотоиндуцированной их анизотропии может быть использовано в процессах обработки информации, таких, как регистрация оптических сигналов с помощью динамической голографии на БР [161–164], интерферометрия в реальном масштабе времени [165], создание пространственных преобразователей света и использование их для нелинейной оптической фильтрации и усиления контраста маломощного излучения [166, 167].

Обнаружение анизотропной оптической нелинейности в средах на основе БР позволило наблюдать пространственно-поляризационное обращение волнового фронта маломощного излучения при 4-х волновом квазипродольном смешении [168, 169]. Использование в ассоциативной памяти и нейронных сетях включает в себя возможность записи объёмных голограмм [170]. Нелинейные оптические свойства БР могут быть использованы для преобразования частоты излучения лазеров с обеспечением в определённых условиях генерации второй гармоники лазерного излучения [171–173]. Возможно применение БР в качестве фотодиода с высоким временем разрешения [174].

2.2. Бактериородопсин как фотохромный материал

Как известно, фотохромный процесс в общем виде выглядит как переход вещества под действием кванта света hv_1 из состояния **A** с поглощением при λ_1 в состояние **B** с поглощением при λ_2 :

$$\mathbf{A} (\lambda_1) \stackrel{hv_1}{\leftrightarrow} \mathbf{B} (\lambda_2) (\operatorname{cxema} 2)$$

kT, hv_2

В исходное состояние вещество возвращается либо спонтанно (за счёт тепловой энергии kT), либо под действием света hv_2 . Литературные данные, приведённые выше и касающиеся фотоцикла БР и возможности спонтанного или фотоактивного перехода его интермедиатов в исходное состояние, позволяют считать БР природным фотохромом. Гексагональная кристаллическая упаковка БР в ПМ определяет так необходимые для практического применения стабильность и устойчивость белка, уникальные даже для биологического материала. Тот факт, что фоточувствительность БР осуществляется на молекулярном уровне, свидетельствует о возможной высокой плотности записи оптической информации с использованием этого белка. Всё изложенное и определило интерес многих исследовательских групп к изучению свойств БР как фотохромного материала.

При использовании БР (особенно для целей микроэлектроники) предпочтительно его применение в виде так называемых «твёрдотельных систем» – различного вида плёнок, самыми разными способами нанесённых на твёрдые подложки и высушенных на них. Различные оптические методики и технологии имеют специфические требования к средам, используемым для записи и/или обработки оптической информации. Такие среды отличаются по чувствительности к записи и стиранию, времени хранения информации, разрешающей способности, спектральной области чувствительности, времени ответа и соотношению сигнал/шум. Эти среды в дальнейшем могут подразделяться на устройства, где используются только светоиндуцированные изменения поглощения и результирующее контрастное соотношение (как, например, в устройствах точечной или побитовой записи) и на такие, в которых светоиндуцированные изменения претерпевают и коэффициент поглощения, и коэффициент преломления, как, например, в голографических системах записи.

Фотоактивность интермедиатов фотоцикла [56] может быть использована для недеструктивного (не стирающего записанную информацию) считывания в плёнках на основе БР. Например, два световых луча с длинами волн λ_1 и λ_2 настраиваются по соотношению их интенсивностей I₁ и I₂ так, что прямая реакция **БР К** и обратная реакция **К БР** точно скомпенсированы и в ходе считывания не происходит результирующих изменений распределения популяции интермедиатов. Такое синхронное использование двух лучей впервые было предложено Birge [153] и получило дальнейшее развитие в системах с задержкой световых импульсов [175]. Эта методика пригодна в большей степени для записи в цифровых запоминающих устройствах, но недостаточно надёжна для использования в аналоговых информационных системах [135, 136].

Фотоактивность интермедиата **К** может быть в принципе использована при низкой температуре для разных целей, например, в переключателе в пикосекундном масштабе времени, но замещение ретиналя в качестве хромофора фенилретиналем [176, 177] позволяет получить пикосекундный переключатель при комнатной температуре, а запись осуществлять в возбуждённом состоянии БР [177].

Комбинирование БР и протеазы химотрипсина, чувствительного в УФ-диапазоне, позволяет осуществить так называемый «химически затворный» тип записи [178]. Показано, что в местах, где такая комбинированная система облучается УФ-светом, фермент активируется, а затем инактивирует БР. В областях функционально активного БР экспозиция светом приводит к выбросу протона и образованию голубой картины при добавлении рН-индикатора бромтимола голубого. Дальнейшее развитие этой работы связано с использованием смеси аналогов БР с тремя различными хромофорами, которая предлагается для цветовой записи и считывания [178].

Продемонстрированы возможности БР как фотостабильной, но ультраскоростной системы при очень низких температурах (жидкого гелия) при постоянной записи информации типа "photochemical hole burning" [179, 180], однако такая система не пригодна для хранения больших массивов информации, так как полуширина линии её гомогенного поглощения почти такая же, как и полоса при комнатной температуре [180].

Более многообещающей областью применения БР является кратковременное хранение информации, которое необходимо при её оптической обработке, то есть, так называемая оперативная память. В таких приложениях БР может быть использован как среда для увеличения эффективности взаимодействия двух световых волн. Например, было предложено применение БР в качестве регистратора оптических данных с коротким временем доступа, быстрым ответом и коротким временем стирания информации [181] для записи и обработки данных в системах SAR (синтетическая апертура радаров).

Экспериментально проверенным и подтверждённым приложением БР является временная низкочастотная фильтрация оптических сигналов. Оп-

тический сигнал, проходя через плёнку БР с записанной на ней динамической голограммой, фильтруется от низкочастотных помех. Преимуществом БР в таком его приложении является то, что временная область 1–100 мс, которую трудно реализовать в альтернативных материалах, таких, как фоторефрактивные среды высокой чувствительности, доступна для динамической голографии в плёнках на основе БР [162, 182].

Интерферометрия в реальном масштабе времени с использованием БР [165, 182–184] основана на интегрирующих время свойствах плёнок на основе БР, которые определяются светозависимой реакцией **БР** \rightarrow **М** и зависящим от времени жизни фотопродукта **М** обратным переходом **М** \rightarrow **БР**. В этой методике регистрация вибрационных мод осуществляется использованием соотношения времён жизни интерференционной картинки и динамической голограммы в БР.

Пространственные модуляторы света (ПМС) с БР основаны на двух различных принципах. Первый связан с возможностью контроля соотношения интенсивностей света поглощением БР. Плёнка на основе БР может быть использована для настройки света с длиной волны λ_1 , которая индуцирует исходную фотореакцию **БР**—**М** в соответствии со светом длиной волны λ_2 , индуцирующим реакцию **М**—**БР**. Соотношение интенсивностей определяется тем, в какой степени оба эти луча поглощаются плёнкой БР [185]. Второй принцип использует фотоэлектрические свойства ориентированных плёнок БР [186]. Светоиндуцированный перенос протона может быть усилен или подавлен внешним электрическим полем [186]. Пространственная модуляция в таких электрически управляемых ПМС требует особую систему электродов. Разрешение этих устройств ограничивается структурными размерами проводящей системы, достигающими нескольких микрон [135, 138]. Следовательно, молекулярное разрешение, присущее системам на основе БР, не может быть использовано в такого рода ПМС.

Голограммы в плёнках на основе БР могут быть использованы для наблюдения оптического смешения фаз [4, 178, 187, 188]. Эффективность таких систем не очень высока [135, 138]. Плёнки на основе БР могут быть использованы для восстановления состояния поляризации при смешивании (конъюгации) волн [4, 169]. Возможна поляризационная обработка информации при многопучковом взаимодействии в изотропных средах [189, 190].

Распознавание образов при использовании сред с БР может, по-видимому, стать многообещающим применением. Оно возможно при использовании некоторых специфических свойств БР, а именно – появлению светоиндуцированной анизотропии при облучении поляризованным светом [155, 161, 189] и введению генетического мутанта по Asp96→Asn (D96N) в фоторегистрирующую среду на основе БР [191].

Неким футуристическим применением для БР пока можно считать упоминаемые в литературе «биочип» и «биокомпьютер» [192, 193].

Следует упомянуть также наиболее детально охарактеризованное оптическое запоминающее устройство, в котором может быть использован БР [193]. Обсуждаются конструкция и свойства устройства типа RAM (random access memory), выполненного на основе плёнок из БР, полученных по методу Ленгмюр-Блоджетт и обладающего следующими характеристиками: объём памяти 25 Мбайт, время доступа 40 нс при оптическом ХУ-сканировании. Предварительные результаты, приводимые авторами, показывают, что время доступа может быть снижено до 1-4 нс, а в пределе до ~ 5 пс. Аналогичное устройство, предлагаемое другими авторами [194], представляет собой дисковый оптический носитель информации на основе БР с концентрически расположенными информационными дорожками и предусматривает два способа записи: постоянную – путём нагрева лазерным лучом до необратимой денатурации белка («1» – область с денатурированным и обесцвеченным белком, «0» – область с нативным БР) и реверсивную – за счёт обратимых фотоиндуцированных изменений поглощения БР и стабилизации их на уровне фотопродукта М при предварительном понижении температуры носителя до -63 ~ -58 °C. Стирание информации при втором способе записи предполагалось вызывать засветкой участка информационной дорожки светом λ =420 нм и мощностью 6 мВт [194].

2.3. Методы получения ориентированных плёнок бактериородопсина для использования в качестве фотоэлектрических и оптоэлектронных преобразователей

Развитие молекулярных электронных устройств зависит от совершенствования методов формирования материалов с определённым и контролируемым расположением молекул. Для создания таких устройств большое значение имеет асимметрия свойств, которая возникает в системе, содержащей ориентированные в одном направлении молекулы БР. Известно, в частности, что упорядочение ориентации ПМ сопровождается появлением анизотропии оптических свойств суспензии [195, 196], а также значительным увеличением фотоэлектрических ответов при облучении светом плёнок на основе БР [197]. Представляется важным более подробно рассмотреть способы получения такого рода плёнок.

Существуют различные способы ориентации БР (в виде ПМ): методом центрифугирования фрагментов ПМ [195], вследствие гидрофобных взаимодействий на межфазной границе воздух/вода [198], а также на границе раздела водной и органической фаз [199]. В качестве органической фазы используются как летучие, так и нелетучие п-алканы и диметилформамид [198, 199], многокомпонентные системы [196,199, 200]. ПМ ориентировались в магнитном поле вследствие диамагнитной восприимчивости белков

[201, 202], в электрическом поле воздушного конденсатора [203], в электрическом поле, приложенном непосредственно к суспензии ПМ [99]. Рассмотрим более подробно некоторые из перечисленных выше методик.

Многие способы ориентирования ПМ основаны на различиях свойств цитоплазматической и внешней сторон мембраны. Как уже указывалось выше, С-конец полипептидной цепи БР экспонирован в цитоплазму, а N-конец обращён к внеклеточной стороне ПМ [31, 32]. ПМ обладают значительным постоянным дипольным моментом, обусловленным различной плотностью поверхностных зарядов на противоположных сторонах мембраны и составляющим ~ 140 D при pH 7 [196]. Замораживание суспензии БР во внешнем электрическом поле позволяет создать и зафиксировать преимущественную ориентацию ПМ по отношению к направлению приложенного электрического поля [204].

Для получения препаратов ориентированных ПМ использовали также высушивание в постоянном электрическом поле капли суспензии, нанесённой на электропроводящую подложку [203]. Поскольку в этом случае высушивание проводилось в поле воздушного конденсатора, довольно большое различие диэлектрических проницаемостей воздуха и суспензии ПМ не позволяло достичь высокой напряжённости и достаточной однородности поля внутри капли ПМ и вследствие этого высокой степени упорядоченности получаемых препаратов ПМ.

В попытке достичь большей степени упорядоченности молекул БР, иммобилизованных в полиакриламидном геле, авторы проводили собственно полимеризацию во внешнем электрическом поле [205]. Кинетика и амплитуда изменений фотоэлектрического ответа, регистрируемого с помощью такого рода препаратов, зависят от свойств измерительных электродов и ионного состава смывающего раствора. При использовании электрофоретического метода осаждения ПМ на плоском электроде [181, 206] электрическое поле прикладывалось непосредственно к деионизованной суспензии ПМ. Вследствие наличия в суспензии ПМ липидов, которые в нейтральной среде заряжены отрицательно, бляшки ПМ (PM patches) обладают электрофоретической активностью и движутся к аноду. Последующее высушивание таких образцов позволяет получить препараты, максимально упорядоченные. Под действием света такие высокоориентированные структуры при толщине образца ~ 10 мкм способны генерировать высокий электрический потенциал [206].

Однако электрофоретическому методу получения таких упорядоченных структур присущ ряд недостатков: невозможность получения препаратов большой (> 1 см²) и малой (~ 1 мм²) площади и малой (~ 100 монослоев) толщины; деионизация ПМ при протекании электрического тока через суспензию и пр. [207]. В то же время для приготовления таких ориентированных молекулярных структур рекомендуется применять модификации метода послойного нанесения мономолекулярных плёнок на твёрдые подложки [208–210], предложенного Ленгмюром, (*Langmuir–Blodgett method*,

сокращённо LB). Эти методы в принципе свободны от недостатков электрофоретического метода, и, кроме того, позволяют получать смешанные монослои, а также структуры типа «сэндвич» с чередованием монослоёв разного химического состава. Исследование состояния монослоёв ПМ и смеси ПМ с жирными кислотами на границе раздела воздух/вода позволило определить их динамические характеристики и подтвердило возможность формирования мультислоёв по методике LB [207]. Нанесённые на тонкую тефлоновую подложку или другой нейтральный носитель (например, стекло), такие структуры могут рассматриваться как прототипы молекулярных вычислительных элементов [192, 210].

В литературе описаны несколько способов формирования монослоя ПМ на поверхности раздела вода/воздух. Рассмотрим некоторые из них: монослои, полученные из суспензии ПМ в органических растворителях [197, 208, 209, 210] или путём ультразвуковой дезинтеграции водной суспензии ПМ [211]. ПМ в монослоях, полученных первым способом, имеют предпочтительную ориентацию цитоплазматической поверхностью в сторону субфазы. при этом соотношение между различно ориентированными ПМ составляет 85:15 [199]. По второму способу суспензию ПМ, диспергированную ультразвуком, наносят не на воду, а (для уменьшения растворимости ПМ) на солевой раствор (0,5 M KCl). При этом преимущественная ориентация ПМ в монослое оставалась такой же, как и в монослоях, полученных первым способом, но степень ориентации ниже — 60:40 [211]. Перенос монослоя на твёрдую подложку может быть выполнен методом горизонтального (метод Шеффера) и вертикального (метод LB) лифтов. Метод вертикального лифта позволяет лучше контролировать сам процесс переноса монослоя на поверхность, при постоянстве условий нанесения коэффициент переноса монослоя ПМ является хорошо воспроизводимой величиной и не зависит от числа нанесённых ранее слоёв [207]. Спектры оптического поглощения плёнок LB соответствуют спектрам поглощения БР, оптическая плотность в полосе 560–570 нм пропорциональна числу монослоёв ПМ в образце. Сравнение структурных и электрических свойств плёнок ПМ, полученных способами LB и электрофоретического осаждения [207], в частности, электрическое сопротивление в расчёте на один монослой составляет соответственно $2*10^5 - 2*10^6$ и $5*10^7 - 2*10^6$ 5*10¹⁰ Ом*см². Сопоставление этих данных с результатами рентгенографического анализа, по мнению авторов [207], может привести к заключению, что LB-плёнки обладают значительно большим количеством дефектов по сравнению с полученными электрофоретическим методом.

Следует также отметить, что использование высокоориетированных препаратов, получаемых методами LB (в различных модификациях) и электрофоретического осаждения, особенно важно в фотоэлектрических преобразователях. Что касается различного рода оптоэлектронных устройств, то, как показывают эксперименты различных авторов [159, 163, 182, 212-214], свойства спонтанно ориентированных препаратов ПМ позволяют получать достаточно стабильно и эффективно работающие плёнки на основе БР.

Микроструктурные требования	Фотохромизм	Фотоэлектрические свойства	Разделение зарядов
ориентация ПМ	не требуется	высокая	очень высокая
пористость слоя ПМ	не актуальна	низкая	очень низкая
толщина слоя ПМ	не актуальна	2-3 слоя	монослой
интерфейс	оптический	электрический	химический

Таблица 4. Микроструктурные требования к образцам и типам интерфейса технической системы в зависимости от класса приложений



Рисунок 8. Светоиндуцируемый синтез АТФ с помощью искусственной органеллы. Схематическое изображение искусственной фотосинтетической клетки с внедренной в нее искусственной органеллой, содержащей БР и АТФ-синтетазу. Синтезированная АТФ служит субстратом для матричной РНК и энергией для фосфорилирования ГДФ или аминоацилирования транспортной РНК [139]



Рисунок 9. 1 и 2 — цифровые фотографии солнечных батарей, сконструированных с использованием БР (BSSCs - bio-sensitized solarcells) [145].



