

111. Gallego S., Ortuno M., Neipp C. e. a. *Ibid.*, 2005, v. 5827, p. 107.
112. Барачевский В.А. Ж. научн. и прикл. фотографии, 1998, т. 43, с. 79.
113. Barachevsky V.A. *Proc. SPIE*, 1991, v. 1559, p. 184.
114. Barachevsky V.A. *Ibid.*, 1995, v. 2208, p. 184.
115. Todorov N., Nikolova L., Stayanova K. e. a. *Appl. Opt.*, 1985, v. 24, p. 785.
116. Todorov N., Nikolova L., Tomova N. e. a. *IEEE*, 1986, v. QE 22, p. 1262.
117. Hvilsted S., Ramanujam P.S. *Current Trends in Polymer Sci.*, 1996, v. 1, p. 53.
118. Holme N.C. R., Ramanujam P.S., Hvilsted S. *Appl. Opt.*, 1996, v. 35, p. 4622.
119. Holme N.C. R., Ramanujam P.S. *Opt. Lett.*, 1996, v. 21, p. 902.
120. Natanson A., Rochon P. *ACS Symp. Sci.*, 1997, p. 236.
121. Berg R.H., Hvilsted S., Ramanujam P.S. *Nature*, 1996, v. 383, p. 505.
122. Sahyun M.R.V. *J. Imaging Sci. and Techn.*, 1998, v. 42, p. 23.
123. Mitsuhashi T., Suzuki T., Morita K. e. a. 2005 Beijing Int. Conf. on Imaging: technology and Applications for XXIst Century. May 23—26, 2005, Beijing, China. Science Press, 2005, p. 58.
124. Несеребряные фотографические процессы. Под ред. А.Л. Картужанского. Л.: Химия, 1984, с. 146.
125. Будыка М.Ф., Алфимов М.В. *Успехи фотографических наук*, 1989, т. 25, с. 97.
126. Бетхер Х., Энперляйн И., Ельцов А.В. *Современные системы регистрации информации. Основные принципы, процессы, материалы*. Под ред. А.В. Ельцова. С-Пб.: Синтез, 1992, с. 62.
127. Барачевский В.А. *Тр. ГОИ*, 1987, т. 65, с. 114.
128. DoMinh T. *Res. Chem. Intermed.*, 1989, v. 12, p. 251.
129. Georgiou S., Wight C.A. *J. Phys. Chem.*, 1990, v. 94, p. 4935.
130. Barachevsky V.A. *Final Program and Proc. of IS&T NIP15: Int. Conf. on Digital Printing Technologies*, October 17—19, 1999, p. 754—757.

УДК 576+535.317.2

Бактериородопсин — биологический преобразователь световой энергии с уникальными технологическими возможностями

Е. П. Гребенников

ЕВГЕНИЙ ПЕТРОВИЧ ГРЕБЕННИКОВ — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, руководитель НТЦ «Перспективные технологии» ОАО «ЦНИТИ «Техномаш». Область научных интересов: бионанотехнологии, молекулярная электроника, фотоника, бионейрокомпьютеры.

121108 Москва, ул. Ивана Франко, 4, НТЦ «Перспективные технологии», тел. (495)144-68-35, факс (495)144-75-95, E-mail ntc_technology@socket.ru

Введение

Бактериородопсин — уникальный по своим техническим возможностям продукт биотехнологий. Функции этого белка связаны с преобразованием световой энергии. Бактериородопсин был обнаружен в пурпурных мембранах галобактерий *Halobacterium Salinarum* (старое название *Halobacterium halobium*) [1].

В ряду известных природных и синтетических фотохромов бактериородопсин выделяется непревзойденными цикличностью функционирования (не менее 10^6 актов) и чувствительностью. Материалы на его основе обладают исключительной стабильностью. Экстремальные условия, в которых существуют в природе бактерии-продуценты этого белка (крайне высокая концентрация солей в среде их обитания, повышенные температуры и интенсивное солнечное облучение), способствовали отбору белков с высокой устойчивостью к внешним воздействиям. Как показали исследования [2], работоспособность функциональных структур на основе бактериородопсина сохраняется в течение не менее 15 лет и не менее 10^4 часов в условиях непрерывного воздействия лазерного излучения.

Бактериородопсин технологически совместим с целым рядом перспективных материалов фотоники, способен формировать с ними наноструктурированные композиты.

Бактериородопсин. Структура и свойства

Продуцентами бактериородопсина являются галобактерии, относящиеся к архебактериям, которые представляют собой особую линию эволюции, отличающуюся как от прокариот, так и от эукариот [3].

Мембрана галобактерий состоит из белок-липидного бислоя со специфическими участками, так называемыми пурпурными мембранами, содержащими сотни тысяч молекул бактериородопсина. Молекулы организованы в тримеры, которые образуют кристаллическую гексагональную структуру (рис. 1). Пурпурные мембраны содержат 75% белка и 25% липидов. Молекулы белка практически пронизывают насквозь мембрану и строго ориентированы в ней. Толщина мембраны постоянна и не превышает 5 нм, а другие их размеры варьируются в зависимости от штамма и режима культивирования клеток.

Понижение концентрации хлорида натрия в окружающей среде до 2 М ведет к дезинтеграции и гибели галобактерий в результате осмотического шока. Это явление часто используется для выделения бактериородопсина. При выделении из клеток бактерий пурпурные мембраны сохраняют свою структуру полностью [4, 5]. Типичный размер пурпурных мембран 150—500 нм. Это единственная в своем роде биокристаллическая структура, способная в течение многих

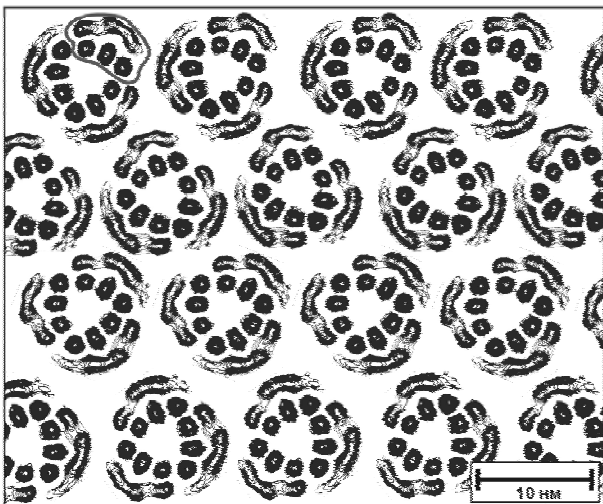


Рис. 1. Пурпурная мембрана: гексагональная упаковка тримеров молекул бактериородопсина.

В левом верхнем углу обведена отдельная молекула белка

лет сохранять свои свойства неизменными в составе сухих и полимерных пленок толщиной от 5 нм (монослой) до нескольких десятков микрометров.

По химической природе бактериородопсин — ретинальсодержащий трансмембранный белок (молекулярная масса 26 кДа), состоящий из 248 аминокислотных остатков и пронизывающий мембрану в виде семи α -аминоспиральных тяжей (рис. 2). α -Спиральные участки расположены в мембране, а неспира-

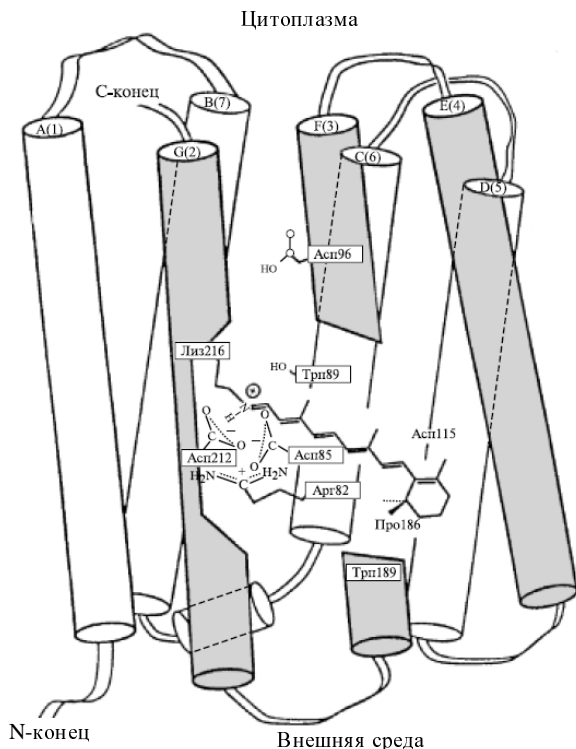


Рис. 2. Молекула бактериородопсина

лизованные выступают за ее пределы, образуя петли. N- и C-концы полипептидной цепи находятся по разные стороны цитоплазматической мембраны: N-конец обращен во внешнюю среду, а C-конец — внутрь клетки [6, 7]. К остатку лизина в положении 216 ковалентно через основание Шиффа присоединен хромофорный центр — ретиналь (окисленная форма витамина А) [4]. При этом наблюдается значительный батохромный сдвиг максимума поглощения ретиналя.

Некоторые характеристики бактериородопсина, в том числе изоэлектрическая точка ($pH = 4-5$), квантовый выход первичной фотореакции (~64%), а также расшифровку аминокислотной последовательности можно найти в [8, 9].

