**Моделирование одно- и двухфотонных спектров поглощения конформационно нежесткого внутриклеточного кальциевого индикатора в растворе**

***Назарова В.И., Волдаева О.Н., Клещина Н.Н.***

*Студент, 6 курс специалитета*

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*E-mail: nazarovavictoria194@gmail.com*

Fura-2 — флуоресцентный индикатор, который широко используется для изучения осцилляций концентрации ионов кальция в тромбоцитах, спектр поглощения которого смещается в коротковолновую область при связывании с ионами кальция. Однако Fura-2 имеет ряд ограничений в применении для визуализации внутриклеточной концентрации кальция в биологических образцах с помощью методов лазерной сканирующей микроскопии из-за повреждающего действия коротковолнового света и быстрого фотообесцвечивания, что сильно ограничивает временной интервал, в течение которого могут быть проведены измерения. Эта проблема может быть решена с помощью двухфотонного возбуждения Fura-2 лазерным излучением ближнего инфракрасного диапазона, что позволяет получать изображения непрерывного линейного сканирования в течение длительного времени без фототоксичности и фотообесцвечивания. Целью данной работы является разработка теоретического подхода для моделирования спектров однофотонного и двухфотонного поглощения конформационно нежестких комплексообразующих полианионных красителей с использованием методов молекулярной динамики и квантовой химии высокого уровня точности.

В данной работе представлена методология моделирования спектров однофотонного (OPA) и двухфотонного (TPA) поглощения конформационно нежестких красителей в растворе с учетом однородного и неоднородного уширения, которая включает следующие этапы: (i) молекулярно-динамическое моделирование сольватированной системы с использованием ансамбля NPT при 300 K; (ii) оптимизация геометрии с помощью метода КМ/ММ (PBE0/(aug)-cc-pVDZ//CHARMM) структур, взятых вдоль траектории, и их конформационный анализ; (iii) расчет вертикальных энергий возбуждения, дипольных моментов перехода и средних дипольных моментов в основном и возбужденных состояниях с использованием инвариантной многоконфигурационной квазивырожденной теории возмущений XMCQDPT2 в сочетании с методом потенциалов эффективных фрагментов EFP для учета эффектов сольватации; (iv) оценка однородного уширения путем расчета вибронного спектра в модели линейной связи в приближении Франка-Кондона; (v) вычисление общей формы спектра при одно- и двухфотонном возбуждении с явным учетом однородного и неоднородного уширения.

Показано, что вклад неоднородного уширения является ключевым при моделировании спектров одно- и двухфотонного поглощения красителя Fura-2 в растворе. Полученные результаты позволяют объяснить наблюдаемый сдвиг максимумов поглощения при одно- и двухфотонном возбуждении в коротковолновую область при связывании ионов кальция красителем. При использовании многоуровневой модели TPA были выявлены факторы, влияющие на сечение двухфотонного поглощения Fura-2, и оценен его потенциал в качестве флуоресцентного зонда в условиях двухфотонного возбуждения. Анализ характера низколежащих электронно-возбужденных состояний позволяет объяснить зависимость фотофизических свойств красителя от полярности растворителя.

*Авторы выражают благодарность научному руководителю Боченковой А.В. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-73-00145) с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова.*