Рисунок 10. Схема процесса сокращения выбросов CO2 с помощью ПМ, реконструированных полупроводниками [149]



Рисунок 11. Схематическое изображение BPSC (Bio-Perovskit cell), где компактный слой TiO₂, перовскит/мезопористый TiO₂/БР, Spiro-OMeTAD и Au-электрод были нанесены на стекло фтор-оксид олова (ФОО) соответственно. Ключевыми компонентами BPSC являются молекулы БР между слоями TiO₂ и перовскита, которые реализуют стадию переноса энергии, включающую поглощение фотонов и перенос горячих носителей. Преобразование световой энергии осуществляется за счет переноса фотогенерированных электронов от перовскитного поглотителя к молекулам БР посредством процесса резонансной передачи энергии Фёрстера (FRET) [150]

2.4. Плёнки «Биохром» на основе БР и его производных

Одним из примеров достаточно хорошо изученных спонтанно ориентированных плёнок на основе ПМ является плёнка «Биохром» – реальное биотехническое устройство, созданное в Институте Биологической физики АН СССР в 1978 году [157, 215, 216]. Плёнки Биохром получают иммобилизацией ПМ в полимерные матрицы. Что в данном случае означает слово «иммобилизация»? Практически приготовляется гомогенная смесь, содержащая водную суспензию ПМ и водорастворимого полимера, которая наносится на твёрдую подложку слоем 2–3 мм толщиной, затем высушивается при 40–45% RH (**рис. 12**). В качестве полимеров для иммобилизации был опробован целый ряд таковых, главными условиями для выбора полимера были водорастворимость и образование гомогенной смеси с ПМ. Исходя из данных **таблицы 5**, видно, что вышеуказанным условиям удовлетворяют только два полимера – поливиниловый спирт и желатина (1 и 7), поэтому все дальнейшие исследования проводились в начале с одним из этих двух, затем использовали в основном желатину [217].

Электронная микроскопия поперечного среза высушенного при обычной комнатной влажности фоточувствительного слоя [218] свидетельствует о том, что фрагменты ПМ в такой полимерной матрице собраны в пачки от 3 до 15 штук в каждой, вероятно, вследствие зарядовых и гидрофобных вза-имодействий между белковыми участками мембран (рис. 13).

Такая структура в тонких (1-2 мкм толщиной) слоях могла бы сказаться на характеристиках плёнки, но в плёнках толщиной от 20 до 100 мкм процесс накопления полезного сигнала, как правило, не зависит от их толщины. В случае необходимости получения более высокого качества плёнок используется иной метод приготовления плёнок Биохром – метод формования. Электронная микрофотография среза плёнки Биохром, приготовленной методом формования, представлена на рис. 14 [218]. Из сравнения рисунков 13 и 14 видно, что белые линии, которые авторы относят к ПМ, в формованных плёнках не образуют пачки, или пачки менее выражены. Это говорит о большей гомогенности слоя в формованных плёнках. Толщина плёнок составляет около 30-50 мкм и оптическая плотность не превышает 2-2,5 D. Плёнки Биохром можно рассматривать как ПМ, иммобилизованные в полимерную матрицу. Схема установки для приготовления плёнок этими двумя методами – полива и формования – представлена на рис. 15. При методе формования плёнкообразующую смесь ПМ и полимера (b) вводят пипеткой или шприцем между двумя твёрдыми подложками (**a** и **d**), разделёнными определённой высоты спейсерами (b и c). Высота спейсеров (обычно 800–1000 µ) регулирует необходимую результирующую толщину плёнки. Верхняя подложка с внутренней стороны имеет гидрофобизирующее покрытие, которое позволяет удалить подложку после гелеобразования

в плёнкообразующей смеси. После удаления верхней подложки полученный гель высушивается так же, как и в методе полива (**рис. 15**).

При осуществлении процедуры иммобилизации ПМ в полимерную матрицу важной задачей для исследователя было убедиться в сохранении основных фотохимических свойств пигмента. Спектр поглощения нативного БР из ПМ разных штаммов *Halobacterium salinarum* (353 П, R1M1, ET1000, S9), иммобилизованного в полимерную матрицу, не претерпевает изменений по сравнению с таковым для водной суспензии ПМ [217].

Образец иммобилизованного в желатину или пвс немодифицированного БР при освещении постоянным светом при комнатной температуре демонстрирует исчезновение основной полосы поглощения при 570 нм и образование широкой полосы при ~ 420 нм, соответствующей поглощению фотопродукта М в цикле БР в водной суспензии ПМ. Релаксация полосы 420 нм коррелирует с восстановлением полосы исходной формы, что говорит о сохранении фотоцикла в этих условиях, но завершении его фотопродуктом М [219]. Кинетические характеристики процесса темновой релаксации (распада) фотопродукта М в плёнках Биохром при фиксированной относительной влажности свидетельствуют о замедлении исчезновения этого продукта ~ на 3 порядка, по сравнению с таковым для водной суспензии ПМ. Таким образом, полувремя жизни фотопродукта М в такого рода плёнке составляет от 5 до 50 сек в зависимости от типа полимерного связующего [219]. Сравнение кинетических параметров темновой релаксации фотопродукта М в плёнках Биохром на основе немодифицированного БР [159, 220] с таковыми для воздушно-сухих плёнок БР [98] демонстрирует замедление релаксации в плёнках Биохром приблизительно на порядок величины (таблица 6). По-видимому, это связано с разным содержанием воды в плёнках БР с полимером и без него при одной и той же относительной влажности воздуха [215].

Одной из важных характеристик фотохромных материалов является их цикличность. Для оценки цикличности плёнка Биохром подвергалась облучению зелёным светом лазера ILM-120 (измеренная мощность в плоскости луча диаметром 2 мм составляла 0,3 Вт) в течение 30 мин. Расчёт удельной энергии излучения даёт цифру 9,56 Дж/см², что при существующей экспозиции составило 1,71 * 10⁴ Дж/см². Принимая чувствительность плёнки, равной 10⁻² Дж/см², получаем для количества циклов цифру не менее, чем 1,71 * 10⁶. Следует отметить, что после этого эксперимента не было зарегистрировано ни визуально, ни при исследовании фотоиндуцированных превращений каких либо изменений свойств данной пленки, свидетельствующих о деструктивных воздействиях на Биохром такого длительного мощного излучения. Этот косвенный эксперимент позволяет сделать вывод, что цикличность плёнки Биохром довольно высока по сравнению с другими фотохромами и при расчётах составляет > 10⁶ циклов [217].

Упоминаемое выше существенное замедление фотоцикла БР, иммобилизованного в полимерную матрицу, при сохранении его основных фо-

тохимических свойств и возможности многократной циклической записи без видимых деструктивных изменений пигмента позволяют рассматривать плёнки Биохром как технологичный фотохромный элемент и определить его фототехнические характеристики, такие как энергетическая светочувствительность, разрешающая способность и дифракционная эффективность (таблица 7) [217].

Сравнивая указанные выше характеристики плёнок Биохром на основе немодифицированного БР с таковыми для других фоторегистрирующих материалов (таблица 8) можно сделать вывод, что плёнки Биохром достойны включения в ряд перспективных для использования в разных аспектах записи, обработки и хранения оптической информации. Однако, некоторые недостатки их, такие, как относительно низкая светочувствительность и малое время хранения информации (малое время жизни фотоинтермедиата **M**) требовало использование различного рода модификаций БР с целью устранения этих недостатков.

2.4.1. Химические добавки, используемые для модификации в плёнках Биохром

Малое время хранения информации и низкая чувствительность в плёнках Биохром – это существенные недостатки этих систем, поэтому была разработана такая фотохромная композиция, которая, кроме БР и полимера, включала в себя так называемые сенсибилизирующие добавки – по крайней мере одно соединение из группы аминовых солей, такие, как гуанидин гидрохлорид (ГГХ) или аркаин сульфат (ArcSO₄), а также одно из группы аминов, такие, как триэтаноламин (ТЭА), диаминопропан (ДАП) или тетраметилендиамин (ТМЭДА) (таблица 9). Эмпирическим путём определены соотношения их в фотохромной композиции – предпочтительно, чтобы в композиции присутствовал по крайней мере один из группы аминовых солей и один из группы аминов в весовых соотношениях от 1:100 до 1:200 [210]. Предполагается, что добавки влияют на рК функционально важных амнокислотных остатков, составляющих цитоплазматическую часть протонного транспорта в БР, тем самым препятствуя конформационным изменениям интермедиатов в оставшейся части фотоцикла и замедляя восстановление исходного состояния БР [221]. Использование таких азотосодержащих соединений в соотношениях, приведённых в [221], приводит к большей энергетической чувствительности, которая выражается в более эффективном обесцвечивании. Кроме увеличения чувствительности использование добавок в определённых соотношениях увеличивает время жизни М [219]. Итак, резюмируя, при использовании сенсибилизирующих добавок в плёнкообразующую смесь удалось повысить чувствительность образцов плёнок Биохром на основе немодифицированного БР до 10⁻³ Дж/см² (некоторые образцы имеют чувствительность до 5 * 10-4 Дж/см²) и увеличить (до сотен секунд) время жизни фотоиндуцированной формы М [221].

2.4.2. Использование генно-модифицированного БР в плёнках Биохром

Важным средством изменения кинетических характеристик фотоцикла БР является использование генно-модифицированных штаммов Halobacterium salinarum, в которых молекулы БР претерпевают замещения некоторых аминокислот в первичной аминокислотной последовательности. Эти генетические модификации с целью влияния на кинетические характеристики фотоцикла БР производятся, главным образом, по аминокислотам, которые играют ключевую роль в функционировании пигмента. Так, например, любое замещение аминокислоты Asp-96, которая является внутренним протонным донором в БР, превращает БР дикого типа (БР ДТ или БР WT), то есть генетически немодифицированный белок, в мутантный белок, в котором конечные стадии фотоцикла замедленны, т.к. ШО будет репротонироваться скорее протоном из среды, чем от Asp-96 [222]. Это приводит к резкому увеличению времени жизни фотопродукта М и, как следствие, увеличению населённости молекул фотопродукта М. Большинство штаммов мутантов стабильны; будучи однажды созданными, они культивируются, выделяются из клеток и могут быть использованы в плёнках, таких, как Биохром, таким же образом, как и БР WT.

Представлялось интересным сравнить фотоиндуцированные поведения мутантов, в которых произведены замещения в фунционально важных местах аминокислотных последовательностей БР (например: D96N, D96E, D85N) с таковыми для мутантов, где замещения сделаны в элементах, не важных для функционирования БР (например, S35C) [212]. Это исследование было проведено для мутантов и БР WT как в водной суспензии, так и в полимерных плёнках [223]. Было показано, что замещение Ser35 на Cys не затрагивает функциональные свойства БР. В плёнках на основе D85N БР зарегистрировано продолжительное по сравнению с БР WT время жизни интермедиата М, которое составляло почти 20 минут. Однако эффективность образования фотопродукта М не превышала 0,5%, что неудивительно, т.к. известно, что в D85N БР образование М блокировано, по сравнению с БР WT [129], и лишь незначительное количество фотопродукта M формируется благодаря иным механизмам. Кроме этого, нужно отметить, что иммобилизованный в полимер D96E БР обладает замедленным фотоциклом, сравнивым с таковым для D96N БР, хотя соответствующие поведения этих мутантов в водных суспензиях заметно разнятся. Обнаруженное удивительное единообразие поведения разных мутантов в полимерных плёнках связано, по-видимому, с ограничением количества свободной воды, препятствующим конформационным изменениям пигмента в ходе его фотоцикла и отсутствием молекул воды, вовлечённых в водородные связи и пути транспорта протона в БР [129, 12130, 223].

В химически модифицированных плёнках Биохром на основе D96E и D96N регистрировалась почти 100%-ная эффективность обесцвечивания, что является несомненным преимуществом этих плёнок для использования

в запоминающих устройствах хранения изображений [224]. Эффективность обесцвечивания – bleaching efficiency – определяется как отношение фотоиндуцированного изменения поглощения при 560 нм к величине поглощения исходной формы пигмента – $\Delta D_{560}/D_{560}$. Было обнаружено и другое несомненное преимущество плёнок на основе D96N, а именно, их необычное поведение в условиях принудительной дегидратации [224]. Как показано в [224], химически модифицированные плёнки на основе D96N демонстрируют 100%-ную эффективность обесцвечивания в более широком диапазоне влажности (35%–85%), чем плёнки на основе БР WT. Время жизни фотопродукта **M** в плёнках на основе D96N БР в значительной степени не зависит от влажности. Аналогичная зависимость от влажности наблюдается и в плёнках не только на основе желатины, но и на основе ПВС, и в сухих плёнках вообще без полимера, что определённо свидетельствует, что причиной таких изменений является поведение собственно белка, а не системы белок-полимер [224].

2.4.3. Использование замены хромофора в плёнках Биохром

Ещё одним методом модификации БР для увеличения времени жизни фотопродукта М является замена природного хромофора, которым является ретиналь, на его синтезированные аналоги. Этот метод и влияние его на функциональные свойства нативного БР были подробно рассмотрены выше (смотри главу 1.3). Теперь речь пойдёт о возможном использовании таким способом модифицированного БР для создания на его основе сред для записи и хранения оптической информации. Был подробно исследован ряд аналогов БР, в которых проведена замена ретиналя его синтетическими аналогами с модификациями в циклогексеновом кольце, а затем полученные аналоги БР были иммобилизованы в полимерные матрицы (таблица 10). Исследования кинетических характеристик аналогов БР, указанных в таблице 9. показали, что практически все аналоги имеют время жизни фотопродукта М, превышающее таковое для немодифицированного БР [225], но наиболее впечатляющие результаты были получены для плёнок Биохром на основе 4-кето БР [226]. Методология экспериментов для исследования фотоцикла в водной суспензии 4-кето БР была та же, что и для нативного БР – сначала облучение образца при низкой температуре для стабилизации бато-интермедиатата, а затем постепенный отогрев образца для захвата следующих интермедиатов фотоцикла [105]. Образование и распад фотопродуктов контролировался в кинетических экспериментах в микросекундной, миллисекундной и в секундной временной шкале. Анализ изменений поглощения при низкой и комнатной температуре, и кинетических экпериментов, индуцированных лазерной вспышкой и стационарным облучением, позволил предложить гипотетическую схему фотоцикла водной суспензии БР (рис.7), из которой следует, что для этого аналога был впервые зарегистрирован бато-интермедиат фотоцикла типа **К** со временем образования < 30 пс и характерным временем распада 50 мкс; в отличие от нативного БР не регистрируется интермедиат L; зарегистрированы по крайней мере три спектрально
и кинетически различающихся интермедиата типа **M** [105, 121]. В отличие от нативного БР была зарегистрирована спектральная и кинетическая гетерогенность интермедиатов **M** и **O** [105, 121]. Также в отличие от нативного БР был зарегистрирован фотоактивный *13-цис*-фотоцикл, существующий при физиологических pH. *13-цис*-фотоцикл является достаточно быстрым (в интервале значений секунд), а полностью *mpaнc*-фотоцикл достаточно медленный (в интервале значений минут). Времена жизни интермедиатов **M** в этом аналоге (в частности, длинноволновых составляющих) достигают в суспензии нескольких десятков минут, что позволило нам рассматривать данный аналог как очень перспективный в прикладном отношении [105]. Поэтому на основе 4-кето БР были приготовлены полимерные плёнки Биохром и были изучены их спектрально-кинетические свойства.

Детальное исследование плёнок Биохром на основе 4-кето БР показало, что фотоиндуцированные спектральные изменения сходны с таковыми в суспензии, но кинетические характеристики существенно отличаются – в плёнках они во временной шкале часов [225, 226]. Таким образом, обнаружен аналог БР, в котором время жизни интермедиата **М** (что фактически является временем хранения оптической информации) много выше, чем у нативного БР.

Химические добавки в фотохромную композицию, о которых говорилось в разделе 2.4.1, были использованы и в плёнках Биохром на основе аналогов БР. Было показано, что, в отличие от соотношений аминовых солей и аминов в фотохромной композиции для плёнок Биохром с БР WT [221], в плёнках с аналогами БР более предпочтительны другие соотношения аминовых солей и аминов. Сравнения этих соотношений приведены в **таблице 11**. Показано, что необходимый эффект от применения химических добавок в фотохромную композицию с аналогами БР достигается при концентрациях в ней аминовых солей и аминов, существенно меньших, чем для плёнок с БР WT. Предполагается, что причиной этого может служить влияние реакции фотоиндуцированного гидроксиламинолиза (ФГА), используемой в ходе приготовления аналогов БР [227]. В ходе ФГА жёсткость гексагональной упаковки может быть снижена [228], тем самым сообщая белковым цепям пигмента большую доступность для добавок, чем таковая существует в нативном БР [221].

2.4.4. Использование производных БР в плёнках Биохром

С целью дальнейшей оптимизации функционирования БР в плёнках Биохром были изучены возможности использования производных БР – пигментов, подвергнутых двум типам модификаций – замены хромофора и изменений в белковой части в одном и том же образце. Был выбран мутант D96N (Asp-96 \rightarrow Asn) с замедленным фотоциклом, и в нём же была проведена замена хромофора – нативного ретиналя – на 4-кето ретиналь. Затем полученное производное БР – 4-кето-D96N БР – было иммобилизовано в полимерную матрицу и подвергнуто исследованию спектрально-кинетических свойств модифицированного пигмента. Было обнаружено, что полимерная плёнка на основе производного 4-кето-D96N БР демонстрирует

ещё большее замедление распада М-подобного интермедиата, чем существующее в плёнке 4-кето-БР WT [229]. Исследование кинетических характеристик распада М-подобного интермедиата в плёнках 4-кето-D96N БР с химическими добавками показало, что использование добавок увеличивает время жизни всех кинетических компонент распада М-подобного интермедиата, а именно до получаса для полувремени распада М и до нескольких часов до полного времени жизни этого интермедиата [229]. Сравнительное исследование кинетик для всех экспоненциальных компонент распада М в обоих типах плёнок продемонстрировало увеличение вклада наиболее долгоживущего компонента (435 нм) в плёнках 4-кето-D96N БР по сравнению с таковым для плёнок 4-кето-БР WT [229]. Исходя из этих данных, делается вывод, что плёнки Биохром на основе производного 4-кето-D96N БР могут рассматриваться как более перспективная среда для записи и хранения оптической информации, чем плёнки на основе 4-кето-БР WT [225].