Существует несколько моделей функционирования бактериородопсина. Наиболее распространены две [10] — изомеризационная и солитонная. Первая основана на процессах фотоизомеризации, которым подвергается молекула бактериородопсина при поглощении кванта света. Вторая предполагает наличие особых состояний — солитонов, данная схема рассматривается как частный случай общей схемы внутримолекулярной трансформации энергии [11].

Фундаментальное свойство бактериородопсина — осуществление характерного фотохимического цикла: при поглощении кванта света молекула белка проходит стадии последовательных состояний и самопроизвольно возвращается в исходную форму (рис. 3). Соответственно циклические изменения состояния молекул бактериородопсина приводят к циклическим изменениям оптических характеристик: показателей преломления и поглощения [12]. Каждое из промежуточных состояний идентифицируется как интермедиат по спектру поглощения (рис. 4). У некоторых видов бактериородопсина осуществляется разветвленный фотоцикл [13]. Значения временных параметров фотоцикла лежат в интервале от долей миллисекунд до десятков минут.

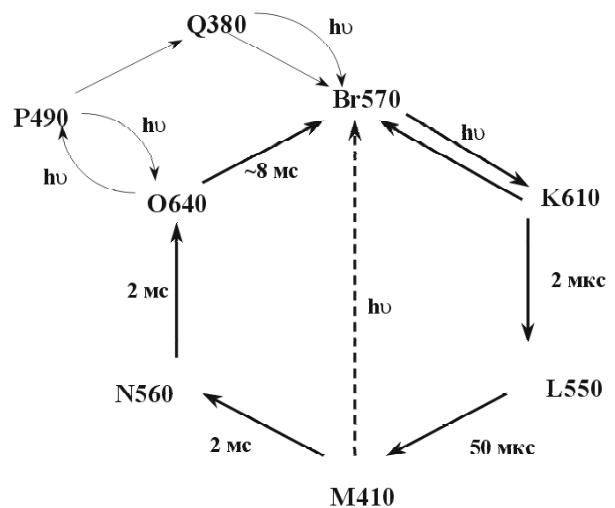


Рис. 3. Разветвленный фотоцикл бактериородопсина.

Приведена последовательность основных интермедиатов фотоцикла бактериородопсина, стрелками обозначены направления переходов, указаны характерные времена жизни интермедиатов. Фотозависимые переходы обозначены символом $h\nu$. Br570 — исходная форма белка. Интермедиаты P490 и Q380 (разветвленный фотоцикл) характерны для бактериородопсина штамма D96N

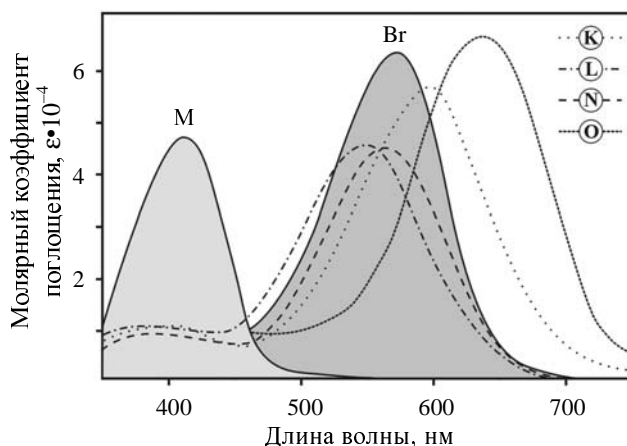


Рис. 4. Спектр поглощения исходного состояния и интермедиатов фотоцикла бактериородопсина.

Расшифровку обозначений см. на рис. 3

Главная функция бактериородопсина в пурпурных мембранах — светозависимый перенос протона через пурпурную мембрану, в результате чего на мембране галобактерии создается электрохимический потенциал водорода, энергия которого утилизируется клеткой. Выброс H^+ происходит на внешнюю сторону клеточной оболочки, а захват H^+ — из внутренней области (цитоплазмы) клетки. Принято считать, что перенос протона осуществляется на стадии образования и исчезновения интермедиата M412 [14, 15].

Спектральная чувствительность бактериородопсина лежит в видимой области спектра (см. рис. 4) [13]. Максимум поглощения в исходном состоянии Br соответствует длине волны 570 нм (Br570). Основное промежуточное состояние M имеет максимум поглощения на длине волны 412 нм (M412). В результате поглощения кванта света на длине волны 570 нм и перехода молекул бактериородопсина в форму M412 (с низким поглощением в желтой области спектра и высоким в фиолетовой области), на длине волны 570 нм поглощение в желтой области спектра ослабляется, среда становится более прозрачной — просветленной. Эффект просветления бактериородопсинсодержащей среды зависит, в частности, от времени релаксации молекул интермедиата M412 в форму Br570 (периода полураспада молекул интермедиата M412). Световое воздействие на длине волны 412 нм осуществляет быстрый принудительный перевод молекулы в исходное состояние.

Оптические и динамические характеристики бактериородопсина изменяются в широком диапазоне и определяются условиями его получения и составом матрицы (среды окружения).

Для разработки функциональных оптических структур, в частности многослойных, с использованием бактериородопсина существенное значение имеет показатель преломления этого пигмента и содержащих его полимерных пленок. Имеющиеся в литературе данные по показателю преломления бактериородопсина зачастую носят противоречивый характер [8, 16, 17] и, как правило, недостаточно точны, чтобы их

можно было использовать при конструировании чувствительных оптических систем. В своих работах мы исходили из результатов измерений, полученных нами в работе [18].

Показатель преломления бактериородопсина измеряли на рефрактометре ИРФ-454Б в отраженном и проходящем свете. Пленку, содержащую бактериородопсин, формировали на поверхности измерительной призмы поливом суспензии с концентрацией белка 15–20 мг/мл и последующим высушиванием при температуре 22 °С и относительной влажности воздуха 60%. Получено значение показателя преломления $1,534 \pm 0,002$. Этот результат хорошо воспроизводится при использовании препаратов, приготовленных из трех различных штаммов галобактерий, и согласуется с результатами последующих измерений показателя преломления полимерных бактериородопсинсодержащих пленок.

Производство бактериородопсина

Существуют два метода получения бактериородопсина: искусственное культивирование микроорганизмов рода *Halobacterium* и выделение белка из клеток галобактерий.

Культивирование бактерий — продуцентов бактериородопсина

Культивирование *Halobacterium Salinarum* проводят при температуре питательной среды 38–39 °С и рН = 7,2 [19–22], в условиях аэрации среды воздухом (расход воздуха 0,5–2 л/мин на 1 л среды), при освещении лампами дневного света. Состав питательной среды: хлорид натрия, сульфат магния, хлорид калия, дрожжевой экстракт, пептон. В зависимости от штамма и особенностей способа выращивания продолжительность культивирования составляет от 50 до 100 ч. Клеточную массу осаждают на центрифуге (8–15 тыс. об/мин, 20–40 мин). Выход клеточной массы от 3 до 10 г/л, выход бактериородопсина 0,3–1,0% от количества сырой клеточной массы.

Выделение и очистка бактериородопсина

Технология извлечения бактериородопсина из клеток микроорганизмов обычно включает три основных этапа [1, 23–25].

1. Дезинтеграция клеток микроорганизмов; операция обычно проводится путем осмотического шока и лизиса клеточной стенки ДНКазой [1, 3, 8, 24] или осмотическим шоком без ДНКазы [3], может сочетаться с ультразвуковой обработкой [26]. В результате выделяются фрагменты пурпурной мембраны, содержащие бактериородопсин.

2. Осаждение фрагментов пурпурной массы центрифугированием.

3. Очистка многократным переосаждением бактериородопсина при центрифугировании (20–60 тыс. об/мин, 20–40 мин).

Для выделения пурпурных мембран из биомассы галофильных бактерий применяется также метод циклической экструзии под давлением от 10 до 150 МПа (число циклов до 5) [27].

Чистоту препарата, содержащего бактериородопсин, определяют по спектру поглощения суспензии. Отношение оптических плотностей на длинах волн

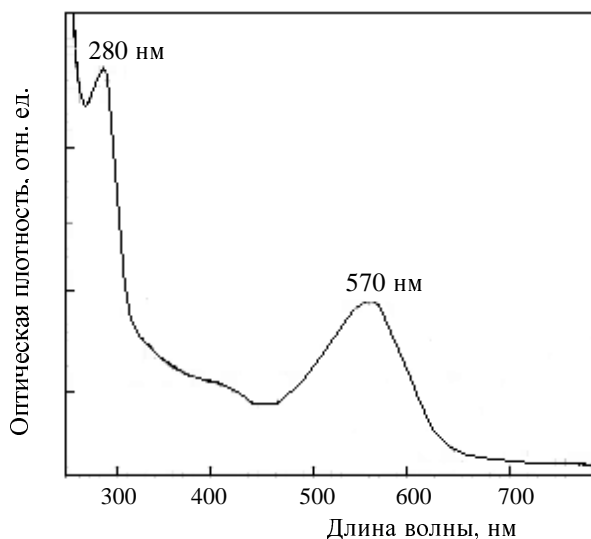


Рис. 5. Спектральная кривая суспензии бактериородопсина для определения качества материала

280 и 570 нм не зависит от концентрации белка и служит критерием его чистоты (рис. 5). В зависимости от способа очистки, а также целей применения препарата это отношение должно быть в пределах 1,9—2,4.

Разновидности бактериородопсинсодержащих сред. Технологические приемы их формирования

Свойства и поведение бактериородопсина зависят от окружающей его среды: сухой или влажный воздух, вода, гидрогель, полимеры с разнообразными добавками. В каждом отдельном случае используют специальные технологические приемы формирования бактериородопсинсодержащих сред.

Гели на основе суспензий бактериородопсина

В матрице из гидрогелей (до полимеризации) фрагменты пурпурных мембран очень подвижны. Известно, что две поверхности каждого фрагмента различаются не только степенью гидрофильности, но и величиной поверхностного заряда. Значит, фрагменты можно сорентировать в электрическом поле, а затем закрепить в процессе полимеризации. Например, в [28] мембраны помещали в мономерный раствор акриламида и прикладывали поле напряженностью 10 В/см на все время полимеризации. Диск полученного полимера диаметром 30 мм и толщиной 6,5 мм имеет удельное электрическое сопротивление 10—1000 Ом·см. Оптические и другие измерения показали, что достаточно хорошо ориентируются 25% фрагментов мембран, плотность фототока через диск достигает $2 \cdot 10^{-5}$ А/см². Через несколько дней гель самопроизвольно разрушается [29]. Получение подобных гелей на основе суспензий бактериородопсина описано также в работе [13].

Ориентированные пленки бактериородопсина

Методы получения ориентированных пленок бактериородопсина основаны на использовании различия свойств эндо- и эктоплазматических сторон пурпурных мембран. Различие определяется разным количе-

ством полярных и неполярных остатков, приводящим к тому, что внешняя сторона мембраны более гидрофильна, а внутренняя — более гидрофобна. Благодаря этому достигается ориентация пурпурных мембран на границе между гидрофильной и гидрофобной средами (метод Ленгмюра—Блоджетт), например на границе вода/октан [30] или вода/воздух [31]. Аналогичным способом можно получать моно- и мультислой ориентированных мембран.

Например, смесь пурпурных мембран и фосфолипидов в гексане, помещенная на поверхность воды (граница воздух/вода), распределяется в виде монослоя из мембран и фосфолипидов в соотношении 1:2, соответственно, при этом мембраны ориентированы цитоплазматической поверхностью в сторону водной фазы. В системе из 70—120 таких слоев на стеклянной подложке (стекло К-8) подвижность молекул бактериородопсина замедляется тем больше, чем меньше влажность мультислоя [32].

Оптическая плотность одного слоя пурпурных мембран составляет $\sim 10^{-2}$. При освещении слоя на границе октан/вода зарегистрированы фотоиндуцированный перенос протонов и фотопотенциал более 0,5 В [33]. Мультислой из 30 монослоев, помещенный между электродами, имеет электрическое сопротивление ~ 2000 Ом и емкость 10^3 мкФ [34].

Монослой организуют достаточно упорядоченную трехмерную решетку, регистрируемую методами просвечивающей электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа [35]. При высыхании пурпурные мембраны укладываются друг на друга, ориентируясь в плоскости подложки. Слой сухих мембран толщиной 1 мкм содержит около 200 монослоев. Оптическая плотность такого слоя в области 570 нм равна $\approx 0,1$. Время существования интермедиатов фотоцикла в таких слоях сильно зависит от влажности. Результаты исследования линейного дихроизма сухих слоев пурпурных мембран указывают на высокую упорядоченность молекул бактериородопсина в мультислое и отсутствие их заметной подвижности в слое [36].

В ряде работ [17, 37—39], описано получение пленок бактериородопсина методом Ленгмюра—Блоджетт по следующей схеме. Суспензия фрагментов пурпурных мембран помещается в раствор соевого липида в гексане и раствор подвергается действию ультразвука в течение времени, не вызывающего дробления мембран на мелкие фрагменты, в которых свойства белка из-за денатурации необратимо изменяются. Полученный после такой обработки раствор наносится на поверхность субстрата (воды). По мере испарения гексана с поверхности воды слой молекул белка сжимается. Температура субстрата постоянно контролируется и поддерживается на уровне 21 °С. После переноса пленки на подложку ее высушивают 25—30 мин. Для получения последующих слоев подложку с пленкой опускают в воду и повторяют вышеуказанные операции. Этот метод позволяет получить до 85% ориентированных мембран [40].

Разработан метод, обеспечивающий ориентацию пурпурных мембран на подложках из различных материалов путем электрофоретического осаждения. На основании измерений фототока и электрического сопротивления предполагается, что в этом случае доля мембран, одинаково ориентированных относительно

подложки, выше, чем при использовании метода Ленгюра—Блуджетт (мембраны ориентируются цитоплазматической стороной к подложке — электропроводящему стеклу). Сравнительная характеристика ориентированных пленок, полученных разными методами, приведена в [39].

Сухие пленки на основе суспензий бактериородопсина

В сухих (воздушно-сухих) препаратах пурпурных мембран (обычно в виде высушенной капли на стекле) ряд промежуточных интермедиатов фотоцикла отсутствует, но ключевые интермедиаты с максимумом поглощения 610 и 412 нм остаются.

Сухие препараты пурпурных мембран наиболее удобны для исследования различных внешних воздействий на бактериородопсин: низких температур, влажности, электрических и магнитных полей. Подложка, на которой формируется препарат, может быть прозрачной, электропроводящей, многослойной, т.е. нести на себе функциональные подслои и т.д. Это позволяет одновременно изучать влияние внешних факторов и регистрировать оптические и электрические изменения в пурпурных мембранах. При освещении в сухих пленках регистрируется фотопотенциал 100—200 мВ, что совпадает с величиной мембранного потенциала нативной клетки. Но клетка содержит только один слой пурпурных мембран, а в сухих пленках — их от десятков до сотен, поэтому в пленках мембраны не ориентированы и только один слой создает фотопотенциал в области контакта подложки и пленки, вклады же остальных мембран компенсируются вследствие противоположных ориентаций мембран.

В исследованиях бактериородопсина методом ИК-спектроскопии [41] получили распространение образцы сухих пленок толщиной 10 мкм, которые приводятся в термодинамическое равновесие с атмосферой при 100% влажности.

Известна методика [42] получения таких водных слоев, содержащих бактериородопсин в количестве 10^{-3} М и имеющих линейный показатель поглощения около $0,1 \text{ мкм}^{-1}$. Суспензия бактериородопсина в дистиллированной воде наносится на подложку из плавленого кварца и высушивается в вакууме. Полученная пленка пурпурных мембран (толщиной ~10 мкм) смачивается небольшим количеством воды (либо смесью воды с этиленгликолем в соотношении 2:1), покрывается второй подложкой из плавленого кварца и герметизируется. Экспериментально проверено, что кинетические и спектральные свойства бактериородопсина при указанном содержании его в дистиллированной воде не отличаются от свойств препарата в составе водной суспензии. Такие образцы сохраняют свои свойства на протяжении трех месяцев. При большем сроке их хранения наблюдались отклонения от характерных для сухих пленок бактериородопсина спектральных и кинетических свойств.

Полимерные бактериородопсинсодержащие пленки

Если смесь водорастворимого полимера и суспензии пурпурных мембран нанести на подложку (стекло, металл и т.д.), то после высыхания на ней остается пленка, в которой длительность фотоциклов бактериородопсина увеличивается, а время жизни некоторых интермедиатов сокращается на несколько порядков

[4]. В такую матрицу легко вводить различные реагенты и химические модификаторы и исследовать их действие на бактериородопсин в нормальных условиях, а также при разных значениях влажности, температуры, pH и т.д.

Если состав раствора подобран так, что мембраны не замыкаются между собой (а находятся в виде ассоциатов из 10—30 мембран), то при высыхании они ориентируются своей плоскостью параллельно подложке. Действие электрического поля напряженностью до 1 кВ/см в процессе высыхания не оказывает заметного влияния на ориентацию пурпурных мембран и на спектральные характеристики полученной пленки. Матрицей для полимерных бактериородопсинсодержащих пленок могут быть желатина [13], поливинилпирролидон, метилцеллюлоза. Можно также формировать пленки в виде блоков из полиакриламида. Такие пленки сохраняют фотохромные свойства [4].

Примеры экспериментальных молекулярных устройств на основе бактериородопсина

Перспективы применения материалов на основе бактериородопсина представляются достаточно широкими. Это оптические устройства для обработки [43, 44] и хранения информации [45], записи динамических голограмм [46], пространственно-временные модуляторы света [47], системы технического зрения [48] и т.д. Интересным направлением является создание искусственных фоторецепторов на основе бактериородопсинсодержащих материалов, совмещенных с другими фотохромными веществами для увеличения диапазона спектральной чувствительности [49—51]. Так, предложен фоторецептор на основе пленочной структуры, содержащей слой бактериородопсина и флавина [49, 50], последний имеет два широких максимума поглощения — 350 и 450 нм. Авторы рекомендуют применять этот фоторецептор для анализа видимого спектра в диапазоне 450—600 нм. Предложен также фоторецептор с фоточувствительными слоями спиropyрана и бактериородопсина [51].