Следующей ступенью в изучении возможных модификаций БР в плёнках Биохром явилось исследование производных БР с синтетическими хромофорами, модифицированными в полиеновой цепи (таблица 12). Исходя из данных таблицы, можно сделать вывод, что максимум поглощения исходной формы 4-кето БР 508 нм имеет коротковолновый сдвиг по сравнению с таковым для нативного БР 570 нм. Максимум поглощения, сдвинутый в коротковолновую область, может рассматриваться как некое «слабое место», недостаток 4-кето БР как фотохромного материала из-за небольшого опсинового сдвига. Больший опсиновый сдвиг даёт более высокий контраст изображения в случае применения элементов на основе БР в электронно-оптических устройствах. Кроме этого, сдвиг максимума поглощения модифицированных БР не в коротковолновую, как в 4-кето-БР, а в длинноволновую область по сравнению с максимумом для нативного БР, позволит использовать более дешёвые полупроводниковые лазеры для записи оптической информации.

Примером такого рода модифицированных БР могут служить производные БР, имеющие в качестве хромофоров синтезированные аналоги ретиналя с заместителями F- и CF₃- в 14 и 13 положениях полиеновой цепи соответственно (таблица 12). Известно, что введение сильных электроно-акцепторных заместителей F- и CF₃- в 14 и 13 положениях полиеновой цепи приводит к длинноволновому сдвигу максимумов поглощения, полученных пигментов по сравнению максимумом нативного БР [114, 115, 230]. В связи с этим фотоиндуцированное поведение водных суспензий, таких, как 14-F БР, так и производного 14-F D96N, было исследовано во всех деталях [115]. Было показано, что при исследовании этих двух пигментов обнаруживается кардинальное различие между фотоиндуцированными поведениями водных суспензий 14-F БР WT и 14-F-D96N. Анализ этих экспериментально доказанных различий позволил предположить существование двух процессов, инициируемых светом: запуск фотоцикла при 588 нм и образование и распад красносдвинутого компонента при 660 нм [115]. Для 14-F БР WT эти два процесса происходят одновременно при рН-зависимом равновесии между ними, в случае же 14-F-D96N фотоцикл при 588 нм следует за образованием и распадом красносдвинутого компонента при 660 нм. То есть в случае 14-F-D96N красносдвинутый компонент при 660 нм не маскируется фотоциклом при 588 и может быть использован сам по себе [115]. Этот факт позволяет сделать вывод, что 14-F-D96N может считаться более предпочтительным в качестве фотохромного материала, чем 14-F БР WT, возможно, в виде влажного геля, помещённого в запаянную кювету.

Дальнейшее изучение этих двух фторных производных БР проводилось на образцах, полученных иммобилизацией пигментов в полимерные матрицы, то есть на плёнках Биохром. Сравнительное исследование спектрально-кинетических свойств пигментов в суспензии и в полимерных матрицах показало отсутствие тех радикальных различий между 14-F-D96N и 14-F БР WT в полимерных матрицах [231], которые наблюдались ранее в водных суспензиях этих пигментов [115]. Не было зарегистрировано образования красносдвинутого компонента при 660 нм для обоих этих пигментов в полимерных матрицах. Полученные результаты обсуждаются в терминах соотношения скоростей тех двух фотоиндуцированных процессов, о которых говорилось выше [115, 231]. При обсуждении установлено, что именно кинетические характеристики этих процессов в плёнках являются причиной отсутствия различий между пигментами и, следовательно, отсутствия преимущества 14-F-D96N перед 14-F БР WT в плёнках, в отличие от того, как это наблюдалось в суспензиях. Но, как известно, кинетические характеристики фотоиндуцированных процессов, идущих в пигментах, иммобилизованных в полимерные матрицы, успешно управляются изменением влажности, в которой выдерживаются плёнки. Следовательно, следующим логическим шагом в исследованиях должно стать определение необходимого диапазона влажности для плёнок, при котором преимущества того или иного пигмента проявлялись, поэтому было изучено влияние дегидратации на кинетические характеристики фотоиндуцированных процессов, идущих в полимерных плёнках 14-F-D96N и 14-F БР WT [232]. Было обнаружено, что в диапазоне относительной влажности (RH) 84% - 92% наблюдалось появление красносдвинутого компонента при 660 нм только в плёнках на основе 14-F БР WT, а в плёнках на основе 14-F-D96N этого не наблюдалось. Более того, использование химических добавок для увеличения чувствительности плёнок привело к значительному накоплению красносдвинутого компонента в плёнках на основе 14-F БР WT [232]. Этот факт и анализ кинетик «свет вкл.» и «свет выкл.» подтвердил первоначальное предположение авторов о существовании двух параллельно идущих фотоиндуцированных процессов в 14-F БР WT и 14-F-D96N. Именно разные соотношения между скоростями этих процессов и явились причиной столь разного фотоиндуцированного поведения этих двух производных БР [232]. Был сделан вывод противоположный тому, который был сделан для водной суспензии этих фторных производных БР – в плёнках преимущество как фотохромного материала перед 14-F-D96N имеет уже 14-F БР WT.



Рисунок 12. Схематическое изображение плёнки Биохром

Таблица 5.	. Тестируемые	полимеры	для примен	ения в плё	нках Биохром	и их свойства	[217	7]
------------	---------------	----------	------------	------------	--------------	---------------	------	----

Название полимера	Водорастворимость полимера	Гомогенность смеси с ПМ
1.Поливиниловый спирт (ПВС)	+	+
2. Полидиметиламиноэтил метакрилат	+	_
3. Сополимер диметилдиаллиламо- ний хлорида и акриловой кислоты	+	_
4. Этилбромидполидиметил аминоэтил метакрилат	+	_
5. Полидиметилдиаллиламмоний хлорид	+	-
6. Полидиэтилдиаллил аммоний хлорид	+	-
7. Желатина	+	+



Рисунок 13. Фотография электронной микроскопии среза плёнки «Биохром» (× 50000). Пленка приготовлена методом полива фоточувствительной смеси, содержащей ПМ и ПВС, на стеклянную подложку [218]



Рисунок 14. Фотография электронной микроскопии среза плёнки «Биохром» (× 50000). Плёнка приготовлена методом формования фоточувствительной смеси, содержащей ПМ и ПВС, между двумя стеклянными подложками [218]



Рисунок 15. Схема лабораторной установки для приготовления плёнок Биохром методом формования (слева вверху) и полива (в овале). 1 – камера, 2 – термостат, 3 – термостатируемая металлическая плита, 4 – термогигрометр, 5 – термогидродетектор, 6 – насос, 7 –силикагель, 8 – терморегулятор, 9 – хладоагент, 10 – мешочки с силикагелем.

Таблица 6. Сравнение кинетических параметров воздушно-сухих пленок и пленок Биохром. Временные константы и относительные амплитуды (в скобках) экспоненциального разложения кинетик распада интермедиата М. RH 45%, T = 22° C

Образец	т ₁ , сек	т ₂ , сек	т ₃ , сек
Воздушно-сухие	$0,244 \pm 0,1 c$	$1,25 \pm 0,4 c$	$10,1 \pm 3,0 \text{ c}$
плёнки [98]	(0,3 ± 0,06)	(0,42 ± 0,04)	(0,28 ± 0,01)
Полимерные плёнки	$3,24 \pm 0,06 \text{ c}$	$26,2 \pm 3,5 c$	$180,4 \pm 20 \text{ c} \\ (0,07 \pm 0,01)$
(ПВС) БР [219]	(0,31 ± 0,05)	(0,62 ± 0,08)	

Образец	λ _{макс} нм	D _{лмакс} о.е.	Δ D _{λмакс} 0.e.	Н _{λ=576} Дж/см ²	η%	R мм ⁻¹
1	560	0,78	0,7	0,02	2	> 2000
2	560	0,40	0,3	0,03	1,5	> 2000

Таблица 7. Фототехнические характеристики плёнок Биохром

где: а) чувствительность Н плёнок к излучению определялась как энергия на единицу площади, необходимая для получения перепада оптической плотности в максимуме фотоиндуцированной полосы поглощения, равного 0,1; плотность излучения в плоскости образца составляла 20 мВт/см²;

б) дифракционная эффективность η определялась как отношение интенсивности излучения, дифрагированного в +1 порядок, при записи на плёнках Биохром голограмм двух плоских пучков света от He-Ne лазера типа ЛГ-38 с λ =632,8 нм к интенсивности падающего на голограмму излучения;

в) разрешающая способность R плёнки Биохром измерялась интерференционным способом путём записи голограмм плоских пучков света с различным пространственным периодом, который определялся углом между интерферирующими пучками [217].

Семейство фотохромов	Энергетиче- ская свето- чувствитель- ность Дж/см ²	Циклич- ность (количество циклов)	Время хранения информа- ции	Дифракци- онная эффектив- ность
Спиропираны	0,01	Тысячи	Часы	10
Тиоиндигоиды	1,00	Сотни	Секунды	1
Хиноны	1,00	Десятки	Месяцы	1
Поликристаллы различных активи- рованных стекол	10,00	Одна сотня	Годы	3
Кристаллы (например CaTiO ₃ или CaF ₂)	1,00	Один миллион	Дни	5
Биохром-БР	0,01	Миллионы	Секунды	5
Биохром-4кето-БР	0,05		Минуты	1

Таблица 8. Фототехнические характеристики различных фотохромов

$ \\ \\ NH_2(-NH_3^+Ct) \\ NH_2(-NH_3^+Ct) \\ \\ \\ \\ \\ NH_2 - SO_4 - H_2N \\ \\ \\ npt \\ \\ NH_2 - Ct - H_2N \\ \\ (Arts - CH_1 - CH_2 - NH_2) \\ \\ Ch_3 - CH_1 - CH_2 - NH_2 \\ \\ NH_2 \\ \\ npt \\ NH_2 \\ \\ npt \\ NH_2 \\ \\ npt \\$	хаин ьфат SO4) три- этанол- амин (ТЭА) , ди-амино опан (ДАП)	Химические реагенты, исполь- зуемые в фотохромной компози- ции. Защищены патентом Dyukova T.,Vsevolodov N., 1996. U.S. Patent 5,518,858 "Photochromic composi- tions and materials containing bacteri- orhodopsin". В состав композиции входят по крайне мере одно соединение из группы аминовых солей, такие, как ГГХ или ArSO4, а также одно из группы аминов, такие, как ТЭА ДАП или ТМЭДА.
CH3 CH3 NCH2CH2N CH3 CH3	N,N,N'N'- тетра- метилен- ди-амин (ТМЭДА)	

Таблица 9



Рисунок 16. Плёнка Биохром в зажиме с изображением кошки. Данное изображение на плёнке получено путём проецирования трафарета (негатива) светом 1 > 500 нм. Время жизни изображения зависит от способов приготовления плёнок и компонентов, входящих в фоточувствительную плёнкообразующую смесь

Ретиналь и его аналоги Структурные формулы и названия	λ _{тах} исходной формы А соот- ветствующих хромопротеидов	λ _{max} фотоинду- цированно фор- мы В соответ- ствующих хро- мопротеидов
1. Ретиналь	570	412
2. 3, 4-ди-дегидро ретиналь	585	417
3. 3-метокси-тетраеналь	540	390
4. 5,6-эпокси-5,6-дигидроретиналь	485	380
5. 3,4-диметокси-триеналь	500	380
6. 4-кето ретиналь	510	411

Таблица 10

Таблица 11. Химические добавки и их весовые соотношения в фотохромной композиции для приготовления желатиновых плёнок на основе БР ДТ и 4-кето БР

Химические добавки	БР ДТ	4-кето БР
GGH : DAP	1 : 153	1 : 69
GGH : TEA	1:153	1 : 64
ArSO4 : DAP	1 : 153	1:73
ArSO4 : TEA	1:153	1:68
TMEDA : DAP	1:21	1:10
ArSO ₄ : TMEDA : TEA	1:7:153	1:4:68
ArSO ₄ : TMEDA : DAP	1:7:153	1:4:73
GGH : TMEDA : TEA	1:7:153	1:3:64
GGH : TMEDA : DAP	1:7:153	1:3:69

Таблица 12

Ретиналь и его аналоги Структурные формулы и названия	λ _{тах} исходной фор- мы А соответству- ющих хромопроте- идов	λ _{max} фотоиндуциро- ванной формы В соответствующих хромопротеидов	
о 1. Ретиналь	570	412	
2. 13-десметил ретиналь	565	405	
СF ₃ о 3. 13-СF ₃ ретиналь	624	?	
4. 14-F ретиналь	680-587	?	

2.4.5. Использование реакции фотоиндуцированного гидроксиламинолиза (ФГА) для однократной постоянной памяти в плёнках Биохром

В предыдущем разделе было показано, что для плёнок 4-кето-D96N БР с химическими добавками время жизни всех кинетических компонент распада М-подобного интермедиата увеличивается, а именно до получаса для полувремени распада M и до нескольких часов до полного времени жизни этого интермедиата [229]. Однако, в некоторых случаях требуются образцы полимерных плёнок на основе БР или его производных со временем жизни **M** (т.е. временем хранения оптической информации) – дни, месяцы и даже годы. Одним из возможных подходов к решению данной проблемы может быть использование разветвления фотоцикла БР на стадии интермедиата O (рис. 4), включающего стабильный фотопродукт Q, который может выступать в качестве активного элемента в устройствах долговременной памяти [233]. Однако, разветвление фотоцикла происходит под действием дополнительного освещения интермедиата О и следующая цепочка выглядит следующим образом: **О**→**P**→**Q**, где **P** переходит в Q только при особых условиях. Кроме этого, наилучшие результаты при использовании фотопродукта Q получены для мутанта D85E/D96Q BR [234]. Вместо разветвлённого фотоцикла было предложено использовать реакцию ФГА для решения проблемы осуществления долговременной памяти в полимерных средах на основе БР [235]. Этот метод достаточно прост, не требует сложных биохимических/генетических технологий и дополнительного физического оборудования.

Для того, чтобы достичь искомой цели – достаточно пролонгированного или почти бесконечного времени жизни фотопродукта M – необходимо, чтобы после образования M процесс перестал быть фотохромным, а стал необратимым, то есть, другими словами, фотопродукт M должен быть каким-то образом химически захвачен, чтобы предотвратить дальнейшее протекание фотоцикла БР. Это и происходит в реакции ФГА.

Известно, что ШО в БР имеет сродство к реакциям с различными реагентами, в частности, например, с гидроксиламином (ГА). Так как БР организован в ПМ в виде гексагональной кристаллической решётки, реакция его с ГА требует облучения светом [236] из-за того, что вот такая кристаллическая структура препятствует быстрому взаимодействию ШО и ГА. Предполагается, что энергии чисто химического сродства не хватает для успешного и быстрого взаимодействия реагентов и дополнительная энергия в виде облучения необходима. Согласно [92] схема реакции ФГА в суспензии ПМ следующая:

```
Н⁺ hv>500нм+NH₂OH
```

Рет-С=N-белок ------>Рет-С=N-белок → H₂N-белок + Рет-СH=N-OH (схема 3) Исход.форма, Депротонир. Апомембраны, Ретинальоксим, БР570 М412 полоса 280 нм полоса 365 нм

Схема 3 показывает, что под действием света и в присутствии ГА происходит, во-первых, обесцвечивание БР с образованием бактериоопсина (БО) (другими словами, апомембран (AM)), полоса поглощения 280 нм), во вторых захват ретиналя ГА-ом с образованием неисчезающей полосы ретинальоксима (PO, 365 нм), продукта взаимодействия между ретиналем и ГА. Предполагается, что PO уже не связан с ШО белка. Реакция ФГА в водной суспензии БР длится около нескольких часов. В противоположность этому ФГА в полимерных плёнках БР длится 3–6 минут при таких же условиях облучения [237], так как фотоцикл в полимерных плёнках, как уже ранее говорилось, существенно замедлен, и это сказывается на увеличении популяции **М** в ходе фотоцикла. Факт столь короткого времени ФГА реакции в полимерных плёнках по сравнению с водной суспензией БР чрезвычайно важен для возможного дальнейшего использования ГА-модифицированных полимерных плёнок на основе БР как материала для однократной необратимой записи оптической информации.