Ниже продемонстрированы возможности реализации логических нейросетевых принципов [52] с применением бактериородопсинсодержащих сред. Этот подход по сравнению с обычными оптоэлектронными решениями обеспечивает более высокую степень интеграции элементов и параллельных процессов, что определяется высоким разрешением и непрерывностью функционирования бактериородопсина.

В [53] описывается устройство на основе тонких пленок бактериородопсина, реализующее одну из нейросетевых функций — синаптические связи между нейронами, ответственные за обработку сигналов, обучение и память. Авторы оценивают плотность размещения синапсов на пленках выше 10^8 на 1 см^2 . Базовый процесс — фотохромный. Поскольку используются только фотохромные свойства белка, то в данном устройстве могут быть применены неориентированные пленки.

Другой подход к формированию синаптической матрицы и архитектуры нейронной сети предложен в [14]. Базовый процесс — фотоэлектрический, включающий фотоиндуцированные переходы бактериородопсина в интермедиаты К и М (см. рис. 3) и пере-

мещение заряда в молекуле белка. Отмечается, что оптические данные, записанные в синаптической матрице на основе бактериородопсина нейронной сети, могут считываться многократно без стирания информации, и что величина весовых коэффициентов синапсов сети может изменяться аналоговым методом между 0 и 1. Показано, что пленки белка являются электрооптической молекулярной средой, обладающей памятью, которая допускает перезапись.

Пурпурные мембраны для образцов синаптической матрицы изготавливались по обычной методике [54], а сухие ориентированные мембраны толщиной несколько микрометров на электропроводящем стекле готовились электрофоретическим методом (методика Варо) [55]. Добавление, внесенное в работе [14] к методике Варо, заключалось в обработке буферным раствором тетрабората натрия с регулируемым рН до 10 для стабилизации М-интермедиата.

Ряд работ [56–61] посвящен проблеме создания на основе бактериородопсинсодержащих сред специализированной нейронной сети — искусственной сетчатки. Как известно, бактериородопсин очень близок по функции и структуре к зрительному пигменту родопсину. Поэтому понятно стремление исследователей воспроизвести на основе бактериородопсина зрительную сетчатку, полагающих, что в этом применении белок окажется наиболее эффективным.

Для изучения возможности применения бактериородопсина для детектирования движения и распознавания движущихся образов был изготовлен на его основе искусственный фоторецептор [56], образующий элемент нейронной сети. Этот фоторецептор способен реагировать на изменение интенсивности света, подобно биологическому фоторецептору *in vivo*.

При создании фоторецептора были использованы оригинальные технологии [58] для получения ориентированных пленок из бактериородопсина, контроля влажности и обеспечения надежного электрического контакта пленки с электродами. С этой целью сконструирован бактериородопсинсодержащий электрохимический элемент, в котором молекулы белка контактируют непосредственно с водной средой электролита. Тонкие пленки (толщиной 5–50 нм) формировали на электроде SnO₂ методом Ленгмюра—Блоджетт из фрагментов пурпурных мембран, содержащих бактериородопсин.

Решая на основе концепции искусственной сетчатки задачи обработки изображения (краевое детектирование — определение границы, детектирование движения), авторы [59] пошли не по пути формирования отдельных фоторецепторов, а выбрали в качестве прототипа для конструктивного элемента рецептивное поле ганглиозной клетки зрительной сетчатки. Как известно, фоторецепторы сетчатки позвоночных объединены в структурно-функциональные единицы типов «on» и «off», которые осуществляют свои функции на основе конкуренции процессов возбуждения и торможения. Сухие пленки бактериородопсина могут эффективно действовать как рецептивные поля зрительных клеток, используя знак фотоотклика. Авторы [59] экспериментально доказывают реализуемость фундаментальных свойств нейронных сетей — процессов возбуждения и торможения, и конкуренцию этих процессов, что приближает искусственную нейронную

систему на основе бактериородопсина к ее прототипу. В данном проекте в качестве базового процесса используется фотоэлектрическое преобразование в ориентированных пленках бактериородопсина.

Особое место в области нейросетевых технологий занимают работы по созданию ассоциативной памяти. Исходным пунктом этих разработок является тезис об ассоциативных принципах запоминания и воспроизведения информации нативными нейронными сетями. И хотя механизмы реализации ассоциативного восприятия и мышления живого мозга остаются еще непонятными, любая техническая модель ассоциативного воспроизведения всей информации (например, изображения) по ее части (фрагменту изображения) в ассоциации с использованием параллельных процессов обработки информации может быть отнесена к нейросетевым решениям. Некоторые варианты таких решений изложены в [62]. В отношении имитации ассоциативной памяти большим потенциалом обладает бактериородопсин. Многие исследователи полагают, что для достижения этой цели бактериородопсин — почти идеальный материал [13, 63].

В работе [13] по созданию оптической ассоциативной памяти использованы полимерные пленки, в которые встроен генетически измененный бактериородопсин типа D96N. Выбор генетически измененного белка вызван тем, что, хотя пленки из исходного бактериородопсина оптимальны для скоростной записи данных, для обращения с большой базой данных обычно требуются его структуры, модифицированные химическими добавками, и работа в этом направлении ведется. Базовый процесс — фотохромный.

Достижения в области технологий создания процессоров изменили требования к современным информационным системам. На первое место вышли проблемы объема и темпа передачи данных при обращении к оперативной памяти, а не скорость центрального процессора. Решение указанных проблем возможно на основе новых архитектур памяти, обеспечивающих более экономичное хранение информации, локальную обработку информации, расширение объема хранимых данных.

Трехмерная память [13] запасает информацию в трехмерной среде и предоставляет возможность многократного увеличения объема памяти. Архитектура с использованием разветвленного фотоцикла бактериородопсина, рассматриваемая здесь, является одним из альтернативных подходов и имеет несколько важных преимуществ. Такая схема позволяет упростить (по сравнению с голографической ассоциативной памятью) оптическую конструкцию, использовать более дешевые полупроводниковые лазеры, снизить цену и повысить надежность устройства.

В устройстве, реализующем разветвленный фотоцикл, осуществляется разделение по времени процессов воздействия на бактериородопсинсодержащую среду излучения на различных длинах волн в соответствии с характерными временами жизни интермедиатов белка и их спектральными характеристиками. Ассоциативная память функционирует, присваивая состоянию бактериородопсина значение 0 и обоим состояниям P и Q в фотоцикле значение 1. Допускается возможность параллельной записи и считывания, а также постраничного стирания информации.

Модель оптической ассоциативной памяти представляет собой белок в полиакриламидном геле, запечатанном в полиметилметакрилатной флуоресцентной кювете длиной и шириной ~1 см и высотой ~2 см. Поддержание содержания воды в полимере критично для стабилизации характеристик белок-полимерной матрицы.

Метод комплексной оценки функциональных свойств материалов на основе бактериородопсина

Функциональные свойства пленок бактериородопсина определяются совокупностью физических параметров фотоциклических процессов превращения белка (квантовый выход реакции фотоизомеризации, время жизни интермедиатов, показатели преломления и поглощения и др.). Измерение каждого отдельного физического параметра чрезвычайно трудоемко. В [64] предложен метод комплексной оценки функциональных свойств материалов на основе бактериородопсина, позволяющий по результатам одного относительно простого экспериментального измерения оценивать параметры пленок с хорошей информативностью и оперативностью. Метод опирается на модель, описывающую процессы фотовозбуждения и релаксации бактериородопсинсодержащих сред, развиваемые под действием излучения. Модель выражается кинетическим уравнением, отражающим распределение концентраций между молекулами в состояниях Br570 и M412 (см. рис. 3).

$$\frac{dN_1}{dt} = -\sigma_1 \cdot A_1 \cdot \frac{P}{h\nu} \cdot N_1 + \frac{1}{\tau} \cdot N_2$$

где N_1 — концентрация Br570; N_2 — концентрация M412, σ_1 — сечение поглощения Br570 (на длине волны воздействующего излучения); A_1 — квантовый выход фотореакции; P — плотность мощности воздействующего излучения; τ — время жизни интермедиата M412; h — постоянная Планка; ν — частота возбуждающего света.

В качестве основного критерия для комплексной оценки функциональных свойств материалов на основе бактериородопсина удобно использовать коэффициент фотоиндуцированного перехода молекул белка из исходного состояния Br570 в состояние M412 (см. рис. 3).

$$k_{570}(t) = \frac{N_2(t)}{N_0} = \frac{N_0 - N_1(t)}{N_0}$$

где $N_0 = N_1 + N_2$ — общая концентрация молекул белка.

Используя закон Бугера—Ламберта—Бера, коэффициент фотоиндуцированного перехода молекул можно рассчитать из экспериментальных данных регистрации изменения пропускания пленками бактериородопсина тестирующего излучения $\lambda = 570$ нм при освещении возбуждающим излучением:

$$k_{570}(t) = \frac{\lg(I(t)/I_1)}{\lg(I_1/I_0)}$$

где I_0 — интенсивность падающего тестирующего излучения; I_1 — интенсивность прошедшего тестирующего излучения в отсутствие возбуждающего излучения; $I(t)$ — интенсивность прошедшего тестирующе-

го излучения при действии возбуждающего излучения в момент времени t .

На базе тех же экспериментальных данных решением уравнения, выражающего распределение концентраций между молекулами в состояниях Br570 и M412, для производной в точке $t = 0$ (начало действия возбуждающего излучения) можно получить оценку квантового выхода фотореакции A_1 , а для производной в точке $t = t^*$ (окончание действия возбуждающего излучения) — оценку времени жизни τ интермедиата M412.

Модификация бактериородопсина и сред на его основе

В ходе исследований свойств и механизмов функционирования бактериородопсина был выявлен ряд особенностей в поведении белка, позволяющих разработать набор методов направленного изменения его свойств. Можно выделить несколько основных подходов: замещение одного или нескольких аминокислотных остатков в определенных положениях молекулы бактериородопсина методами сайт-специфичного мутагенеза или геной инженерии; замещение природного хромофора на модифицированный; использование химических веществ или физических воздействий различного рода (низких температур, электрических полей, уровня влажности, pH и др.); сочетание нескольких из перечисленных выше методов.

Модифицированные бактериородопсинсодержащие среды

Приемы оптимизации и управления функциональными свойствами бактериородопсинсодержащих сред посредством физико-химических воздействий приведены в [65—69]. Характерный пример сочетания факторов химической модификации среды и применения генетически измененных штаммов демонстрируют пленки штаммов ET1001 и D96N, полученные из суспензии с добавлением тетрабората натрия при мольном соотношении белок : тетраборат натрия 1:100. Для пленок бактериородопсина штамма ET1001 коэффициент фотоиндуцированного перехода молекул $k_{570}(t)$ больше на 20—50% по сравнению с немодифицированными пленками. Для образцов штамма D96N отмечено увеличение $k_{570}(t)$ на 100—150%.

При изучении немодифицированных пленок бактериородопсина установлено, что наибольшие значения коэффициента $k_{570}(t)$ в интервале 0,5—0,7 пленки показывают сразу после их получения, а через сутки коэффициент снижается до 0,2—0,25 и остается на этом уровне длительное время. Это объясняется тем, что в первоначально сформированных пленках молекулы бактериородопсина образуют структуру, которая со временем разрушается вследствие тепловых колебаний. Поэтому одной из важнейших задач является стабилизация пленок и сохранение начальных повышенных значений чувствительности в течение всего периода их эксплуатации. Решением этой задачи может быть создание дополнительных связей (ковалентных или водородных) между молекулами белка при использовании химических реагентов.

В [70] изучено влияние *n*-фенилендиамина и глутарового альдегида на фотохромные свойства пленок бактериородопсина штамма ET1001. Установлено, что образцы с мольным соотношением белка и *n*-фенилен-

диамин 1:3, 1:6 и 1:9 сохраняют повышенные значения $k_{570}(t)$ (0,35—0,5) по сравнению с немодифицированными пленками (0,25—0,33) в течение 12 сут. Стабилизация первоначально образующейся структуры бактериородопсина объясняется тем, что *n*-фенилендиамин способен взаимодействовать с карбоксильными группами глутаминовой и аспарагиновой кислот.

При стабилизации пленок с помощью глутарового альдегида, образующего связи с аминогруппами лизина молекул бактериородопсина, в исходную суспензию вводили тетраборат натрия. Образцы, полученные при мольном соотношении бактериородопсина и глутарового альдегида 1:5, имели значение $k_{570}(t) \geq 0,45$. Исследование динамики изменения значений коэффициента распада $k_{570}(t)$ для этих пленок показало, что образцы сохраняют высокие значения $k_{570}(t) \geq 0,45$ на протяжении 120 сут. Через 330 сут. коэффициент снизился до 0,3.

Генетически измененные структуры бактериородопсина

К настоящему времени получен целый ряд генетически измененных штаммов *Halobacterium salinarum* [71—79]. Имеются данные о свойствах более чем 150 вариантов бактериородопсина с единичными и множественными заменами аминокислот. Выделены области структуры белка, в которых замена аминокислотных остатков вызывает значительные изменения важнейших характеристик: положение максимума спектра поглощения ($\lambda_{\max} = 570$ нм), световую адаптацию, кинетику фотопревращений М-интермедиата, эффективность транспорта протона.

Определены те мутации, которые изменяют λ_{\max} пигмента более чем на 10 нм (при выборе этого значения учитывали, что в области 570 нм бактериородопсин имеет достаточно широкую полосу поглощения с полушириной около 70 нм). Выделены аминокислотные остатки, снижающие эффективность транспорта протонов как минимум на один порядок.

Представлена выборка тех аминокислотных остатков, замена которых изменяет скорость образования и распада М-интермедиата более чем в пять раз.

Следует отметить, что существуют структурные области бактериородопсина, замена аминокислот в которых незначительно влияет на свойства белка. Характерно, что в основном они расположены по периферии белковой молекулы.

Особый интерес представляет безретиальный генетически измененный штамм JW5. На его основе можно получать аналоги бактериородопсина, не применяя процедуры обесцвечивания пурпурных мембран. Кроме того, появляется возможность реконструкции аналогов бактериородопсина *in vivo* добавлением стабильных аналогов ретиналя к растущей культуре бактерий [80]. Такой подход является одним из наиболее перспективных для создания препаратов технического назначения.

Бактериородопсин с замещенной хромофорной частью

Замещение в бактериородопсине хромофора на аналоги приводит к изменениям в спектре пигмента и оказывает значительное влияние на фотохимические и фотоэлектрические свойства. Некоторые результаты

исследований в этом направлении представлены в работах [81—107].

Поскольку функционирование бактериородопсина определяется как белковой, так и хромофорной частями, возникает возможность путем подбора новых сочетаний хромофор-белок получать перспективные для технического использования препараты. В связи с этим особый интерес вызывают разработки технологии получения аналогов бактериородопсина на основе штаммов ET1001, D96N и JW5, а также функциональных сред на их основе [69].

Ранние исследования фотохромных свойств бактериородопсинсодержащих материалов показали, что одним из наиболее перспективных для технических применений является белок, выделенный из галобактерий штамма D96N [108] (мутант, в аминокислотной последовательности исходного белка остаток аспарагиновой кислоты в положении 96 заменен остатком аспарагина [8, 109]). Время жизни этого белка в форме M412 больше по сравнению с природным штаммом, в то время как его спектр оптического поглощения практически аналогичен спектру поглощения природного белка. Поэтому фотохромные свойства материалов, получаемых на основе штамма D96N с заменой хромофора и введением модифицирующих добавок, представляют значительный интерес.

Были получены и исследованы фотохромные свойства суспензий, сухих пленок и пленок в желатиновой матрице бактериородопсина штаммов ET1001, D96N и JW5 с природным ретиалем, 4-оксоретиалем, 3,4-дидегидроретиалем без химических добавок и с добавкой тетрабората натрия. Аналоги бактериородопсина с 4-оксоретиалем имеют максимум поглощения в области 510 нм, а белки с хромофорной частью в виде 3,4-дидегидроретиналя — в области 610 нм.

Суспензии пурпурных мембран штаммов ET1001 и D96N получали по стандартным методикам, описанным в [109]. Была предложена схема синтеза бактериородопсина с модифицированной частью [110], в котором в качестве исходного белка используется «безретиальный» штамм JW5, идентичный опсину (белковая основа природного бактериородопсина) и, соответственно, не являющийся хромофорным материалом. Данный метод по сравнению с синтезом из бактериородопсина природного штамма имеет то преимущество, что он сокращает процедуру синтеза на несколько стадий.

Согласно экспериментальным данным [110], квантовый выход бактериородопсина штамма D96N в составе суспензии в 10 раз больше, скорость распада формы M412 в 2—3 раза меньше соответствующих параметров бактериородопсина штаммов ET1001 и JW5 в составе суспензий. В результате коэффициент $k_{570}(t)$ для D96N практически в 20 раз больше по сравнению с суспензиями на основе штаммов ET1001 и JW5 (0,42 против 0,02).

Фотохромная чувствительность сухих пленок из штаммов ET1001 и D96N примерно одинаковая. Добавка желатины существенно не меняет характер поведения бактериородопсинсодержащего материала по сравнению с сухой пленкой. Коэффициент $k_{570}(t)$ для пленок бактериородопсина штаммов ET1001 и D96N составляет 0,25—0,30. Для образцов, полученных из белка штамма JW5 + 4-оксоретиналь, после оконча-

ния действия возбуждающего излучения значение $k_{570}(t)$ остается на постоянном уровне — 0,35. Это свойство может быть использовано при создании элементов памяти, для которых начальное состояние можно принять за логический «0», а полученное под действием света ($\lambda = 532$ нм) — за логическую «1».

Для пленок бактериородопсина с 3,4-дидегидроретином получены временные зависимости $k_{570}(t)$, схожие с зависимостями, характерными для материалов с природным ретином, но с заметно худшими параметрами, $k_{570}(t) < 0,2$. Коэффициент $k_{570}(t)$ у пленок на основе штаммов JW5, ET1001 и D96N с 3,4-дидегидроретином с добавлением тетрабората натрия больше на 10—15%, чем у пленок без тетрабората натрия, и равен 0,23—0,25. Введение тетрабората натрия заметного влияния на материалы с 4-оксоретином не оказало.

Высокие значения коэффициента $k_{570}(t)$ для пленок D96N с тетраборатом натрия делают данные материалы перспективными в качестве фоторегистрирующих сред для получения динамических голограмм и создания на их основе устройств голографической интерферометрии [112]. Свойства суспензий и пленок бактериородопсина, выделенного из галобактерий природного штамма, и на основе штамма D96N с 4-оксоретином исследовались также в [113—115].