Изучение свойств ГА-модифицированных полимерных плёнок на основе БР показало, что эти плёнки отличаются от ГА-немодифицированных не только необратимостью записи, но и таким важным параметром как фоточувствительность. Для расчёта теоретической светочувствительности ГА-модифицированных полимерных плёнок на основе БР может быть использована упрощённая формула [238]:

$$H_{\Delta D} = \frac{\Delta D \cdot E}{\varphi \cdot \varepsilon \cdot K} \times 10^{2} (\exists \pi/cm^{2})$$
(3)

где Н_{ΔD} определяется как плотность мощности, необходимая для получения определённого изменения поглощения ΔD (1.0, 0.5, или 0.2 о.е.), Е – энергия кванта света, φ – квантовый выход перехода БР \rightarrow PO, ε – коэффициент молярной экстинкции дл PO, К – коэффициент усиления. Принимаем $E_{570} \sim 2 \text{ eV}$, $\varepsilon = 5,5 * 10^4$ [239], K = 1, так как усиления нет. Допустим $\varphi = 1$, поскольку это значение для перехода БР \rightarrow M варьирует между 0,4 – 0,6 [239].

Поскольку реакция ФГА всегда проводится из расчёта, что молярная концентрация ГА в смеси превышает таковую для БР не менее чем на два порядка, можно считать, что все молекулы БР вовлекаются в реакцию ФГА, вследствие чего эта реакция не может понизить общий выход фотоиндуцированного перехода **БР**—**М**. Подставляя эти значения в (3), получаем для $H_{\Delta D=0.5} = 3.6 * 10^{-3} \text{Дж/см}^2$, а для $H_{\Delta D=1} = 7.2 * 10^{-3} \text{Дж/см}^2$. Поскольку $H_{\Delta D}$ определяется как плотность мощности, необходимая для получения определённого изменения поглощения ΔD , чем больше величина $H_{\Delta D}$, тем ниже фоточувствительность образца плёнки на основе ГА-модифицированного БР. При сравнении теоретической и экспериментально полученной чувствительности таких плёнок (**таблица 13**) видно, что уровень экспериментально измеренной фоточувствительности плёнок ГА-модифицированного

БР значительно меньше расчётного значения даже для H_{ΔD=0,5}. Кроме этого необходимо отметить, что чувствительность этих плёнок существенно падает со временем, что может объясняться постепенной потерей влажности после приготовления образца [237]. Несомненно, эти данные существенно ограничивают область применения таких "необратимых" плёнок. Было очевидно, что необходимы альтернативные пути для возможного решения проблемы низкой чувствительности таких образцов.

2.4.6. Использование О-замещённых гидроксиламинов в плёнках Биохром

В 1982 году было показано, что использование в реакции ФГА О-замещённых гидроксиламинов (ОГА) вместо обычного ГА значительно изменяет величины констант скоростей реакции ФГА в суспензии БР [93]. По крайней мере, два из протестированных ОГА, р-нитробензил оксиамин ГА и О-пентафторбензил ГА, приводят к увеличению констант скорости реакции ФГА в десять раз большему, чем собственно ГА (таблица 3). Принимая во внимание эти результаты, для участия в реакции ФГА в плёнках Биохром наряду с собственно ГА были опробованы несколько ОГА: О-(4-нитробензил) гидроксиламин гидрохлорид (NBHA), О-(2,3,4,5,6-пентафторбензил) гидроксиламин гидрохлорид (FBHA), и О-(t-бутил) гидроксиламин гидрохлорид (ВНА) [240]. Однако это исследование не дало ожидаемых результатов – не было обнаружено сколько-нибудь значимых значений роста скоростей реакции ФГА (обесцвечивания БР) в полимерных плёнках на основе БР при сравнении О-ГА и ГА (рис. 17). Причина, по мнению авторов [240], по-видимому, заключается в том, что дегидратированный матрикс желатиновой плёнки может препятствовать свободной диффузии больших ароматических молекул FBHA и NBHA к месту взаимодействия с ШО ретиналя в БР, и в этом случае только очень небольшое количество молекул этих О-ГА будет участвовать в реакции ФГА. Это предположение явилось причиной того, что дальнейшие эксперименты проводились, используя среду менее дегидратированную, чем желатиновая полимерная плёнка, а именно желатиновый гель на основе ГА- и ОГА-модифицированного БР. Гель на основе БР, по мнению авторов, был бы более подходящим матриксом для этой цели, поскольку содержание воды в нём значительно выше, чем в плёнке [240, 241]. Действительно, необходимый результат был достигнут в NBHA-, FBHA-, и BHA- модифицированных гелях на основе БР, в которых водное окружение БР превышает таковое в плёнках на такой же основе [240]. Было показано, что, несмотря на большой размер молекул протестированных О-ГА, желатиновые БР-гели с этими О-ГА демонстрируют скорость обесцвечивания (скорость ФГА) в 3-4 раза выше, чем БР-гели с собственно ГА (рис. 18). Несомненно, что большее количество воды в гелях по сравнению с желатиновыми плёнками обеспечивает более лёгкий доступ к ШО ретиналя для молекул NBHA, FBHA и несмотря на их

большой, по сравнению с ГА, объём. Более того, гель на основе D96N БР демонстрирует скорость ФГА (скорость обесцвечивания БР) выше, чем WT БР. Именно гель с FBHA на основе D96N БР показывает лучшую фоточувствительность среди всех опробованных в исследовании сред [240, 241]. Этот гель может рассматриваться как возможный перспективный материал для постоянной записи оптической информации. Более того, использование БР в виде гелей, возможно, позволит избежать проблемы, о которой говорилось выше – постепенной потери влажности после приготовления образца. Запечатанный контейнер с гелем – это удобный способ сохранения необходимой влажности в образце.

2.4.7. Влияния ультразвуковой обработки на реакцию ФГА в суспензии ПМ и на процесс реконструкции АМ

Как уже говорилось выше, общепринятым методом приготовления аналогов БР является сначала обесцвечивание БР в реакции ФГА с целью получения БО (апомембран АМ) [92]. Затем БО подвергается реконструкции с синтезированными аналогами ретиналя для получения аналогов БР [242]. При проведении исследований водных суспензий аналогов БР необходимо совсем небольшое количество пигмента. В противоположность этому приготовление полимерных плёнок из аналогов БР требует много большее количество образца, которое необходимо подвергнуть реакции ФГА. Используемая стандартная процедура ФГА в водной суспензии БР [92] с большим количеством обесцвечиваемого образца (объём от 10-20 мл и концентрация $> 10^{-4}$ моля) приводит к массе проблем: значительному увеличению времени обесцвечивания БР и в результате низкому уровню последующей реконструкции полученных АМ. Увеличения мощности облучения и концентрации реагентов в ФГА не приводят к решению проблемы из-за ухудшения качества АМ. Некоторые соображения о причинах обнаруженной проблемы позволили предположить возможное положительное влияние предварительного ультразвукового воздействия на процесс обесцвечивания БР в реакции ФГА и изучить его.

Исследование проводилось при использовании как БР WT (штаммы ЕТ 1001 и 353 П) так и образцов, содержащих мутант D96N БР. Процесс подготовки образцов и их предварительной ультразвуковой обработки детально описан в [243]. Было показано, что скорость обесцвечивания образца предварительно озвученной порции ЕТ1001 почти на 30% выше, чем таковая для неозвученной порции этого образца. Процент вычислялся из сравнения амплитуды поглощения при 570 нм в контроле и в озвученном образце [243]. Такой же эксперимент для мутанта D96N БР показал разницу в скорости обесцвечивания в 38% для озвученного и неозвученного образцов [243]. Для БР WT штамма 353 П разница составила лишь 10% [243].

Затем был исследован процесс последующей реконструкции БО после обесцвечивания БР (как озвученных образцов, так и контроля) в ФГА-реак-

ции. Аликвоты БО каждого образца – ЕТ1001, 353П и D96N – были озвучены, и эффективность реконструкции в каждом была сравнена с таковой для аликвот неозвученных образцов. Разница в реконструкции в процентах была рассчитана из сравнения величин амплитуд спектров поглощения при 570 нм для реконструированных озвученных и неозвученных образцов. Для БР WT штамма ЕТ 1001 эта разница составила 33% [243]. Подобные результаты для БО из D96N и 353П составили 40% и 16% соответственно и рассчитаны были таким же образом, как и для ЕТ1001 [243].

Все эти результаты обсуждались в терминах так называемой «агглютинации» фрагментов ПМ в высококонцентрированной водной суспензии БР. Ультразвуковое воздействие, по-видимому, устраняет воздействие «агглютинации», разделяя слипшиеся фрагменты на более мелкие [241]. Это воздействие, возможно, приводит к тому, что связь CH_{15} =NH⁺-Lys216 становится более доступной для ГА и, таким образом, реакция ФГА в суспензии БР идёт с более высокой скоростью. **Рис. 19** иллюстрирует схему эффекта ультразвукового воздействия на ФГА-реакцию в водной суспензии РМ и последующую реконструкцию АМ (БО).

Что касается расхождения в процентах для различных штаммов БР, изучаемых в этом исследовании, объяснение может быть связано с различной их склонностью к агглютинации. Имеются неопубликованные наблюдения, касающиеся более низкой скорости прохождения реакции ФГА в ПМ штамма 353П, чем таковая для других штаммов, таких, как R1M1, S9 и др.

Такое наблюдение может быть связано с более высокой структурной жёсткостью РМ из штамма 353П по сравнению с другими штаммами. Косвенные доказательства этому есть и в литературе [220, 243].

Таким образом, предварительная ультразвуковая обработка может служить простым методом ускорения реакции ФГА в высококонцентрированной водной суспензии РМ и повышения эффективности процесса реконструкции. Однако эту методику можно использовать и в других целях. Например, если нужно приготовить плёнку или гель с высокой оптической плотностью на основе ГА-модифицированного БР для применения в качестве среды для постоянного хранения оптической информации, необходимо обязательно использовать предварительную ультразвуковую обработку образца в ходе его приготовления. Это позволит увеличить скорость ФГА-реакции в образце и тем самым повысить фоточувствительность среды.

№ п/п	λ _a нм	Ρ _{λa} мBт/cm ²	λ ₃ ΗΜ	D _{563_{ucx}}	ДD _{макс}	H _{ΔD563=0,2} Дж/см ²	Н _{ΔD563=0,5} Дж/см ²	К _{макс}	R мм ⁻¹
1	546	16,5	563	0,82	0,81	0,035	0,056	1	>250
2	578	43	563	0,82	0,75	0,03	0,098	0,92	>250

Таблица 13. Фототехнические параметры плёнок Биохром для постоянной записи

где: $\lambda_a - длина волны активирующего излучения; <math>P_{\lambda_a}$ - плотность мощности активирующего излучения; λ_3 - длина волны зондирующего излучения, с помощью которого проводилось измерение пропускания пленки непосредственно в процессе активации; t - время экспозиции. Энергетическая светочувствительность к излучению определялась как плотность энергии облучения ($H_{\lambda_a} = P_{\lambda_a} \times t$), необходимая для получения заданного изменения оптической плотности ΔD_{λ_3} на длине волны λ_3 , на которой производилось проводилось измерение пропускания T_{λ_3} , D = lg1/ T_{λ_3} . Контраст K определялся как соотношение K = $\Delta D_{макс \lambda_3}/D_{\lambda_{ncx}}$. Разрешающая способность R определялась путем контактного копирования на образец штриховой миры (r ~ 250 мм⁻¹) [217].



Рисунок 17. Схема реакции ФГА в полимерных БР-плёнках при использовании ГА и О-замещённых ГА: NBHA and FBHA [241]. 1 – перемешивание на магнитной мешалке смеси суспензии БР +полимер + ГА (или О-замещённый ГА); 2 – плёнка БР + ГА; 2'плёнка БР + NBHA; 2'' – плёнка БР + FBHA; 3 – плёнка 2 после экспозиции светом (30% обесцвечивания); 3' – плёнка 2' после экспозиции светом (9% обесцвечивания); 3'' – плёнка 2'' после экспозиции светом (9% обесцвечивания). Процесс приготовления плёнок, условия эксперимента и метод расчётов полностью приведён в [240]



Рисунок 18. Схема реакции ФГА в полимерных БР-гелях при использовании ГА и *О*-замещённых ГА: NBHA and FBHA [241]. 1 – перемешивание на магнитной мешалке смеси суспензии БР +полимер + ГА (или *О*-замещённый ГА); 2 – гель БР + ГА; 2' – гель БР + NBHA; 2'' – гель БР + FBHA; 3 – гель 2 после экспозиции светом (5% обесцвечивания); 3' – гель 2' после экспозиции светом (40% обесцвечивания); 3'' – гель 2'' после экспозиции светом (55% обесцвечивания). Процесс приготовления плёнок, условия эксперимента и метод расчётов полностью приведён в [240].



Рисунок 19. Схема эффекта предварительного УЗИ на обесцвечивание ПМ и реконструкцию АМ. Эти результаты обсуждаются в рамках так называемой «агглютинации» фрагментов в высококонцентрированных водных суспензиях ПМ. Обработка УЗИ, по-видимому, разбивает слипшиеся фрагменты ПМ, тем самым снимая фактор «агглютинации» и разделяя ПМ на более мелкие фрагменты (на рисунке стадии 1-2-3). Стадия 3 – процесс очистки АМ от избытка NH2OH. Та же ситуация происходит при реконструкции полученных АМ с ретиналем (на рисунке стадии 4-5-6, стадия 5 – добавление ретиналя в АМ). Такое УЗИ воздействие приводит, по-видимому, к тому факту, что связь CH₁₅=NH⁺-Lys216 становится более доступной NH₂OH и, таким образом, реакция ФГА проходит с более высокой скоростью [243].



Рисунок 20. Схема, иллюстрирующая интерпретацию фотоселекции молекул БР в плёнке под действием линейно- поляризованного света [161]. Эта плёнка (среда) изотропна только в исходном состоянии БР (а). При поглощении линейно- поляризованного света те молекулы, чья собственная длинная ось направлена близко к направлению вектора поляризации света, поглощают свет, при этом в них запускается фотоцикл и образуется фотопродукт М, в то время как молекулы с ориентацией собственной оси скорее перпендикулярной вектору поляризации остаются в исходной форме (b). Когда же интенсивность возбуждающего света близка к насыщению (I_{ехс}→∞), все молекулы переходят в исходную форму и образец снова становится изотропным (с).



Рисунок 21. Принципиальная схема экспериментальной установки для наведения и наблюдения фотоиндуцированной анизотропии: БР – плёнка Биохром, І_{ехс} – возбуждающий лазерный луч, І_{еst} – тестирующий луч, П – поляризатор, А – анализатор, ФД – фотодиод. Анизотропия индуцируется линейно- поляризованным светом лазеров (He-Ne, λ = 633 нм, Cu-, λ = 510 нм, Ar-, λ = 488 нм и He-Cd-, λ = 442 нм). Плёнка Биохром расположена между скрещенными поляризатором и анализатором, ось ОО' располагается под углом 45° к оси П.



Рисунок 22. Кривая 1 – зависимость пропускания системы поляризатор-БР-анализатор (Т_{П-БР-А}) от интенсивности линейно поляризованного излучения Не-Сd лазера при постоянной интенсивности (500 мвт/см²) эллиптически поляризованного излучения Не-Ne лазера. В пленке при таком облучении наводится анизотропия М-типа. Кривая 2 – зависимость пропускания ТП-БР-А от интенсивности линейно поляризованного излучения только Не-Ne лазера. При таком облучении в пленке наводится анизотропия В-типа. Кривая 3 – зависимость ТП-БР-А от интенсивности линейно поляризованного излучения Не-Сd лазера при постоянной интенсивности (500 мвт/см²) линейно поляризованного излучения не-Cd лазера. При таком облучении в пленке наводится анизотропия В-типа.



Рисунок 23. Схема экспериментальной установки для исследования фотоанизотропии В-типа, М-типа и В-М-типа в химически модифицированных полимерных плёнках на основе БР WT и мутантов D96N и D96E. Образец помещён между скрещенными поляризатором П и анализатором А. 3 – зеркала, ФЗ – фотозатвор, PD – фотодиоды. С высокой точностью фотоанизотропный отклик может быть определён при измерении пропускания Т_{П-БР-А} системы П-БР-А, используя фотодиод PD1 [244]



Рисунок 24. Фотоанизотропный отклик Т % (Т_{п-БР-А} – пропускание системы поляризатор-БР-анализатор) для пленок БР WT, D96N и D96E без химических добавок (–■– БР WT, –▲– БР D96N, –●– БР D85N) и с химическими добавками ArcSO₄, TMEDA и DAP (–□– БР WT, –Δ– БР D96N, –○– БР D85N) в зависимости от интенсивности возбуждающего луча He-Cd лазера, I_{He-Ne} = 35 мВт/см. В плёнках наводятся М-тип и В-М-тип анизотропии [244]



Рисунок 25. Фотоанизотропный отклик Т% (ТП-БР-А – пропускание системы поляризатор-БР-анализатор) для плёнок БР WT, D96N и D96E без химических добавок (––– БР WT, – ▲– БР D96N, –●– БР D85N) и с химическими добавками ArcSO₄, TMEDA и DAP (––– БР WT, –Δ– БР D96N, –0– БР D85N) в зависимости от интенсивности возбуждающего луча He-Ne лазера. В плёнках наводится В-тип анизотропии [244]

Рисунок 26. Установка для голографической записи на плёнках 14-F БР и 14-F D96N. Использован Не-Ne лазер, λ=633 нм, для динамической голографической записи в условиях самодифракции. В этих условиях лучи I₁ и I₂ равной интенсивности 170 мВт/см², получаемые расщеплением луча Не-Ne лазера, записывают голографическую решетку и одновременно дифрагируют на ней [245]

Рисунок 27. Кинетические кривые голографической записи в условиях самодифракции 1-го порядка для полимерных плёнок 14-F WT (а) и 14-F D96N (b) без (кривые 1) и с различной длительностью предварительного облучения синим светом (He-Cd лазер, λ = 442 нм, I, = 70 mW/cm²): 30 сек (кривые 2) и 60 сек (кривые 3) [245]

времени после преоблучения и до записи голографической решетки Не-Ne лазером [234]

2.4.8. Фотоанизотропия и способность к голографической записи в полимерных плёнках Биохром на основе БР

В вышеприведённом тексте полимерные плёнки на основе БР и его производных в основном рассматривались как оптически изотропная среда, возбуждаемая немодулированным световым облучением. На самом деле плёнка представляют собой домен (кластер) оптически хаотично ориентированных жёстко связанных между собой из-за кристаллической структуры молекул БР, каждая из которых анизотропно поглощает свет [161]. И изотропна эта плёнка (среда) только в исходном состоянии БР (рис. 20, а). При поглощении линейно-поляризованного света те молекулы, чья собственная длинная ось направлена близко к направлению вектора поляризации света, поглощают свет, при этом в них запускается фотоцикл и образуется фотопродукт М, в то время как молекулы с ориентацией собственной оси скорее перпендикулярной вектору поляризации остаются в исходной форме (рис.20, b). Когда же интенсивность возбуждающего света близка к насыщению (I_{ехс-эх}), все молекулы переходят в исходную форму и образец снова становится изотропным (рис. 20, с). Это механизм наведения анизотропии в полимерных плёнках Биохром [161]. Принципиальная схема экспериментальной установки для наведения и наблюдения фотоиндуцированной анизотропии представлена на рис. 21.