Полимерные бактериородопсинсодержащие пленки как компоненты функциональных многослойных структур

Характерным примером, наиболее полно характеризующим комплекс конструкторских и технологических проблем, решаемых при разработке устройств на основе бактериородопсина, является создание многослойных функциональных структур для систем хранения и обработки информации [116]. Эти структуры включают в себя волноводные слои с заданным модовым составом, дифракционные решетки ввода-вывода излучения, полимерные бактериородопсинсодержащие пленки.

Материалом матрицы для многослойных структур, обеспечивающим формирование бактериородопсинсодержащих полимерных пленок, может служить желатина, обладающая в этом качестве несомненными преимуществами. В пленках на основе желатины удается получить предельно возможную концентрацию бактериородопсина и избежать агрегации фрагментов пурпурных мембран [117]. Свойства желатины позволяют без ухудшения оптических свойств пленок размещать водорастворимые компоненты-модификаторы, и тем самым создается возможность изменять временные параметры фотоцикла белка.

К пленкам бактериородопсина, входящим в функциональные многослойные оптические структуры, предъявляются довольно жесткие требования [116]. Оптическая плотность должна лежать в пределах 0,8—1,3 при толщине пленки 6—14 мкм. В этом случае изменение поглощения/пропускания составляет 10—50% от первоначального значения при воздействии световых потоков плотностью 10—100 мВт/см² и длительностью 0,1—10 с. Неоднородность толщины пленки < 1% (< 50 нм на длине 10 мм). Отклонение в распределении концентрации бактериородопсина по по-

верхности матрицы от среднего значения не должно превышать 3% (об.).

Технология формирования многослойных структур, совмещающая введение светоотражающих, волноводных и бактериородопсинсодержащих полимерных слоев, включает в себя несколько этапов: приготовление прозрачных, оптически однородных суспензий бактериородопсина с концентрацией до 15 мг/мл и размером частиц не более $8,7 \pm 0,5$ нм; получение оптически прозрачных бактериородопсинсодержащих полимерных смесей; изготовление оптически однородных бактериородопсинсодержащих полимерных слоев с заданными геометрическими параметрами (площадь до 3 см², толщина 6—14 мкм) и оптической плотностью (0,8—1,3 на длине волны 570 нм); совмещение бактериородопсинсодержащих полимерных слоев с волноводными слоями.

Технология позволяет без разрушения белка встраивать минимальные стабильные белковые комплексы (тримеры) в полимерные среды, способные формировать оптически однородные пленки.

В работе [116] представлены функциональные характеристики полимерных бактериородопсинсодержащих пленок при нормальных условиях эксплуатации, а также результаты испытаний этих пленок в составе многослойных структур.

Исследована рабочая область плотности мощности излучения. Установлен порог чувствительности бактериородопсинсодержащих полимерных пленок, он соответствует 0,1 мВт/см² (для сравнения различных бактериородопсинсодержащих материалов здесь и далее используется понятие чувствительности как значение изменения поглощения при воздействии в течение 10 с излучения с плотностью мощности 23,2 мВт/см²). Максимальная использованная плотность мощности $P = 400$ мВт/см² приводила к нагреву образцов на 3—4 °С за время измерения (5—6 с). При $P = 100$ мВт/см² пропускание бактериородопсина при $\lambda = 570$ и 610 нм увеличивается в 4,5 и 3 раза, соответственно, а при $\lambda = 410$ нм — уменьшается в 2,5 раза по сравнению с пропусканием необлученного белка. Рекомендуются рабочая область значений P от 1 до 100 мВт/см².

Особый интерес представляет оценка изменения контраста картины светового фронта в результате просветления полимерных пленок. Получена зависимость пропускания пленок на длине волны 632,8 нм от плотности мощности проходящего через образец света. Пропускание возрастает с увеличением плотности мощности лазерного излучения и наблюдается просветление пленок. Из этой зависимости следует возможность увеличения контраста картины светового фронта, создаваемой на поверхности бактериородопсинсодержащей полимерной пленки. Действительно, в рабочей области контраст γ определяется соотношением интенсивностей света в двух разных участках I_1 и I_2 на поверхности пленки:

$$\gamma = |(I_1 - I_2)/(I_1 + I_2)|$$

При прохождении светового фронта через пленку контраст изменяется от исходного 0,82 (для $I_1 = 100$ мВт/см² и $I_2 = 10$ мВт/см²) до 0,84.

Уникальная технологическая «терпимость» бактериородопсина проиллюстрирована в исследованиях [115] на примере технологии изготовления многослойных оптических структур со встроенными элементами интегральной оптики. Изучалось влияние технологических факторов на функциональные свойства бактериородопсинсодержащих пленок в составе многослойных оптических структур.

Влияние нагревания. Нагретая в термостате до $(25 \pm 95) \pm 0,5$ °С пленка подвергалась воздействию (0,25—20 с) излучения HeNe-лазера с плотностью мощности 300 мВт/см². Установлено, что при нагревании пропускание образцов изменяется: при температуре 95 °С пропускание при длине волны $\lambda = 565$ нм увеличивается более чем на 20%, а при $\lambda = 410$ нм уменьшается почти на 10%. Чувствительность уменьшается на обеих длинах волн почти в пять раз, причем на длине волны 565 нм — быстрее.

Совместное действие УФ-излучения и излучения HeNe-лазера. Облучению подвергались образцы, имевшие начальное пропускание ~20% при длине волны 565 нм. В экспериментах использовались источник УФ-излучения с $P \approx 6$ мВт/см² в спектральном диапазоне 310—390 нм и HeNe-лазер непрерывного действия с плотностью мощности излучения, постоянной на протяжении одного эксперимента и составляющей 50, 100, 200, 300 и 600 мВт/см². Экспозиция УФ-излучения была всегда одинаковой, ~5 Дж/см². Обнаружено необратимое увеличение оптического пропускания бактериородопсина с ростом экспозиции излучения лазера от 300 до 3600 Дж/см², составившее от 3 до 7%, соответственно, сверх того, что обусловлено действием только УФ-излучения (~7%).

Действие длительного нагревания. Предварительно оценивали чувствительность образцов на длине волны $\lambda = 570$ нм при воздействии излучения HeNe-лазера с $P \approx 200$ мВт/см². Исследуемые пленки выдерживали при температуре 60—80 °С в течение 30 мин, а затем охлаждали до 22 °С.

В начальный момент после нагревания пленок наблюдалось снижение чувствительности, а затем по мере их остывания и 30-минутной выдержке — полное восстановление свойств бактериородопсина. Необратимое уменьшение чувствительности начиналось при 90 °С. После 30-минутной выдержки при 130 °С и охлаждения до 22 °С чувствительность пленок составила 50%, а после 30 мин выдержки пленок при 140 °С с последующим охлаждением — 15% от начальной.

Действие УФ-излучения. В связи с тем, что в процессе изготовления многослойных структур бактериородопсинсодержащие полимерные пленки подвергаются действию интенсивного УФ-излучения, определялась максимально допустимая экспозиция, при которой необратимые изменения в пигменте не приводят к существенному уменьшению его чувствительности.

Установлено, что совместное воздействие температуры и УФ-излучения ускоряет процесс разрушения бактериородопсина. Для устранения влияния теплового нагрева в эксперименте по изучению воздействия

УФ-света применяли теплоотводящий подложкодержатель и светофильтр УФС5 (толщина 5 мм). Результаты испытаний показали, что при экспозиции УФ-излучения 20 Дж/см² чувствительность пленок при $\lambda = 565$ нм снижается по сравнению с необлученными пленками в 1,6 раза, а при экспозиции 200 Дж/см² — более чем в 2,5 раза. После получения пленкой экспозиции УФ-излучения ~600 Дж/см² коэффициент поглощения снизился в 3 раза, а чувствительность — в 10 раз. Предельно допустимой экспозицией УФ-излучения следует считать, по-видимому, 10 Дж/см², при которой уменьшение чувствительности составляет около 20%.

Оценена энергия активации процесса взаимодействия бактериородопсина с излучением. Для описания тепловой зависимости ресурса пленки использовали формулу Аррениуса. Из результатов измерения пропускания бактериородопсинсодержащих полимерных пленок при совместном действии температуры (23, 60, 80, 90 °С) и соответствующих экспозиций энергии излучения HeNe-лазера ($\lambda = 632,8$ нм) найдено значение энергии активации, $E_a = 1,1 \pm 0,05$ эВ. При нормальных условиях ресурс полимерных пленок составляет более 10⁴ ч. На основании полученного значения энергии активации можно прогнозировать ресурс пленок для режимов работы при других температурах.

Заключение

Полученные результаты исследования материалов на основе бактериородопсина свидетельствуют об исключительной их стабильности (для биологических материалов) и технологической гибкости. Подтверждением этого являются сообщения о подготовке к выпуску на рынок продукции на основе бактериородопсина: голографического интерферометра фирмы «Munich Innovative Biomaterials», GmbH MIB, оптических дисков фирмы «BioFold», США, интерферометров FringeMaker-plus — на базе пленки мутантного белка D96N. Запись на оптические диски основана на двухфотонном возбуждении в слое белка, а считывание — на явлении флуоресценции.