Было показано, что анизотропия может наводиться двумя способами [161]. Первый основан на анизотропных свойствах молекул в исходной форме БР (назовём её В-формой), когда анизотропия индуцирована линейно-поляризованным светом He-Ne лазера (633 нм), и анизотропия здесь обусловлена поляризационными свойствами перехода БР570→M412. Это анизотропия названа анизотропией В-типа. Второй способ использует поляризационные свойства перехода М412→БР570. Это наведение анизотропии при одновременном использовании облучения двух лазеров – эллиптически-поляризованного излучения He-Ne лазера, которое изотропно переводит молекулы из исходной формы в М-форму, и линейно-поляризованного излучения Не-Сd лазера (442 нм), которое производит анизотропную фотоселекцию молекул уже в интермедиате М. Это анизотропия М-типа. Кроме того, было предложено одновременное использование прямого БР570→M412 и обратного M412→БР570 переходов. В этом случае вместо эллиптически-поляризованного использовалось линейно-поляризованное излучение He-Ne лазера, ортогональное к поляризации He-Cd лазера. Данный тип анизотропии смешанный и назван анизотропией В-М-типа. Рис. 22 иллюстрирует фотоанизотропный отклик в этих трёх случаях. Из рисунка видно, что максимальный фотоанизотропный отклик при смешанном В-М-типе приблизительно в 2 раза выше, чем при В-типе и в три раза выше, чем при М-типе анизотропии [161]. Эти различия рассматриваются в рамках модели обратимой анизотропной фотоселекции молекул БР. Расчёты, использующие эту модель, подтверждают

эти экспериментально полученные соотношения между разными типами анизотропии [161].

Далее была исследована фотоиндуцированная анизотропия В-типа, М-типа и В-М типа в плёнках с генетическими мутантами D96N и D96E в полимерной желатиновой матрице [244]. Также были исследованы химически модифицированные плёнки БР дикого типа и этих же мутантов, которые содержали добавки ТМЭДА, ДАП или ТЭА. Схема экспериментальной установки для исследования фотоанизотропии В-типа, М-типа и В-М-типа в химически модифицированных полимерных плёнках на основе БР WT и мутантов D96N и D96E показана на рис. 23. Полученные результаты показали, что химические добавки увеличивают фотоанизотропный отклик в 6 раз для М-типа и В-М-типа анизотропии (рис. 24) и в 4 раза для В-типа анизотропии (рис. 25), тогда как генетические мутации – только в 1,5 раза для всех вышеперечисленных типов анизотропии. Было установлено, что повышение фотоанизотропного отклика, как под влиянием химической, так и генетической модификаций полимерных плёнок БР связано с увеличением числа молекул БР, которые принимают участие в фотоцикле. Изложенные результаты позволяют предположить, что фотоиндуцированная анизотропия В-М-типа, наблюдаемая в химически модифицированных плёнках Биохром, может стать достаточно перспективным способом особенно для высокоскоростной обработки оптических изображений [244].

Для анализа возможности голографической записи при использовании плёнок Биохром необходимо определить дифракционную эффективность материала для такой записи. Впервые кинетика дифракционной эффективности плёнок Биохром была изучена в [157]. Для исследования были выбраны плёнки с нативным БР и с модифицированным в 4-том положении иононового кольца ретиналя аналогом БР. В эксперименте использовалась установка с оптической схемой, позволяющей осуществить запись лазерным излучением объёмной дифракционной решетки. На исследуемый образец направлялись симметрично под углом 40° два когерентных и одинаковых по мощности луча 2-й гармоники (532 нм) импульсного лазера на ИАГ (иттрий-алюминиемом гранате) с неодимом, создававших в образце интерференционную решетку. Излучение лазера состояло из двух импульсов с регулируемым временным интервалом между ними. Первый импульс служил для записи, второй – для измерения дифракции. Меняя мощность лазерного излучения можно было измерять зависимость дифракционной эффективности η от плотности энергии (экспозиции) записывающего луча. Полученные результаты позволили сделать вывод, что в случае немодифицированного БР в плёнке Биохром можно получить дифракционную решетку, записанную изменением коэффициента преломления. В случае же аналога БР эксперимент с дифракцией может быть объяснен изменением коэффициента поглощения, а эффекты, связанные с изменением коэффициента преломления, по крайней мере, по порядку величины не превосходят

амплитудные [157]. Результаты этой работы дают основание предполагать возможное использование полимерных плёнок на основе БР для голографической записи информации.

Была изучена возможность динамической голографической записи на желатиновых плёнках 14-F-БР, приготовленных как на основе нативного белка БР WT, так и мутанта D96N [245]. Как известно, введение тяжёлых атомов, таких, как F (фтор) или CF₃ в 14 и 13 положениях полиеновой цепи приводит к делокализации электронного облака и, соответственно, ведёт к красному сдвигу исходной полосы поглощения БР. Выше уже было упомянуто, что водные суспензии 14-F WT и 14-F D96N существеннейшим образом отличаются друг от друга по своим фотоиндуцированным превращениям [115]. Анализ этих данных, а также pH-зависимости кинетических констант, позволил предположить существование двух параллельных фотопроцессов, одновременно протекающих в этих двух типах образцов – фотоциклического превращения исходного состояния и фотопревращения красносдвинутого компонента с максимумом 660 нм. Однако при иммобилизации в полимер все отличия в фотоиндуцированном поведении обоих пигментов исчезали, так же, как и не регистрировался красносдвинутый компонент 660 нм [231]. Сравнительный анализ всех полученных данных показал, что причиной отсутствия образования красного фотопродукта в плёнках явились кинетические различия двух параллельно идущих фотопроцессов во фторных аналогах в плёнках. Известно, что кинетические характеристики обусловлены уровнем гидратации плёночных образцов. Фотопревращения в них были исследованы в зависимости от относительной влажности, при которой выдерживались плёночные образцы. Вывод: желатиновые плёнки на основе 14-F WT в диапазоне влажности 84%–92% демонстрируют искомые свойства – а именно – образование красного фотопродукта и тем самым имеют определённое технологичное преимущество перед такими же плёнками на основе 14-F D96N [232]. Поэтому полимерные плёнки на основе 14-F WT и 14-F D96N и стали объектом следующего исследования по изучению возможности динамической голографической записи в них.

Впервые была проведена голографическая запись в плёнках 14-F WT и 14-F D96N [245]. Эксперимент проводился с использованием He-Ne лазера низкой интенсивности ($I_{1,2} = 170 \text{ MBT/cm}^2$). Схема экспериментальной установки приведена на **рис. 26**. Было показано, что предварительное облучение плёнок синим светом (He-Cd, I = 70 MBt/cm²) значительно увеличивает дифракционную эффективность – в 3 раза при 1 мин засветки (**рис. 27**). Выясняется возможная природа синего фотопродукта, который является мишенью этого преоблучения. С этой целью проведены эксперименты при разной величине задержки голографической записи после преоблучения полимерных плёнок 14-F WT и 14-F D96N (**рис. 28**). Показано, что, чем больше величина этой задержки, тем ниже зарегистрированная дифракционная эффективность плёнок, что говорит о возможном влиянии преоблучения на уровень населённости исходного состояния фторного аналога БР в плёнках [245]. Результат такого последовательного применения синего и красного лазерных лучей свидетельствует о том, что желатиновые плёнки 14-F БР могут быть успешно использованы в устройствах голографической записи и имеют преимущество в этом перед плёнками 14-F D96N.

Было показано, что полимерные плёнки Биохром пригодны не только для импульсной голографической записи, как указывалось выше [157], но и для непрерывной записи по двух- и четырёхпучковым голографическим схемам [246, 247]. Для такого рода плёнок возможна полихроматическая голографическая запись [248], что обусловливается их высокой спектральной и энергетической чувствительностью.

Нелинейность поглощения сред на основе БР, а именно полимерных плёнок Биохром, позволяет использовать их для усиления контраста маломощного излучения [166]. Основные особенности этих образцов состояли в их чрезвычайно высокой оптической плотности (около 2,0 в максимуме поглощения БР570), что обеспечивало низкое пропускание в красной области спектра, и в сравнительно большом времени темновой релаксации М→БР570 (около 1с), так что просветление наступало при низкой интенсивности света (ниже области вредных тепловых эффектов). При контрасте на входе, равном 7, достигается увеличение контраста на выходе в 100 раз, а при дополнительной подсветке синим светом – до 200 раз [166].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из представленного выше обзора и анализа литературы о свойствах водной суспензии БР и его производных, светочувствительных систем на их основе и возможностей их применения следует, что фоточувствительные регистрирующие среды на основе БР и его модификаций обладают рядом уникальных свойств, прежде всего высокой цикличностью обратимых фотопревращений, которые могут быть использованы в устройствах регистрации, обработки и хранения оптической информации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

 The Current Trends in Optics and Photonics Cheng-Chung Lee, Editor,
 Springer Science and Business Media 2015, Dordrecht Geidelberg New York London, p.3, 176.

Современное состояние разработки светочувствительных сред для голографии (обзор).
 В.А. Барачевский.
 Оптика и спектроскопия, 2018, 124, 3, 371-399

3. Thin films and assemblies of photosensitive membrane proteins and colloidal nanocrystals for engineering of hybrid materials with advanced properties. Zaitsev S.Y., Solovyeva D.O., Nabiev I.V. Adv Colloid Interface Sci., 2012, 183–184, 14-29.

4. Photonic Potential of Haloarchaeal Pigment Bacteriorhodopsin for Future Electronics: A Review Ravi Ashwini , S. Vijayanand , J. Hemapriya Curr Microbiol., 2017, 74, 8, 996-1002

5. Deposition of bacteriorhodopsin protein in a purple membrane form on nitrocellulose membranes for enhanced photoelectric response. Kim Y.J., Neuzil P., Nam C.H., Engelhard M. Sensors (Basel), 2012, 13, 1, 455-462.

6. Rhodopsins at a glance Takashi Nagata , Keiichi Inoue J Cell Sci. 2021, 134, 22, jcs 258989

7. Rhodopsin-like protein from the purple membrane of Halobacterium halobium. Oesterhelt D., Stoeckenius W. Nat New Biol., 1971, 233, 39, 149-152.

8. Functions of a new photoreceptor membrane D. Oesterhelt, W. Stoeckenius Proc Natl Acad Sci USA, 1973, 70, 10, 2853-2857.

9. Two pumps, one principle: light-driven ion transport in halobacteria. Oesterhelt D., Tittor J. Trends Biochem Sci., 1989, 14, 2, 57-61 10. A distinct abundant group of microbial rhodopsins discovered using functional metagenomics.

Pushkarev A., Inoue K., Larom S., Flores-Uribe J., Singh M., Konno M., Tomida S., Ito S., Nakamura R., Tsunoda S.P., Philosof A., Sharon I., Yutin N., Koonin E.V., Kandori H., Béjà O. Nature, 2018, 558, 7711, 595-599.

11. Predicted bacteriorhodopsin from Exiguobacterium sibiricum is a functional proton pump

L.E. Petrovskaya, E.P. Lukashev, V.V. Chupin, S.V. Sychev, E.N. Lyukmanova, E.A. Kryukova, R.H. Ziganshin, E.V. Spirina, E.M. Rivkina, R.A. Khatypov, L.G. Erokhina, D.A. Gilichinsky, V.A. Shuvalov, M.P. Kirpichnikov FEBS Letters, 2010, 584, 4193-4196

12. Archaea Biotechnology

Kevin Pfeifer, İpek Ergal, Martin Koller, Mirko Basen, Bernhard Schuster, Simon K-M R Rittmann

Biotechnol Adv., 2021, 47, 107668.

Eubacterial rhodopsins – unique photosensors and diverse ion pumps
 L.S. Brown
 Biochim. Biophys. Acta Bioenerg., 2014, 1837, 553-561

14. Xanthorhodopsin: A Proton Pump with a Light-Harvesting Carotenoid Antenna

Sergei P. Balashov, Eleonora S. Imasheva, Vladimir A. Boichenko, Josefa Antón3, Jennifer M. Wang1, Janos K. Lanyi Science, 2005, 309, 5743, 2061-2064

15. Purification and biochemical characterization of photo-active membrane protein bacteriorhodopsin from Haloarcula marismortui, an extreme halophile from the Dead Sea

Diya Alsafadi 1, Fawwaz I Khalili 2, Hassan Juwhari 3, Bashar Lahlouh]. Int J Biol Macromol 2018, 118(Pt B):1942-1947.

16. Discovery of bacteriorhodopsins in Haloarchaeal species isolated from Indian solar salterns: deciphering the role of the N-terminal residues in protein folding and functional expression

Dipesh Kumar Verma , Ishita Baral, Atul Kumar, Senthil E Prasad,, Krishan Gopal Thakur

Microb Biotechnol. 2019, 12, 3, 434-446.

17.Microbial and animal rhodopsins: structures, functions, and molecular mechanisms O.P. Ernst, D.T. Lodowski, M. Elstner, P. Hegemann, L.S. Brown, H.Kandori Chem. Rev., 2014, 114, 126-163

 Fungal rhodopsins and opsin-related proteins: eukaryotic homologues of bacteriorhodopsin with unknown functions.
 Leonid S. Brown
 Photochem Photobiol Sci., 2004, 3, 6, 555-65.

19. Structurally Distinct Cation Channelrhodopsins from Cryptophyte Algae. Govorunova E.G, Sineshchekov O.A, Spudich J.L. Biophys J., 2016, 110, 11, 2302-2304.

20. Bacteriorhodopsin-like proteins of eubacteria and fungi: the extent of conservation of the haloarchaeal proton-pumping mechanism. Brown L.S, Jung K.H. Photochem Photobiol Sci., 5, 6, 538-546

21. Microbial Halorhodopsins: Light-Driven Chloride Pumps. Engelhard C., Chizhov I., Siebert F., Engelhard M. Chem Rev., 2018, 118, 21, 10629-10645.

22. Cation binding to halorhodopsin Sansa Dutta , Lev Weiner , Mordechai Sheves Biochemistry, 2015, 54, 20, 3164-72.

23. Sensory rhodopsins of halobacteriaJ. L. Spudich , R. A. BogomolniAnnu Rev Biophys Biophys Chem., 1988, 17, 193-215.

24. Development of the signal in sensory rhodopsin and its transfer to the cognate transducer. Moukhametzianov R., Klare J.P., Efremov R., Baeken C., Göppner A., Labahn J., Engelhard M., Büldt G., Gordeliy V.I. Nature, 2006, 440, 7080, 115-119.

25. Of ion pumps, sensors and channels – perspectives on microbial rhodopsins between science and history.Grote M., Engelhard M., Hegemann P.Biochim Biophys Acta, 2014, 1837, 5, 533-45.

26. The purple membrane from Halobacterium halobium. Henderson R. Annu Rev Biophys Bioeng. 1977, 6, 87-109.

27. The structure of bacteriorhodopsin and its relevance to the visual opsins and other seven-helix G-protein coupled receptorsR. Henderson , G.F. SchertlerPhilos Trans R Soc Lond B Biol Sci., 1990, 326, 1236, 379-389

28. Structure of bacteriorhodopsin at 1.55 A resolution. Luecke H., Schobert B., Richter H.T., Cartailler J.P., Lanyi J.K. J Mol Biol., 1999, 29, 4, 899-911.

29. The structural basis of the functioning of bacteriorhodopsin: an overview. Ovchinnikov Y.A., Abdulaev N.G., Feigina M.Y., Kiselev A.V., Lobanov N.A. FEBS Lett., 1979, 100, 2, 219-24.

30. Amino acid sequence of bacteriorhodopsin
H.G. Khorana, G.E. Gerber, W.C. Herlihy, C.P. Gray, R.J. Anderegg, K.Nihei,
K. Biemann
Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76, 10, 5046-5050.

31. Images of purple membrane at 2.8 A resolution obtained by cryo-electron microscopy

J.M. Baldwin , R. Henderson, E. Beckman, F. Zemlin J Mol Biol., 1988, 202, 3, 585-591

32. Model for the structure of bacteriorhodopsin based on high-resolution electron cryo-microscopy.

Henderson R., Baldwin J.M., Ceska T.A., Zemlin F., Beckmann E., Downing K.H.

J Mol Biol., 1990, 213, 4, 899-929.

33. A natural CD label to probe the structure of the purple membrane from Halobacterium halobium by means of exciton coupling effects. Heyn M.P., Bauer P.J., Dencher N.A.

Biochem Biophys Res Commun. 1975, 67, 3, 897-903.

34. Role of trimer-trimer interaction of bacteriorhodopsin studied by optical spectroscopy and high-speed atomic force microscopy. Yamashita H., Inoue K., Shibata M., Uchihashi T., Sasaki J., Kandori H., Ando T.J. Struct Biol. 2013,184, 1, 2-11.

35. Probing the ultrafast charge translocation of photoexcited retinal in bacteriorhodopsin.

Schenkl S., van Mourik F., van der Zwan G., Haacke S., Chergui M.. Science, 2005, 309, 5736, 917-920.

36. Calculating absorption shifts for retinal proteins: computational challenges. Wanko M., Hoffmann M., Strodel P., Koslowski A., Thiel W., Neese F., Frauenheim T., Elstner M.

J Phys Chem B., 2005, 109, 8, 3606-3015.

37. Photochemistry of a retinal protonated schiff-base analogue mimicking the opsin shift of bacteriorhodopsin.Bismuth O., Friedman N., Sheves M., Ruhman S.J Phys Chem B. 2007, 111, 9, 2327-2334.

38. Bacteriorhodopsin and the purple membrane of halobacteriaW. Stoeckenius, R. H. Lozier, R. A BogomolniBiochim Biophys Acta, 1979, 505, 3-4, 215-278.

39. Аналоги ретиналя: синтез и взаимодействие с бактериородопсином Мицнер Б.И., Ходонов А.А., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П. Биоорганическая химия, 1986, 12, 1, 5.

40. Studies of rhodopsin and bacteriorhodopsin using modified retinals. Crouch R.K. Photochem Photobiol. 1986, 44, 6, 803-807.

41. Methoxyretinals in bacteriorhodopsin. Absorption maxima, cis-trans isomerization and retinal protein interaction. Gärtner W., Oesterhelt D. Eur J Biochem. 1988, 176, 3, 641-648.

42. Oriented purple-membrane films as a probe for studies of the mechanism of bacteriorhodopsin functioning. I. The vectorial character of the external electricfield effect on the dark state and the photocycle of bacteriorhodopsin A.Kononenko, E.Lukashev, A.Maximychev, S.Chamorovsky, A.Rubin, S.Timashev, L.Chekulaeva Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 1986, 850, 1, 162-169.

43. Binding of calcium ions to bacteriorhodopsin. Váró G., Brown L.S., Needleman R., Lanyi J.K. Biophys J., 1999, 76, 6, 3219-3226. 44. Light adaptation of bacteriorhodopsin in the presence of valinomycin and potassium. pH-dependence.

Massotte D., Boucher F., Aghion

J.Photosynth Res., 1988, 18, 3, 307-315.

45. Model for proton transport coupled to protein conformational change: application to proton pumping in the bacteriorhodopsin photocycle. Ferreira A.M., Bashford D. J Am Chem Soc., 2006, 128, 51, 16778-16790.

46. Proton transfers in the bacteriorhodopsin photocycle. Lanyi J.K. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757, 8, 1012-1018.

47. Potassium uniport and ATP synthesis in Halobacterium halobium. Wagner G., Hartmann R., Oesterhelt D. Eur J Biochem. 1978, 89, 1, 169-179.

48. Model Construction and Analysis of Respiration in Halobacterium salinarum. Talaue C.O., del Rosario R.C., Pfeiffer F., Mendoza E.R., Oesterhelt D. PLoS One. 2016, 11, 3, e0151839.

49. Are C14-C15 single bond isomerizations of the retinal chromophore involved in the proton-pumping mechanism of bacteriorhodopsin? Smith S.O., Hornung I., van der Steen R., Pardoen J.A., Braiman M.S., Lugtenburg J., Mathies R.A. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83, 4, 967-971.

50. Light-driven proton translocations in Halobacterium halobium. Bogomolni R.A., Baker R.A., Lozier R.H., Stoeckenius W. Biochim Biophys Acta, 1976, 440, 1, 68-88.

51. Resonant optical rectification in bacteriorhodopsin.
Groma G.I., Colonna A., Lambry J.C., Petrich J.W., Váró G., Joffre M., Vos M.H., Martin J.L.
Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101, 21, 7971-7975.

52. Bacteriorhodopsin: Structural Insights Revealed Using X-Ray Lasers and Synchrotron Radiation.

Wickstrand C., Nogly P., Nango E., Iwata S., Standfuss J., Neutze R. Annu Rev Biochem., 2019, 88, 59-83

53. Bacteriorhodopsin. Lanyi J.K. Annu Rev Physiol., 2004, 66, 665-88.

54. Interpretation of the spatial charge displacements in bacteriorhodopsin in terms of structural changes during the photocycle.

Dér A., Oroszi L., Kulcsár A., Zimányi L., Tóth-Boconádi R., Keszthelyi L., Stoeckenius W., Ormos G.

Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96, 6, 2776-2781.

55. Light- and dark-adapted bacteriorhodopsin, a time-resolved neutron diffraction study.

Dencher N.A., Papadopoulos G., Dresselhaus D., Büldt G. Biochim Biophys Acta, 1990, 1026, 1, 51-56

56. Фотохимические превращения бактериородопсина.

Балашов С.П., Литвин Ф.Ф.

Москва, Издательство Московского университета, под ред. Красновского А.А., 1985, 167.

57.Conformation and dynamics of [3-13C]Ala- labeled bacteriorhodopsin and bacterioopsin, induced by interaction with retinal and its analogs, as studied by 13C nuclear magnetic resonance.

Tuzi S., Yamaguchi S., Naito A., Needleman R., Lanyi J.K., Saitô H. Biochemistry, 1996, 35, 23, 7520-7527

58. Structure and protein environment of the retinal chromophore in light- and dark-adapted bacteriorhodopsin studied by solid-state NMR.

Smith S.O., de Groot H.J., Gebhard R., Courtin J.M., Lugtenburg J., Herzfeld J., Griffin R.G.

Biochemistry, 1989, 28, 22, 8897-8904.

59. Understanding structure and function in the light-driven proton pump bacteriorhodopsin.

Lanyi J.K.

J Struct Biol., 1998, 124, 2-3, 164-178.

60. Photocycles of bacteriorhodopsin in light- and dark-adapted purple membrane studied by time-resolved absorption spectroscopy. Hofrichter J., Henry E.R., Lozier R.H.

Biophys J. 1989 Oct; 56(4):693-706.

61. Photonic and optoelectronic applications of bacteriorhodopsin.

Stuart, J.A., D.L.Marcy, R.R.Birge

In: Bioelectronic applications of photochromic pigments (Edited by Der A., Keszthelyi L.) pp. 16–29, IOS Press, Amsterdam, 2001.

62. Nature of the primary photochemical events in rhodopsin and bacteriorhodopsin.

Birge R.R. Biochim Biophys Acta, 1990, 1016, 3, 293-327.

63. Coherent control of retinal isomerization in bacteriorhodopsin. Prokhorenko VI, Nagy AM, Waschuk SA, Brown LS, Birge RR, Miller RJ. Science, 2006, 313, 5791, 1257-1261.

64. Trapping and spectroscopic identification of the photointermediates of bacteriorhodopsin at low temperatures. Balashov S.P., Ebrey T.G. Photochem Photobiol., 2001, 73, 5, 453-462.

65. Mechanism of proton transport in bacteriorhodopsin from crystallographic structures of the K, L, M1, M2, and M2' intermediates of the photocycle. Lanyi J.K, Schobert B. J Mol Biol., 2003, 328, 2, 439-450.

66. On the ratio of the proton and photochemical cycles in bacteriorhodopsin. Kuschmitz D., Hess B. Biochemistry, 1981, 20, 21, 5950-5957.

67. Bacteriorhodopsin's M412 intermediate contains a 13-cis, 14-s-trans, 15-antiretinal Schiff base chromophore.

Ames J.B., Fodor S.P., Gebhard R., Raap J., van den Berg E.M., Lugtenburg J., Mathies R.A.

Biochemistry, 1989, 28, 9, 3681-3687.

68. Hydration effects on cis-trans isomerization of bacteriorhodopsin R. Korenstein, B. Hess FEBS Lett., 1977, 82, 1, 7-11.

69. Time-resolved titrations of ASP-85 in bacteriorhodopsin: the multicomponent kinetic mechanism.

Friedman N., Rousso I., Sheves M., Fu X., Bressler S., Druckmann S., Ottolenghi M. Biochemistry, 1997, 36, 38,11369-11380.

70. How Many M Forms are there in the Bacteriorhodopsin Photocycle?Groma G.I., Dancshazy Z.Biophys J., 1986, 50, 2, 357-366

71. On the heterogeneity of the M population in the photocycle of bacteriorhodopsin. Friedman N., Gat Y., Sheves M., Ottolenghi M. Biochemistry, 1994, 33, 49, 14758-14767.

72. M-decay in the bacteriorhodopsin photocycle: effect of cooperativity and pH. Komrakov A.Y., Kaulen A.D. Biophys Chem., 1995, 56, 1-2, 113-119.

73. Difference spectra of the later intermediates of the bacteriorhodopsin photocycleGovindjee R., Dancshazy Z., Ebrey T.G.SPIE Biomol. Spectrosc., 1989, 105, 126-136.

74. Множественность форм релаксирующих молекул бактериородопсина Шкроб А.М., Родионов А.В. Биоорганическая химия, 1978, 4, 500-513.

 Новый интермедиат фотоцикла бактериородопсина, ответственный за поглощение протонов из среды.
 Каулен А.Д., Зорина В.В.
 Биологические мембраны 1987, 4, 8, 831-836.

76. Aspartic acid-96 is the internal proton donor in the reprotonation of the Schiff base of bacteriorhodopsin

H. Otto, T. Marti, M. Holz, T. Mogi, M. Lindau, H. G. Khorana, M. P. Heyn Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86, 23, 9228-9232.

77. Coupling of the reisomerization of the retinal, proton uptake, and reprotonation of Asp-96 in the N photointermediate of bacteriorhodopsin. Dioumaev A.K., Brown L.S., Needleman R., Lanyi J.K. Biochemistry, 2001, 40, 38,11308-11317.

78. The N intermediate of bacteriorhodopsin at low temperatures: stabilization and photoconversion.

Balashov S.P., Imasheva E.S., Litvin F.F., Lozier R.H. FEBS Lett. 1990 Oct 1;271(1-2):93-6.
79. Vibrational spectroscopy of bacteriorhodopsin mutants: light-driven proton transport involves protonation changes of aspartic acid residues 85, 96, and 212. Braiman M.S., Mogi T., Marti T., Stern L.J., Khorana H.G., Rothschild K.J. Biochemistry, 1988, 27, 23, 8516-8520.

80. The two pKa's of aspartate-85 and control of thermal isomerization and proton release in the arginine-82 to lysine mutant of bacteriorhodopsin.
Balashov S.P., Govindjee R., Imasheva E.S., Misra S., Ebrey T.G., Feng Y., Crouch R.K., Menick D.R.
Biochemistry, 1995, 3, 27, 8820-8834.

81. Fourier transform infrared spectra of a late intermediate of the bacteriorhodopsin photocycle suggest transient protonation of Asp-212.
Dioumaev A.K., Brown L.S., Needleman R., Lanyi J.K.
Biochemistry, 1999, 38, 31, 10070-10078

 Photochemical conversion of the O-intermediate to 9-cis-retinal-containing products in bacteriorhodopsin films
 Popp A., Wolperdinger M., Hampp N., Bra⁻uchle C., Oesterhelt D. Biophys. J., 1993, 65, 1449-1455.

83. Characterization of the branched-photocycle intermediates P and Q of bacteriorhodopsin.

Gillespie N. B., Wise K. J., Ren L., Stuart J. A., Marcy D. L. Hillebrecht J., Li Q., Ramos L., Jordan K., Fyvie S. and Birge R.R. J. Phys. Chem. B, 2002, 106, 51, 13352–13361.

84. Redshift of the purple membrane absorption band and the deprotonation of tyrosine residues at high pH: Origin of the parallel photocycles of transbacteriorhodopsin

S. P. Balashov , R. Govindjee, T. G. Ebrey Biophys J., 1991, 60, 2, 475-490.

85. On the heterogeneity of the M population in the photocycle of bacteriorhodopsin. Friedman N., Gat Y., Sheves M., Ottolenghi M. Biochemistry, 1994, 33, 49, 14758-14767.

86. The effect of protein conformation change from alpha (II) to alpha(I) on the bacteriorhodopsin photocycleJ. Wang, M. A. El-SayedBiophys J., 2000, 78, 4, 2031-2036.

Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения

87. Structure, dynamics, and function of bacteriorhodopsin. Büldt G., Heberle J., Dencher N.A., Sass H.J. J Protein Chem., 1998, 17, 6, 536-538.

88. Spectrum analysis of blue to purple membrane transition induced by diverse valent cations Bing Xu., Jin-duo Han., Peng Yu., Yong Zhang., Kun-sheng Hu. Guang Pu., Xue Yu., Guang Pu., Fen Xi 2011, 31, 5, 1388-1392[Article in Chinese].

89. The purple to blue transition of bacteriorhodopsin is accompanied by a loss of the hexagonal lattice and a conformational changeM. P. Heyn , C. Dudda, H. Otto, F. Seiff, I. WallatBiochemistry, 1989, 28, 23, 9166-9172.

90. Sugar-induced blue membrane: release of divalent cations during phase transition of purple membranes observed in sugar-derived glasses.Rhinow D., Hampp N.A.J Phys Chem B, 2008, 112, 15, 4613-4619.

91. Photoreactions of bacteriorhodopsin at acid pH. Váró G., Lanyi J.K. Biophys J., 1989, 56, 6, 1143-1151.

92. Light-dependent reaction of bacteriorhodopsin with hydroxylamine in cell suspensions of Halobacterium halobium: demonstration of an apomembrane. Oesterhelt D., L. Schumann H., Gruber P. FEBS Lett., 1974, 44, 257-261

93. Bleaching of purple membrane with O-substituted hydroxylamines. Renthal R., Perez M.N. Photochem Photobiol., 1982, 36, 345-348

94. Effects of tyrosine-26 and tyrosine-64 nitration on the photoreactions of bacteriorhodopsin.Scherrer P., Stoeckenius W.Biochemistry, 1985, 24, 26, 7733-7740.

95. Tyrosine and carboxyl protonation changes in the bacteriorhodopsin photocycle.2. Tyrosines-26 and 64.Roepe P., Scherrer P., Ahl P.L., Das Gupta S.K., Bogomolni R.A., Herzfeld J., Rothschild K.J.Biochemistry, 1987, 26, 21, 6708-6717.

96. Counterion collapse and the effect of diamines on bacteriorhodopsin. Marinetti T. FEBS Lett., 1987, 216, 1, 155-158.

97. Modeling amino acid side chains in proteins: 15N NMR spectra of guanidino groups in nonpolar environments.Xiao Y., Braiman M.J Phys Chem B, 2005, 109, 35, 16953-16958.

98. Hydration effects on the photocycle of bacteriorhodopsin in thin layers of purple membrane.Korenstein R., Hess B.Nature, 1977, 270, 5633, 184-186.

99. Dried oriented purple membrane samples. Váró G. Acta Biol Acad Sci Hung, 1981, 32,301–310.

100. Effect of water on the structure of bacteriorhodopsin and photochemical processes in purple membrane. Lazarev Yu. A., Terpugov E.L. Stud. Biophys., 1981, 84, 1, 9-10

101. Light- and dark-adaptation of bacteriorhodopsin measured by a photoelectric method
György Váró, Krzysztof Bryl
Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 1988, 934, 2, 247-252

102. Chromophore-protein-water interactions in the L intermediate of bacteriorhodopsin: FTIR study of the photoreaction of L at 80 K. Maeda, Tomson F.L, Gennis R.B., Ebrey T.G., Balashov S.P. Biochemistry, 1999, 38, 27, 8800-8807.

 Синтез и свойства аналогов бактериородопсина, содержащих метки электронной плотности в хромофорной части.
 Е.В. Миронова, А.Ю. Лукин, С.В. Шевяков, С.Г. Алексеева, В.И. Швец, О.В. Демина, А.А. Ходонов, Л.В. Хитрина.
 Биохимия, 2001, 66, 11, 1323-1333.

104. Bacteriorhodopsin analogs from diphenylpolyene chromophores. Singh A.K, Manjula D. Photochem Photobiol., 2003, 78, 5, 503-510.

Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения

105. The cycle of photochromic reactions of bacteriorhodopsin analog with 4 keto retinal A.B.Druzhko and S.K.Chamorovsky

BioSystem 1995, 35, 133 136.

106. Электрогенные стадии фотоцикла аналогов бактериородопсина, содержащих остатки производных ретиналя.