Дальнейшие перспективы в области создания материалов на основе бактериородопсина и их применения связаны с развитием нанотехнологий. В частности, разрабатываются бактериородопсинсодержащие нанокомпозиты, в которых используется эффект влияния нанообъектов на усиление или эффективное подавление люминесценции бактериородопсина, безызлучательную передачу энергии, управление квантовым выходом фотореакции бактериородопсина и временем жизни его спектральных интермедиатов [118]. Функциональные свойства бактериородопсина открывают определенные возможности его применения для разработки наноэлектронных приборов в композиции с фотонными кристаллами — материалами с запрещенной фотонной зоной [119]. Таким образом, сложившееся в настоящий момент понимание физических и химических механизмов самоорганизации, а также физические явления, свойственные наномасштабным структурам, определяют тенденцию к интеграции результатов исследований нано- и биомолекулярных материалов и реализации их в создании чувствительных функциональных устройств.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Oesterhelt D., Stoeckenius W.* Nature (New Biol.), 1971, v. 233, № 39, p. 149—152.
2. *Гребенников Е.П.* Микросистемная техника, 2000, № 2, с. 3.
3. Светочувствительные биологические комплексы и оптическая регистрация информации. Сб. науч. тр. Ред. Г.Р. Иваницкий. Пушкино, 1985, 209 с.
4. *Всеволодов Н.Н.* Биопигменты-фоторегистраторы. Фотоматериал на бактериородопсине. М.: Наука, 1988, 223 с.
5. *Oesterhelt D., Brauchle C., Hampp N.* Quart. Revs Biophys., 1991, v. 24, № 4, p. 425—478.
6. *Скулачев В.П.* Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии. М.: Высшая школа, 1989, с. 102—117.
7. *Рубин А.Б.* Биофизика. Т. 2. М.: КД Университет, 1999, 460 с.
8. *Hampp N.* Chem. Rev., 2000, v. 100, № 5, p. 1755—1776.
9. *Овчинников Ю.А., Абдуллаев Н.Г., Фейгина М.Ю., Киселев А.В., Лобанов Н.А., Назимов И.В.* Биоорг. химия, 1978, т. 4, № 11, с. 1573—1574.
10. *Чернавская Н.М., Чернавский Д.С.* Лазерные методы исследования фотоцикла бактериородопсина. Труды института общей физики РАН. М.: Наука, 1992, т. 38, с. 25—52.
11. *Чернавская Н.М., Чернавский Д.С.* Туннельный транспорт электронов в фотосинтезе. М.: МГУ, 1977, с. 180.
12. *Haronian D., Lewis A.* Appl. Opt., 1991, v. 30, № 5, p. 597—608.
13. *Zeisel D., Hampp N.* J. Phys. Chem., 1992, v. 96, № 19, p. 7787—7792.
14. *Birge R.R.* Ibid., 1999, v. 103, p. 10746—10766.
15. *Haronian D., Lewis A.* Appl. Opt., 1991, v. 30, № 5, p. 597—608.
16. *Siebert F., Mantele W., Kreuz W.* FEBS Lett., 1982, v. 41, p. 82—87.
17. *Алексеев А.С., Валянский С.И., Савранский В.В.* Тр. ИОФАН, 1992, № 38, с. 133—150.
18. *Гребенников Е.П., Девятков А.Г.* Мат. 1 Всерос. науч. конф. «Молекулярная физика неравновесных систем». Иваново: ИВГУ, 1999, с. 103—106.
19. Патент RU 2077570 C1, 1997.
20. Патент UA 17960 A, 1997.
21. Патент RU 9401107 C1, 1996
22. Патент UA 2893 A, 1994.
23. Патент UA 17958 A, 1997.
24. Патент GE 910 U, 2002.
25. *Raymond J.C., Sistro W.R.* Arch. Mikrobiol., 1967, v. 59, № 1, p. 255—268.
26. *Kushner D.J.* Biotechnol. and Bioeng., 1966, v. 8, № 2, p. 237—245.
27. Патент RU 2072360 C1, 1997.
28. *Eisenbach M.* FEBS Lett., 1977, v. 81, p. 77—80.
29. *Eisenbach M., Garty H.* Bioenergetics of membrane. Ed. 1. Amsterdam: Packer, 1977, p. 119—128.
30. *Yoguzhinsky L.S.* Nature, 1976, v. 259, p. 494—496.
31. *Hwang S.B., Korenbrot J.I., Stoeckenius W. J.* Membrane Biol., 1977, v. 36, № 1, p. 115—135.
32. *Korenbrot J.I.* Meth. Enzymol., 1982, v. 88, p. 45—55.
33. *Богуславский Л.И., Бойцов В.Г., Волков А.Г.* Биоорг. химия, 1976, № 2, с. 1125—1131.
34. *Hwang S.B., Korenbrot J.I., Stoeckenius W.* Bioenergetics of membranes. Ed. 1. Amsterdam: Parker, 1977, p. 134—147.
35. *Clarrk N.A., Rothshild K.J.* Biophys. J., 1980, v. 31, p. 65—96.
36. *Korenstein R., Hess B.* Meth. Enzymol., 1982, v. 88, p. 180—193.
37. *Hwang S.B., Korenbrot J.I., Stoeckenius W.J.* Membrane Biol., 1977, v. 36, № 1, p. 115—135/
38. *Hwang S.B., Korenbrot J.I., Stoeckenius W.* Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 509, № 3, p. 300—317.
39. *Maximychew A.V., Kholomansky A.S., Levin E.V., Rambidi N.G., Chatorovsky S.K., Kononenko A.A., Erokhi, V.V., Chekulava L.N.* Advanced materials for optics and electronics, 1992, v. 1, p. 105—115.
40. *Chen Jong-Chen, Conrad M.* Physica D., 1994, v. 75, p. 417—437.
41. *Gtrwert K., Hess B.* Proc. of a conf. In memory of Laura Eisenstein. Urbana, Champaign: UniV.III, Press, 1987, p. 144—148.
42. *Зубов Б.В.* Тр. ИОФАН, 1992, № 38, с. 151—192.
43. *Thoma R., Hampp N. e. a.* Opt. Lett., 1991, v. 16(9), p. 651—653.
44. *Downie J.D.* Appl. Opt., v. 34, № 23, p. 5210—5217.
45. *Birge R.R., Gross R.B. e. a.* Cryst. Liq. Crys. Sci. Technol. B., 1992, v. 3, p. 133—148.
46. *Fitzpatrick C., Yang C.M., Fourguette D.* Opt. Eng., 1998, v. 37(6), p. 1708—1713.
47. *Imam H., Lindvoid L.R., Ramanujan P.S.* Opt. Lett., 1995, v. 20(2), p. 225—227.
48. *Голдобин И.С., Гребенников Е.П., Адамов Г.Е.* Системы и средства связи, телевидения и радиовещания, 2002, №1, с.2.
49. *Choi H.-G., Min J., Choi J.-W., Lee W.H.* Biosensors & Bioelectronics, 1998, v. 13, p. 1069—1075
50. *Choi H.-G., Jung W.-C. Min, J., Lee W.H., Choi J.-W.* Ibid., 2001, v. 16, p. 925—935.
51. *Min J., Choi J.-W., Lee W.H., Kim U.R.* Ibid., 1998, v. 13, p. 1151—1155.
52. *Галушкин А.Н.* Теория нейронных сетей. М.: Мир, 1965.
53. *Shelton D.P.* Opt. Lett., 1977, v. 22(12), p. 1728—1730.
54. *Oesterhelt D., Stoeckenius W.* Meth. Enzymol., 1974, v. 31, p. 667—678.
55. *Varo G.* Acta Biol. Acad. Sci. Hung., 1982, v. 32, p. 301—310.
56. *Подвизин Н.П., Макаров Ф.Н., Шеленин Ю.Г.* Элементы структурно-функциональной организации зрительно-глазодвигательной системы. Ленинград: Наука, 1986.
57. *Miyasaka E., Koyama K., Iton I.* Science, 1992, v. 255, p. 342—344.
58. *Koyama K., Yamguchi N., Miyasaka T.* Ibid., 1994, v. 265, p. 762—765.
59. *Takei H., Lewis A., Chen Z., Nebenzahl I.* Appl. Opt., 1991, v. 30, № 4, p. 500—508.
60. *Rodieck R.W., Stone J.J.* Neurophysiol., 1965, v. 28, p. 833—849.
61. *Marr M., Hildreth E.* Theory of Edge Detection. Proc. R. Soc., London, Ser. B 207, 1980, p. 187—271.
62. *Уоссермен Ф.* Нейрокомпьютерная техника: теория и практика. М.: Мир, 1992, 237 с.
63. *Gross R.B., Can K., Izgi C., Birdge R.R.* SPIE Journal, 1992, v. 1662, p. 186—195.
64. *Адамов Г.Е., Девятков А.Г., Голдобин И.С., Гребенников Е.П.* Мат. 6 Межд. науч. конф. «Молекулярная биология, химия и физика неравновесных систем в неравновесных системах». Иваново-Плес, 2002, с. 208—211.
65. *Stoeckenius W., Lozier R.H., Bogomolni R.A.* Biochim. et biophys. acta, 1979, v. 505, № 3, p. 215—278.
66. *Eisenbach M., Caplan S.R.* Ibid., 1979, v. 554, № 2, p. 281—292.
67. *Imasheva E.S., Balashov S.P., Ebrey T.O., Chen N., Crouch R.K., Menick D.R.* Biophys. J., 1999, v. 77, № 5, p. 2750—2763.
68. *Tittor J., Soell C., Oesterhelt D., Butt H.J., Bamberg E.* EMBO J., 1989, v. 8, № 11, p. 3477—3482.

69. Адамов Г.Е., Гнатюк Л.Н., Голдобин И.С., Гребенников Е.П., Девятков А.Г., Ходонов А.А., Складнев Д.А. Нанотехнологии и фотонные кристаллы. Мат. I Межрегионального семинара. Йошкар-Ола: МарГТУ, 2003, с. 166—171.
70. Адамов Г.Е. Высокие технологии в промышленности России. Мат. VIII Межд. научно-техн. конф. М.: ОАО «ЦНИТИ «Техномаш», 2002, с. 84—89.
71. Brown L.S. Biochim. et biophys. acta, 2000, v. 1460, № 1, p. 49—59.
72. Krebs M.P., Mollaaghababa, Khorana H.G. Proc. Natl.Acad. Sci. USA, 1993, v. 90, № 5, p. 1987—1991.
73. Броун Л.С. Биохимия, 2001, т. 66, № 11, с. 1546—1554.
74. Sopra J., Oesterhelt D. J. Biol. Chem., 1989, v. 264, № 22, p. 13043—13048.
75. Dunn R.J., Hackett N.R., McCoy J.M., Chao B.H., Kimura K., Khorana H.G. J. Biol. Chem., 1987, v. 262, № 19, p. 9246—9254.
76. Karnik S.S., Nassal M., Doi T., Jay E., Sgaramella V., Khorana H.G. Ibid., 1987, v. 262, № 19, p. 9255—9263.
77. Nassal M., Mogi T., Karnik S.S., Khorana H.G. Ibid., 1987, v. 262, № 19, p. 9264—9270.
78. Ni B., Chang M., Duschl A., Lani J. Gene, 1990, v. 90, № 1, p. 169—172.
79. Braiman M.S., Stern L.J., Chao B.H., Khorana H.G. J. Biol. Chem., 1987, v. 262, № 19, p. 9271—9276.
80. Sieff F., Wallat I., Ermann P., Heyn M.P. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985, v. 82, № 10, p. 3227—3231.
81. Мицнер Б.И., Ходонов А.А., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П. Биоорг. химия, 1986, т. 12, № 1, с. 5—53.
82. The Retinoids. V. 1, 2. Eds. M.B. Sporn, A.B. Roberts, D.S. Goodman. Orlando: Acad. Press, 1984, p. 424, 446.
83. Chemistry and Biology of Synthetic Retinoids. Eds. M.I. Dawson, W.H. Okamura. Boca Raton: CRC Press, 1990, 615 p.
84. Khodonov A.A., Kirillova Yu.G., Eremin S.V., Khitrina L.V. Abst. VI-th Int. Conf. on Retinal Proteins. Leiden, The Netherlands, 1994, p. 119.
85. Tokunaga F., Govindjee R., Ebrey T.G., Crouch R. Biophys. J., 1977, v. 19, № 2, p. 191—198.
86. Crouch R.K., Scott R., Ghent S. Govindjee R., Chang Ch-H., Ebrey T. Photochem. Photobiol., 1986, v. 43, № 3, p. 297—303.
87. Oesterhelt D., Christoffel V. Biochem. Soc. Transact., 1976, v. 4, № 4, p. 556—559.
88. Balogh-Nair V., Carriker J.D., Honig B., Kamat N., Motto M.G., Nakanishi K., Sen R., Sheves M., Tanis M.A., Tsujimoto K. Photochem. Photobiol., 1981, v. 33, № 4, p. 483—488.
89. Nakanishi K., Balogh-Nair V., Arnaboldi N., Tsujimoto K., Honig B. J. Am. Chem. Soc., 1980, v. 102, № 27, p. 7945—7947.
90. Mao B., Govindjee R., Ebrey T.O., Arnaboldi M., Balogh-Nair V., Nakanishi K. Biochemistry, 1981, v. 20, № 2, p. 428—435.
91. Gartner W., Oesterhelt D., Seifer-Schiller E., Towner P., Hopf H., Bohm I. J. Am. Chem. Soc., 1983, v. 106, № 19, p. 5654—5659.
92. Данишина С.В., Драчев А.Л., Драчев Л.А., Каулен А.Д., Мицнер Б.И., Хитрина Л.В. Ходонов А.А. Биоорг. химия, 1989, т. 15, № 3, с. 307—312.
93. Хитрина Л.В., Еремин С.В., Ходонов А.А., Каулен А.Д. Биол. мембраны, 1994, т. 11, № 5, с. 575—576.
94. Хитрина Л.В., Каулен А.Д., Еремин С.В., Ходонов А.А. Молек. биология, 1995, т. 29, № 6, с. 1398—1407.
95. Данишина 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, т. 34, № 4, с. 623—626.
96. Broek A.D., Muradin-Szweykowska M., Lugtenburg J., van der Bend R.L., van Dijke P. W.M. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas., 1983, v. 102, № 1, p. 42—46.
97. Broek A.D., Muradin-Szweykowska M., Courtin J.M.L., Lugtenburg J. Ibid., 1983, v. 102, № 1, p. 46—51.
98. Серебряный В.А., Мицнер Б.И., Закус В.И., Цетлин В.И. Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 11, с. 1731—1733.
99. Shealy Y.F., Hosmer C. A., Riordan J.M. Synthesis, 1993, № 11, p. 1095—1098.
100. Rao V.J., Derguini F., Nakanishi K., Tagushi T., Hosoda A., Hanzava Y., Kobayashi Y., Pande S.M., Callender R.H. J. Am. Chem. Soc., 1986, v. 108, № 19, p. 6077—6078.
101. Fang J.M., Carriker J.D., Balogh-Nair V., Nakanishi K. Ibid., 1983, v. 105, № 15, p. 5162—5164.
102. Кириллова Ю.Г., Еремин С.В., Хитрина Л.В., Мицнер Б.И. Биоорг. химия, 1993, т. 19, № 8, с. 825—835.
103. Кириллова Ю.Г., Хитрина Л.В., Ходонов А.А. Биол. мембраны, 1993, т. 10, № 4, с. 447—448.
104. Kirillova Yu.G., Eremin S.V., Khitrina L.V., Khodonov A.A. Abstr. of VI-th Int. Conf. on Retinal Proteins. Leiden, The Netherlands, 1994, p. 120.
105. Groesbeek M., Kirillova Yu.G., Boeff R., Lugtenburg J. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas., 1994, v. 113, p. 45—52.
106. Khodonov A.A., Khitrina L.V. Abstr. of VI-th Int. Conf. on Retinal Proteins. Leiden, The Netherlands, 1994, p. 118.
107. Danshina S.V., Drachev A.L., Drachev L.A., Eremin S.V., Kaulen A.D., Khitrina L.V., Mitsner B.I. Arch. Biochem. and Biophys., 1990, v. 279, № 2, p. 225—231.
108. Min J., Choi J.-W., Lee W.H., Kim U.R. Biosensors & Bioelectronics, 1998, v. 13, p. 1151—1155.
109. Holz M., Drachev L.A. e. a. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, v. 19, p. 2167—2171.
110. Адамов Г.Е., Девятков А.Г. и др. 6-ая Межд. конф. «Молекулярная биология, химия и физика неравновесных систем», Иваново-Плес, 2002, с. 208—211.
111. Mironova E.V., Khodonov A.A. e. a. Abstrs of Int. conf. «Biocatalysis-2002: fundamentals & applications», Moscow, Russia, 2002, p. 115—116.
112. Адамов Г.Е., Гребенников Е.П., Девятков А.Г. Харьковская научная ассамблея. Сб. докл. 14-го Межд. симп. «Тонкие пленки в оптике и электронике», 2002, с. 101—104.
113. Stuart J.A., Marcy D.L. e. a. Synthetic Metals., 2002, v. 127, p. 3—15.
114. Хитрина Л.В., Лазарова Ц.Р. Биохимия, 1989, т. 54, № 1, с. 136—139.
115. Vanhanen J., Leppanen V.P. e. a. Optical Materials, 1999, v. 12, p. 473—480.
116. Рамбиди Н.Г., Гребенников Е.П., Адамацкий А.И., Девятков А.Г., Яковенчук Д.В. Биомолекулярные нейросетевые устройства. Кн. 33. Сер.: Нейрокомпьютеры и их применение. Под ред. Н.Г. Рамбиди. М.: ИПРЖР, 2002, 223 с.
117. Основы технологии светочувствительных материалов. Под ред. В.И. Щербакова. М.: Химия, 1977.
118. Гребенников Е.П., Адамов Г.Е. Высокие технологии в промышленности России (материалы и устройства функциональной электроники и нанофотоники). Мат. XI Межд. научно-техн. конф. М.: МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2005, с. 108—116.
119. Satoilovich M.I., Belyanin A.F., Grebennikov E.P., Guriyanov A.V. Nanotechnology, 2002, v. 13, p. 763—767.