Драчев А.Л., Драчев Л.А., Евстигнеева Р.П., Каулен А.Д., Лазарова Ц.Р., Лайхтер А.Л., Мицнер Б.И., Скулачев В.П., Хитрина Л.В., Чекулаева Л.Н. Биологические мембраны, 1984, 1, 11, 1125-1142.

107. Photocycles of bacteriorhodopsins containing 13-alkylsubstituted retinals Wolfgang Gaertner, Dieter Oesterhelt, Juergen Vogel, Robert Maurer, Siegfried Schneider

Biochemistry 1988, 27, 9, 3497–3502

108. C(13)-substituted bacteriorhodopsin analogs. Danshina S.V., Drachev A.L., Drachev L.A., Eremin S.V., Kaulen A.D., Khitrina L.V., Mitsner B.I. Arch Biochem Biophys., 1990, 279, 2, 225-231.

109. Development of bacteriorhodopsin analogues and studies of charge separated excited states in the photoprocesses of linear polyenes. Singh A.K, Hota P.K. Photochem Photobiol., 2007, 83, 1, 50-62.

110. Фотоцикл и электрогенез 13-дезметилбактериородопсина. Даншина С.В., Драчев А.Л., Драчев Л.А., Еремин С.В., Каулен А.Д., Мицнер Б.И., Хитрина Л.В., Чекулаева Л.Н. Биофизика, 1989, 34, 4, 623-626.

111. Removal of methyl groups from retinal controls the activity of bacteriorhodopsin

Wolfgang Gaertner, Paul Towner, Henning Hopf, and Dieter Oesterhelt Biochemistry, 1983, 22, 11, 2637–2644.

112. 13-дезметилбактериородопсин. Образование и некоторые свойства. Хитрина Л.В., Еремин С.В., Ходонов А.А., Швец В.И., Каулен А.Д. Биологические мембраны, 1998, 14, 1, 97-98.

113. Characterization and photochemistry of 13-desmethyl bacteriorhodopsin. Gillespie N.B, Ren L., Ramos L., Daniell H., Dews D., Utzat K.A., Stuart J.A., Buck C.H., Birge R.R.

J Phys Chem B, 2005, 109, 33, 16142-16152

114. 13-(Trifluoromethyl) retinal forms an active and far-red-shifted chromophore in bacteriorhodopsin

Wolfgang Gaertner, Dieter Oesterhelt, Paul Towner, Henning Hopf, Ludger Ernst Journal of the American Chemical Society, 1981, 103, 25, 7642-7643

115. Phototransformation and proton pumping activity of the 14-fluoro bacteriorhodopsin derivatives

A.B. Druzhko, B. Robertson, R. Alvarez, A.R. de Lera, H.H. Weetall Biochim Biophys Acta (Biomembranes), 1998, 1371, 2, 371-381.

116. Photochemical properties of naphthylbacteriorodopsin differing in their protein-chromophore interactions Tatsuo Iwasa, Masashi Takao, Kazuo Tsujimoto, Fumio Tokunaga Biochemistry, 1988, 27, 7, 2416-2419.

117.Photochemical studies of artificial bacteriorhodopsins P. Umadevi, M. Sheves , V. Rosenbach, M. Ottolenghi Photochem. Photobiol., 1983, 38, 2, 197-203.

118. Аналоги ретиналя и их роль в изучении бактериородопсина. Ходонов А.А., Еремин С.В., Локшин Ю.Л., Швец В.И., Демина О.В., Хитрина Л.В., Каулен А.Д. Биоорганическая химия, 1996, 22, 10-11, 745-776.

119. An investigation of the electrochemical cycle of bacteriorhodopsin analogs with the modified ring.

L.A. Drachev, A.L. Drachev, L.N. Chekulaeva, R.P. Evstigneeva, A.D. Kaulen, L.V. Khitrina, A.A. Khodonov, Z.R. Lazarova, B.I. Mitsner Arch Biochem Biophys., 1989, 270,1, 184-97.

120. Исследование 13-цис- и полностью транс-изомеров 4-кето-бактериородопсина.

Хитрина Л.В., Лазарова Ц.Р. Бихимия, 1989, 54, 1, 136.

121. Изучение фотохимического цикла аналога бактериородопсина, содержащего остаток 4-кето-ретиналя. Броун Л.С., Дружко А.Б., Лукашев Е.П., Чаморовский С.К.

Биологические мембраны, 1991, 8, 5, 460-465.

122. Electro-induced bathochromic shift of the absorption band of 4-ketobacteriorhodopsin in gelatin based films.

Lukashev Ye. P., Druzhko A.B., Kononenko A.A. Biophysics, 1992, 37, 1, 72-75. 123. Light adaptation of a bacteriorhodopsin analogue with 4-keto-retinal Brown L.S., Druzhko A.B., Chamorovsky S.K. Biophysics, 1992, 37, 1, 66-71.

124. Spectral properties of bacteriorhodopsin analog obtained by reconstitution of bacterioopsin with 4-keto retinal in vivo.

Brown L.S., Druzhko A.B., Kononenko A.A., Chamorovsky S.K., Shakhbazjan V.Yu. Biol. Membrany, 1993, 10, 2, 140-144.

125. The opsin shift in bacteriorhodopsin: studies with artificial bacteriorhodopsins Valeria Balogh-Nair, John D. Carriker, Barry Honig, Vinayak Kamat, Michael G. Motto, Koji Nakanishi, Ranjan Sen, Mordechai Sheves, Maria Arnaboldi Tanis, Kazuo Tsujimoto

Photochem. Photobiol., 1981, 33, 4, 483-488

126. Ароматические аналоги бактериородопсина. Шкроб А.М., Родионов А.В. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия, 1981, 7, 8, 1169-1194.

127. Микроокружение основания Шиффа ретиналя в бактериородопсине. Ефремов Р.Г., Набиев И.Р. Биологические мембраны, 1985, 2, 5, 460-469.

128. Azulenic retinoids and the corresponding bacteriorhodopsin analogs. Unusually red-shifted pigments

Alfred E. Asato, Xiao Yuan Li, Dennis Mead, G. M. L. Patterson, Robert S.H. Liu

J. Am. Chem. Soc., 1990, 112, 20, 7398-7399

129. Substitution of amino acids Asp-85, Asp-212, and Arg-82 in bacteriorhodopsin affects the proton release phase of the pump and the pK of the Schiff base. Otto H., Marti T., Holz M., Mogi T., Stern L.J., Engel F., Khorana H.G., Heyn M.P.

Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87, 3, 1018-1022.

130. UV-visible spectroscopy of bacteriorhodopsin mutants: substitution of Arg-82, Asp-85, Tyr-185, and Asp-212 results in abnormal light-dark adaptation. Duñach M., Marti T., Khorana H.G., Rothschild K.J. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87, 24, 9873-9877.

131. Role of aspartate-96 in proton translocation by bacteriorhodopsin K. Gerwert , B. Hess, J. Soppa, D. Oesterhelt Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86, 13, 4943-4947.

132. Protonation state of Asp (Glu)-85 regulates the purple-to-blue transition in bacteriorhodopsin mutants Arg-82–Ala and Asp-85–Glu: the blue form is inactive in proton translocation. Subramaniam S., Marti T., Khorana H.G.

Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87, 3, 1013-1017

133. Kinetic optimization of bacteriorhodopsin by aspartic acid 96 as an internal proton donorA.Miller, D.OesterheltBBA-Bioenergetics, 1990, 1020, 1, 57-64.

134. A defective proton pump, point-mutated bacteriorhodopsin Asp96–Asn is fully reactivated by azideJ. Tittor C. Soell, D. Oesterhelt, H.J. Butt, E. BambergEMBO J., 1989, 8, 11, 3477-3482.

135. Bacteriorhodopsin: a biological material for information processing.Oesterhelt D., Bräuchle C., Hampp N.Q Rev Biophys., 1991, 24, 4, 425-478.

136. Bacteriorhodopsin as a Photochromic Retinal Protein for Optical Memories. Hampp N. Chem Rev., 2000, 100, 5, 1755-1776.

137. Бактериородопсин как возможный элемент мембранных биореакторов. Максимычев А.В., Чаморовский С.К. Успехи химии, 1988, 57, 6, 1058-1079.

138. ATP-regenerating bioreactor equipped with immobilized ATP-synthase. Inatomi JPN.Kokai Tokkyo Koho JP 61/124384, 1984, (Mitsubishi Electric corporation].

139. Artificial photosynthetic cell producing energy for protein synthesis. Berhanu S, Ueda T, Kuruma Y Nat Commun. 2019, 10, 1, 1325-1329.

140. A new class of purple membrane variants for the construction of highly oriented membrane assemblies on the basis of noncovalent interactions Roelf-Peter Baumann , Annegret P. Busch, Björn Heidel, Norbert Hampp J Phys Chem B, 2012, 116, 14, 4134-4140.

141. Bacteriorhodopsin as a light-driven ion exchanger?D. OesterheltFEBS Letters, 1976, 64, 1, 138-144

142. Photoelectric conversion by bacteriorhodopsin in charged synthetic membranes.

Singh K., Korenstein R., Lebedeva H., Caplan S.R. Biophys. J., 1980, 31, 393 402

143. Фотохромные, электрохромные и фотоэлектрические свойства ориентированных пленок бактериородопсина. Возможные прикладные аспекты. Максимычев А.В., Кононенко А.А., Лукашев Е.П., Тимашев С.Ф., Чаморовский С.К.

Журнал физической химии, 1988, 62, 40, 2753-2769.

144. Enhanced photocurrent generation in bacteriorhodopsin based bio-sensitized solar cells using gel electrolyte.

Jeganathan Chellamuthu, Pavithra Nagaraj, Sabari Girisun Chidambaram, Anandan Sambandam, Ashokkumar Muthup Adian Journal of Photochemistry and Photobiology B, 2016, 162, 208-212

145. Structurally modified bacteriorhodopsin as an efficient bio-sensitizer for solar cell applications

T C Sabari Girisun, C Jeganathan , N Pavithra , S Anandan Eur Biophys J. 2019, 48,1, 61-71.

146. The interaction between halogenated anaesthetics and bacteriorhodopsin in purple membranes as examined by intrinsic ultraviolet fluorescence.Lee K.H., McIntosh A.R., Boucher F.Biochem Cell Biol., 1991, 69, 2-3, 178-184.

147. Versatile Protein-A Coated Photoelectric Immunosensors with a Purple-Membrane Monolayer Transducer Fabricated by Affinity-Immobilization on a Graphene-Oxide Complexed Linker and by Shear Flow Hsueh-Hsia Wu, Xin-Quan Liao, Xin-Ying Wu, Cheng-De Lin, Kai-Ru Jheng Hong-Ren Chen, Yong-Yi Wang, Hsiu-Mei Chen Sensors (Basel), 2018, 18,12, 4493

148. Development and Characterization of Titanium Dioxide Gel with Encapsulated Bacteriorhodopsin for Hydrogen Production. Johnson KE, Gakhar S, Risbud SH, Longo ML. Langmuir. 2018, 34, 25, 7488-7496. 149. Semi-artificial Photosynthetic \rm{CO}_2 Reduction through Purple Membrane Re-engineering with Semiconductor

Chen Z, Zhang H, Guo P, Zhang J, Tira G, Kim YJ, Wu YA, Liu Y, Wen J, Rajh T, Niklas J, Poluektov OG, Laible PD, Rozhkova EA. J Am Chem Soc. 2019, 141, 30, 11811-11815

150. Bacteriorhodopsin Enhances Efficiency of Perovskite Solar Cells. Das S, Wu C, Song Z, Hou Y, Koch R, Somasundaran P, Priya S, Barbiellini-Amidei B, Venkatesan R. ACS Appl. Mater. Interfaces 2019, 11, 34, 30728–30734.

151. A novel cell-scale bio-nanogenerator based on electron-ion interaction for fast light power conversion

Yu-Tao Li, He Tian, Hai-Ming Zhao, Mu-Qiang Jian, Yu-Jia Lv, Ye Tian, Qian Wang, Yi Yang, Yan Xiang, Yingying Zhang, Tian-Ling Ren Nanoscale, 2018, 10, 2, 526-532.

152. Remarkably enhanced photoelectrical efficiency of bacteriorhodopsin in quantum dot – Purple membrane complexes under two-photon excitation Biosens Bioelectron. 2019, 137, 117-122. Victor Krivenkov, Pavel Samokhvalov, Igor Nabiev.

153. Photophysics and molecular electronic application of the rhodopsins. Birge, R.R. Annu. Rev. Phys. Chem., 1990, 41, 683-733

54. Bacteriorhodopsin variants as versatile media in optical processing. Wolperdinger M., Hampp N. Biophys Chem., 1995, 56, 1-2, 189-192.

155. A Review on Bacteriorhodopsin-Based Bioelectronic Devices Yu-Tao Li, Ye Tian, He Tian, Tao Tu, Guang-Yang Gou, Qian Wang, Yan-Cong Qiao, Yi Yang, Tian-Ling Ren Sensors, 2018, 18, 5, 1368

156. Development of bacteriorhodopsin analogues and studies of charge separated excited states in the photoprocesses of linear polyenes
Anil K. Singh, Prasanta K. Hota
Photochem Photobiol., 2007, 83, 1, 50-62.
157. Diffraction efficiency of bacteriorhodopsin and its analogs
F.V.Bunkin, N.N.Vsevolodov, A.B.Druzhko, B.I.Mitsner, A.M.Prokhorov,
V.V.Savransky, N.V.Tkachenko, T.B.Shevchenko
Pis'ma Zh.Tekh. Fiz., 1981, 7, 1471-1474

Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения

158. Biopolymers for real-time optical processing Bazhenov V.Yu., Soskin M.S., Taranenko V.B., Vasnetsov M.V. Optical Processing and Computing. – Boston: Academic Press, 1989, 103-144.

159. Actual possibilities of bacteriorhodopsin application in optoelectronics N.N.Vsevolodov, A.B.Druzhko and T.V.Dyukova in book: "Molecular electronics: Biosensors and Biocomputers", Felix T.Hong, ed., Plenum Press, N.Y., 1989, 381-384

160. Real-time holographic imaging with a bacteriorhodopsin film. Zhang Y.H., Wang Song Q., Tseronis C., Birge R.R. Opt Lett., 1995, 20, 23, 2429

161. Mechanisms of nonlinear photoinduced anisotropy in bacteriorhodopsin and its derivativesE.Ya. Korchemskaya, D.A.Stepanchikov, A.B.Druzhko and T.V.DyukovaJournal of Biological Physics, Cluver Press, 1999, 24, 201-215

162. Регистрация сигнала фазовой модуляции волоконно-оптического интерферометра с помощью динамической голограммы в бактериородопсине Барменков Ю.О., Зосимов В.В., Кожевников Н.М., Котов О.И., Лямшев Л.М., Николаев В.М.

Акустический журнал, 1987, 33, 3, 568

163. Голограммы на биологическом фотохромном материале Биохром. Всеволодов Н.Н., Полторацкий В.А. Журнал технической физики, 1985, 55, 10, 2093

164. Bacteriorhodopsin wildtype and variant aspartate-96 --> aspargine as reversible holographic media
N. Hampp, C. Bräuchle, D. Oesterhelt
Biophys J., 1990, 58,1, 83-93.

165. Holographic filtering of a low-frequency noise in the output signal of an interferometer. Barmenkov Yu. O., Zosimov V.V., Kozhernikov N.M., Lipovskaya M.Y., Lamshev L.M. Proc. ISFOC'91, 1991, 1, 294.

166. Усиление контраста маломощных оптических сигналов при нелинейном поглощении в средах на основе бактериородопсина. Корчемская Е.Я., Соскин М.С., Тараненко В.Б. Квантовая электроника, 1990, 20, 381–382. 167. Nonlinear polarization interferometer for enhancement of laser pulse contrast and power Khazanov E.

Optics Express, 2021, 29, 11, 17277-17285

168. Пространственно-поляризационное ОВФ при четырёхволновом смешении в плёнках биохром.

Е.Я. Корчемская, М.С. Соскин, В.Б. Тараненко.

Квантовая электроника, 1987, 14, 4, 714-721.

169. Polarization properties of four-wave interaction in dynamic recording material based on bacteriorhodopsin Ellen Y. Korchemskaya and Marat S. Soskin Optical Engineering, 1994, 33, 10, 3456-3460

170. Elements of a unique bacteriorhodopsin neural network architecture Haronian D., Lewis A. Appl. Opt., 1991, 30, 597

171. Фотохромизм в нелинейной оптике: фотоуправляемая генерация второй гармоники молекулами бактериородопсина.

О.А. Акципетров, Н.Н. Ахмедиев, Н.Н. Всеволодов, Д.А. Есиков, Д.А. Шутов.

Докл. Акад. Наук СССР, 1987, 293, 3, 592-594.

172. Нелинейные оптические свойства бактериородопсина в Ленгмюр-Блоджетт мультислоях в плёнках.

Кирьянов А.В., Масляницын И.А., Савранский В.В., Шигорин В.Д., Лемметинен Н.

Квантовая электроника, 1999, 29, 1.

173. Study of Nonlinear Optical Properties of Multilayer Langmuir–Blodgett Films Containing Bacteriorhodopsin

Yu. O. Barmenkov, A.V. Kir'yanov, A.N. Starodumov, I.A. Maslyanitsyn, V.D. Shigorin, H. Lemmetyinen

Photochemistry and Photobiology, 2000, 72,2, 151-154

174. Eine biologische photodiode mit hochster Zeitauflosung Trissl H.-W. Optoelectronik Magazin, 1987, 3, 105-107 (In German)

Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения

175. All-optical time-delay relay based on a bacteriorhodopsin film. Chen G., Yuan Y., Zhang C., Yang G., Tian J.G., Xu T., Song Q.W. Opt Lett. 2006, 31, 10, 1531-1533.

176. Optical picosecond studies of bacteriorhodopsin containing a sterically fixed retinal H.-J. Polland, M.A. Franz, W. Zinth, W. Kaiser, D. Oesterhelt

BBA, 1984, 767, 3, 635-639

177. Nanosecond retinal structure changes in K-590 during the room-temperature bacteriorhodopsin photocycle: picosecond time-resolved coherent anti-stokes Raman spectroscopy O.Weidlich, L.Ujj, F.Jäger, G.H Atkinson Biophys J., 1997, 72, 5, 2329-2341.

178. Recording material and color recording process using this material. Arai R, Haruta M, Yamamoto N, Yano T, Kishi H, Sakuranaga M Patent 63,092,946 Japan, 1986.

179. Spectral hole burning and molecular computing U. P.Wild, A.Renn, C. De Caro, S.Bernet Appl. Opt., 1990, 29, 29, 4329-4331.

180. Photochemical Hole Burning in Bacteriorhodopsin Lee I., Gillie J., Johnson C.K., Chem. Phys. Lett., 1989, 156, 227-234

181. Optical processing in bacteriorhodopsin films. Margalit R., Yu J.IEEE – EMBS, 1990, 12, 1717-1718.

182. Адаптивная голографическая интерферометрия на основе фоточувствительных сред, содержащих бактериородопсин. Барменков Ю.А. Автореферат диссертации на звание канд. физ.-мат. наук, Ленинград, 1991.

183. The biological photochrome bacteriorhodopsin and its variants: their application in dynamic holographic recording.Hampp N., Oesterhelt D., Bräuchle C.Proc. Holographies '90, 1990, Nurenberg, 65–71

184. Genetic Modified Bacteriorhodopsin for Holographic Interferometry N. Hampp, R. Schmid, D. ZeiselMRS Online Proceeding Library Archive, 2011, 358 185. Bacteriorhodopsin films as spatial light modulators for nonlinear-optical filtering

R. Thoma, N. Hampp, C. Bräuchle, D. Oesterhelt Optics Letters, 1991, 16, 9, 651-653

186. Electrooptical studies on proton-binding and -release of bacteriorhodopsin K. Tsuji, B. HessEuropean Biophysics Journal, 1990, 18, 63–69.

187. Bacteriorhodopsin and its functional variants: Potential applications in modern optics

N. Hampp and C. Brauchle

Photochromism: molecules and systems, Ed. by H. Durr, H. Bouas-Laurent, Amsterdam: Elsevier, 1990, 954-968

188. Saturable absorption, wave mixing, and phase conjugation with bacteriorhodopsin Ofer Werner, Baruch Fischer, Aaron Lewis, and Isaiah Nebenzahl Optics Letters, 1990, 15, 20, 1117-1119.

189. Photoinduced anisotropy in bio-chrom films N.M. Burykin, E.Ya. Korchemskaya, M.S. Soskin, V.B. Taranenko, N.N. Vsevolodov Opt. Commun., 1985, 54, 2, 68-70

190. Голографическая запись непрерывным излучением в суспензии пурпурных мембран галобактерий.В. Ю. Баженов, М. С. Соскин, В. Б. Тараненко. Письма в ЖТФ, 1987,13,15, 918-921.

191. Photoinduced anisotropy in chemically-modified films of bacteriorhodopsin and its genetic mutantsE. Korchemskaya D. Stepanchikov, T. Dyukova, Optical Materials, 2000, 14 185-191

192. Fundamentals of photoelectric effects in molecular electronic thin film devices: applications to bacteriorhodopsin-based devicesF. HongBiosystems, 1995, 35, 2–3, 117-121

193. Protein-based computers R.R. Birge Scientific American, 1995, 272, 3, 90-95

Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения

194. Применение пигмент-белковых комплексов в качестве носителей оптической информации. Бельчинский Г.Я., Богатов П.Н., Гресько А.П., Кононенко А.А., Чаморовский С.К., Лукашев Е.П. Биофизика, 1991, 36, 2, 248-251.

195. Surface-induced lamellar orientation of multilayer membrane arrays. Theoretical analysis and a new method with application to purple membrane fragments.

Clark N.A., Rothschild K.J., Luippold D.A., Simon B.A. Biophys. J., 1980, 31, 65–96.

196. Structural changes in bacteriorhodopsin induced by electric impulses. Tsuji K., Neumann E. Int J Biol Macromol., 1981, 33, 231-242

197. Transient photovoltages in purple membrane multilayers. Charge displacement in bacteriorhodopsin and its photointermediates San-Bao Hwang, Juan I.Korenbrota, Walther Stoeckenius Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes, 1978, 509, 2, 300-317

198. Bacteriorhodopsin-mediated photoelectric responses in lipid/water systems. Drachev L. A., Kaulen A. D., Skulachev V. P., Voytsitsky V. M. The Journal of Membrane Biology, 1982, 65, 1, 1-12.

199. Proton transport by bacteriorhodopsin through an interface film Hwang S. B, Korenbrot JI, Stoeckenius W. J Membr Biol., 1977, 36, 2-3, 137-158.

200. The deposition of Langmuir-Blodgett films containing purple membrane on lipid- and paraffin-impregnated filtersM.T. FlanaganThin Solid Films, 1983, 99, 1-3, 133-138

201. Magnetic orientation of purple membranes demonstrated by optical measurements and neutron scattering. Neugebauer D.-C., Blaurock A.E., Worcester D.L. FEBS Lett., 1977, 78, 31-35.

202. Orientational behavior of phosphatidylcholine bilayers in the presence of aromatic amphiphiles and a magnetic field. Sanders C.R. 2nd, Schaff JE, Prestegard JH. Biophys J., 1993, 64, 4, 1069-1080. 203. Charge motion in vacuum-dried bacteriorhodopsin Kovács I., Váró G.J. Photochem. Photobiol. B, 1988, 1, 469–474

204 . Fast electric response signals in the bacteriorhodopsin photocycle. Ormos P., Reinisch L., Keszthelyi L. BBA – Bioenergetics, 1983, 722, 3, 471-479.

205. Photocurrent measurements of the purple membrane oriented in a polyacrylamide gel S.Y. Liu , T.G. Ebrey Biophys J., 1988, 54, 2, 321-9.

206. Bacteriorhodopsin as an ultrafast electrooptic material. Rayfield G.W. Bull. Am. Phys. Soc., 1989, 34, 483-488

207. Мультислои ориентированных пурпурных мембран галобактерий, полученные методами Ленгмюра-Блоджет и электроосаждения . Максимычев А.В., Чаморовский С.К., Холманский А.С., Ерохин В.В., Левин Е.В., Чекулаева Л.Н., Кононенко А.А., Рамбиди Н.Г. Биологические мембраны, 1991, 8, 1, 15-29.

208. Лэнгмюровские плёнки.Л.М. Блинов.Успехи физических наук, 1988, 155, 443-480.

209. Искусственные мембранные структуры и перспективы их практического применения.

Гевод В.С., Ксенжек О.С., Решетняк И.Л. Биологические мембраны, 198, 12, 1237-1269.

210. Monolayer immobilization of bacteriorhodopsin on modified polycarbonate surface by using of Langmuir-Blodgett technique Maryam Akbari, Ahmad Molaeirad, Ramazan Ali Khavari-Nejad Macromolecular Research, 2017, 25, 976-980

211. Фотоэлектрические свойства мономолекулярных плёнок бактериородопсина.

Лукашев Е.П., Зайцев С.Ю., Кононенко А.А., Зубов В.П. Доклады Академии наук СССР, 1989, 308, 1, 225-230.

Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения

212. Bacteriorhodopsin: mutating a biomaterial into an optoelectronic material. Hampp N.A. Appl Microbiol Biotechnol., 2000, 53, 6, 633-639. Review.

213. Bacteriorhodopsin as an electronic conduction medium for biomolecular electronics.

Jin Y., Honig T., Ron I., Friedman N., Sheves M., Cahen D. Chem Soc Rev., 2008, 37,11, 2422-2432. Review.

214. Nanosized optoelectronic devices based on photoactivated proteins. Dimonte A., Frache S., Erokhin V., Piccinini G., Demarchi D., Milano F., Micheli G.D., Carrara S.

Biomacromolecules., 2012, 13,11, 3503-3509.

215. Фотохромный материал. Всеволодов Н.Н., Дюкова Т.В., Чекулаева Л.Н.

Авторское свидетельство SU 1194177 A1, Заявка № 3641267/04 от 06.09.1983.

216. Биологические светочувствительные комплексы как технические фотоносители информации. Всеволодов Н.Н., Иваницкий Г.Р.

Биофизика, 1985, 30, 5, 883-887.

217. Влияние иммобилизации в полимерные матрицы и изменения хромофор-белковых взаимодействий на фотоцикл бактериородопсина. Дружко А.Б.

Диссертация кандидата физико-математических наук / Российская Академия наук. Ин-т теоретической и экспериментальной биофизики. Пущино, 1993, стр. 57.

218. Неопубликованные данные, 1980. Приготовление плёнки – Дюкова Т.В., электронная микроскопия – Попов В.И. Институт Биологической физики АН СССР.

219.Изменение фотохимической активности бактериородопсина в полимерных матрицах при его дегидратации. Дюкова Т.В., Всеволодов Н.Н., Чекулаева Л.Н. Биофизика, 1985, 30, 4, 613-616.

220. Biomolecular Electronics. An introduction via photosensitive proteins; Vsevolodov N.N. Birkhauser: Boston, 1998, 125 221. Photochromic compositions and materials containing bacteriorhodopsin". Dyukova T, Vsevolodov N U.S. Patent 5,518,858, 1996

222. Aspartic acid-96 is the internal proton donor in the reprotonation of the Schiff base of bacteriorhodopsin Otto H., Marti T., Holz M., Mogi T.,Lindau,M., Khorana H. G., Heyn M.P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 9228-9234.

223. Optical and electrical characterization of bacteriorhodopsin films Dyukova T., Robertson B., and Weetall H. BioSystems, 1997, 41, 2, 91-93

224. Dehydration effects on D96N bacteriorhodopsin films Dyukova T., Lukashev E. Thin Solid Films, 1996, 283, 1-4.

225. Investigation of spectral and kinetic properties of polymer films based on some analogs of bacteriorhodopsinAnna B. Druzhko, Sergey K. PirutinEur Biophys J., 2019, 48, 8, 749-756.

226. 4-Keto-bacteriorhodopsin films as a promising photochromic and electrochromic biological material Druzhko A.B., Chamorovsky S.K., Lukashev E.P., Kononenko A.A., Vsevolodov N.N. BioSystems, 1995, 35, 129-132.

227. Bleaching of bacteriorhodopsin in purple membrane, brown holo-membrane and L-1690-solubilized monomers with hydroxylamine in light and dark Hamanaka T., K. Hiraki and Yu. Kito Photochem. Photobiol., 1986, 44, 75-78

228. Влияние химической и ферментативной модификации бактериородопсина на структуру пурпурных мембран. Шныров В.Л., Закис В.И. Боровягин В.Л. Биологические мембраны, 1984, 1, 4, 349-355.

229. Photoinduced transformation of wild-type and D96N-mutant 4-ketobacteriorhodopsin gelatin films Druzhko A.B., Weetall, H.H. Thin Solid Films, 1997, 293, 1–2, 281–284.

Бактериородопсин: фундаментальные аспекты и возможности для практического применения

230. 14-Fluorobacteriorhodopsin and other fluorinated and 14-substituted analogues. An extra, unusually red-shifted pigment formed during dark adaptation M.E. Tierno, D. Mead, A.E. Asato, R.S. Liu, N. Sekiya, K. Yoshihara, C.W. Chang, K. Nakanishi, R. Govindjee, T.G. Ebrey Biochemistry, 1990, 29, 5948-5953

231. Photoinduced transformation of 14-F-bacteriorhodopsin gelatin films based on both wild type and D96N mutant

A.B. Druzhko, V.Y. Shakhbazian, R. Alvarez, A.R. de Lera, H.H. Weetall Biosystems, 2001, 1, 53-60.

232. Effect of dehydration on photoinduced transformation in gelatin films made with 14-fluoro bacteriorhodopsin derivatives

Anna B. Druzhko, Sergey K. Pirutin, Angel R. de Lera, Rosana Alvarez, Howard H. Weetall

Appl Biochem Biotechnol., 2005, 120, 2, 121-132.

233. Characterization of the Branched-Photocycle Intermediates P and Q of Bacteriorhodopsin

Nathan B. Gillespie, Kevin J. Wise, Lei Ren, Jeffrey A. Stuart, Duane L. Marcy, Jason Hillebrecht, Qun Li, Lavoisier Ramos, Kevin Jordan, Sean Fyvie, Robert R. Birge J. Phys. Chem. B, 2002, 106, 51, 13352-13361.

234. Photochromic bacteriorhodopsin mutant with high holographic efficiency and enhanced stability via a putative self-repair mechanism Ranaghan M.J., Greco J.A., Wagner N.L., Grewal R., Rangarajan R., Koscielecki J.F., Wise K.J., Birge R.R. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2014, 6, 4, 2799–2808

235. Optical recording material based on bacteriorhodopsin modified with hydroxylamine.

Vsevolodov N., Druzhko A., Dyukova T., Shakhbazyan V. Proc. SPIE, 1995, 114, 511-520

236. Effective light-induced hydroxylamine reactions occur with C13=C14 nonisomerasable bacteriorhodopsin pigments. Rousso I., Gat Y., Sheves M., Ottolenghi M. Biophys J., 1998, 75, 413-417

237.Optical characteristics of polymer films based on bacteriorhodopsin for irreversible recording of optical information. Druzhko A Photochem Photobiol, 2009, 85, 614-616 238. Connection of some photographic parameters of non-silver materials with photochemical and spectroscopic features of photosensitive substances. Alfimov M. V., V. B. Nazarov, O. B. Yakusheva Uspekhi nauchnoy photograpii, 1978, 19, 229-238 [In Russian].

239. Quantum yield ratio forward and back light reaction of BR at low temperature. Balashov S., E. Imasheva, R. Govindjee T. Ebrey Photochem. Photobiol., 1991, 54, 955-961.

240. Peculiar properties of photoinduced hydroxylaminolysis in different bacteriorhodopsin-based media using O-substituted hydroxylamines. Dyukova T., Druzhko A. Photochem Photobiol, 2010, 86, 1255-1259

241. Some Factors Affecting the Process of Photoinduced Hydroxylaminolysis in Different Bacteriorhodopsin-Based Media. Anna B.Druzhko, Tatyana V.Dyukova, Sergey K.Pirutin European Biophysics Journal, 2017, 46, 509-515

242. Reconstitution of bacteriorhodopsin. Oesterhelt D., Schumann L. FEBS Lett., 1974, 44, 262-265

243. Preliminary Ultrasonication Affects the Rate of the Bacteriorhodopsin Bleaching and the Effectiveness of the Reconstitution Process in Bacterioopsin Anna B. Druzhko, Sergey K. Pirutin Photochem. Photobiol., 2014, 90, 1207-1210

244. Photoinduced anisotropy in chemically-modified films of bacteriorhodopsin and its genetic mutantsE. Korchemskaya, D. Stepanchikov, T. DyukovaOptical Materials, 2000, 14, 185-191

245. 14-Fluoro-bacteriorhodopsin gelatin films for dynamic holography recording. Korchemskaya E., Burykin N., de Lera A.R., Alvarez R., Pirutin S., Druzhko A. Photochem Photobiol., 2005, 81, 4, 920-923.

246. Попутное четырёхпучковое взаимодействие в плёнках Биохром Всеволодов Н.Н., Дюкова Т.В., Жердиенко В.В., Корчемская Е.Я., Лесник С.А., Никитин В.И., Соскин М.С., Тараненко В.Б., Хижняк А.И. Светочувствительные биологические комплексы и оптическая регистрация информации.

Сборник научных трудов под ред. Иваницкого Г.Р., Пущино, 1985, 119-122.

247. Bacteriorhodopsin and its mutants for light-induced anisotropy and dynamic holography recording.

Stepanchikov D., Burykin N., Dyukova T., Ebrey T., Balashov S., Korchemskaya E.

Functional Materials, 2006, 13, 4, 669-675.

248. О возможности использования плёнок Биохром для полихроматической записи голограмм во встречных пучках.

Костылев Г.Д., Всеволодов Н.Н.

Светочувствительные биологические комплексы и оптическая регистрация информации.

Сборник научных трудов под ред. Иваницкого Г.Р., Пущино, 1985, 142-144.

А.Б. Дружко

БАКТЕРИОРОДОПСИН: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ И ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Формат 70х100 1/16 Гарнитура Times Усл.-п. л. 7,15. Уч.-изд. л. 5,69 Тираж 300 экз.

Издатель – Российская академия наук

Публикуется в авторской редакции

Верстка и печать – УНИД РАН Отпечатано в экспериментальной цифровой типографии РАН

Издается по решению Научно-издательского совета Российской академии наук (НИСО РАН) от 01.02.2022 г. и распространяется бесплатно