ISSN 1561-8331 (Print)
ISSN 2524-2342 (Online)
УДК 51-76:615.277.3:004.94
https://doi.org/10.29235/1561-8331-2026-62-4-309-322

Поступила в редакцию 11.08.2026
Received 11.08.2026

П. А. Хорн[1], Д. А. Федотов[1], А. Н. Хныкин[1], А. А. Анучина[1], Е. В. Малышева[2], Н. С. Ильинский[1], И. С. Охрименко[1], А. В. Павлов[1], В. В. Павлов[1], М. В. Колесник[3], А. О. Демкина[3], И. Д. Рубинштейн[1], А. Х. Талдаев[1], А. В. Мишин[1], В. И. Борщевский[1]

[1]Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия
[2]Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия
[3]Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

ПРЕДСКАЗАНИЕ ФОТОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВЫХ ПРИРОДНЫХ РОДОПСИНОВ ДЛЯ ПОИСКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИНСТРУМЕНТОВ

Аннотация. Микробные родопсины представляют собой ретиналь-содержащие мембранные белки, преобразующие энергию света в ионный транспорт или внутриклеточные сигналы и применяемые в качестве инструментов оптогенетики. Поиск новых родопсинов в метагеномах природных образцах может расширить набор таких инструментов. Целью данной работы было выявить новые родопсины в метагеномах природных образцов из гиперсоленого оз. Эбейты (Омская обл., Россия) и оценить их предполагаемую принадлежность и спектральные свойства. После культивирования микроорганизмов провели полногеномное секвенирование, сборку и аннотацию метагеномов, поиск родопсиноподобных последовательностей и филогенетический анализ. Пространственные модели трех отобранных белков с ретиналем получили с помощью AlphaFold3. Для исследования ретиналь-связывающих карманов использовали полноатомную молекулярную динамику в мембранном окружении. Максимум поглощения одного из родопсинов оценивали методом QM/MM с учетом ближайших аминокислотных остатков и молекул воды. Три изучаемые белковые последовательности удалось отнести к сенсорным родопсинам I типа. Для одного белка расчетное положение максимума поглощения составило 576 нм; при рассмотрении различных ориентаций протонов карбоксильных групп получен диапазон 545–590 нм. Объединение метагеномного анализа, филогенетики, структурного моделирования, молекулярной динамики и QM/MM-расчетов позволило провести предварительную компьютерную характеристику новых родопсинов. Исследованные белки представляют собой перспективные кандидаты для последующей экспериментальной проверки и оценки их пригодности для оптогенетики.

Ключевые слова: квантово-механические расчеты, молекулярная динамика, новые природные родопсины, метагеномы, оптогенетика

Для цитирования. Предсказание фотохимических свойств новых природных родопсинов для поиска потенциальных оптогенетических инструментов / П. А. Хорн, Д. А. Федотов, А. Н. Хныкин [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя хімічных навук. – 2026. – Т. 62, № 4. – С. 309–322. https://doi.org/10.29235/1561-8331-2026-62-4-309-322

P. A. Khorn[1], D. A. Fedotov[1], A. N. Khnykin[1], A. A. Anuchina[1], E. V. Malysheva[2], N. S. Ilyinsky[1], I. S. Okhrimenko[1], A. V. Pavlov[1], V. V. Pavlov[1], M. V. Kolesnik[3], A. O. Demkina[3], I. D. Rubinshteyn[1], A. Taldaev[1], A. V. Mishin[1], V. I. Borshchevskiy[1]

[1]Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia
[2]I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Russian Ministry of Health, Moscow, Russia
[3]Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

PREDICTING RHODOPSIN PHOTOCHEMISTRY TO BIOPROSPECT NEW OPTOGENETIC TOOLS

Abstract. Microbial rhodopsins are retinal-containing membrane proteins that convert light energy into ion transport or intracellular signals and are used as optogenetic tools. The discovery of novel rhodopsins in metagenomes derived from natural samples may expand the repertoire of such tools. The aim of this study was to identify novel rhodopsins in metagenomes obtained from natural samples collected from hypersaline Lake Ebeyty (Omsk Region, Russia) and to assess their predicted classification and spectral properties. Following microbial cultivation, we performed whole-genome sequencing, metagenome assembly and annotation, rhodopsin-like sequence screening, and phylogenetic analysis. Structural models of three selected proteins in complex with retinal were generated using AlphaFold3. All-atom molecular dynamics simulations in a membrane environment were used to investigate their retinal-binding pockets. The absorption maximum of one rhodopsin was estimated using a quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) approach that accounted for the

nearest amino acid residues and water molecules. The three protein sequences were assigned to the sensory rhodopsin I group. For one protein, the predicted absorption maximum was 576 nm; when different proton orientations of the carboxyl groups were considered, the calculated values ranged from 545 to 590 nm. The integration of metagenomic analysis, phylogenetics, structural modeling, molecular dynamics simulations, and QM/MM calculations enabled the preliminary in silico characterization of novel rhodopsins. The proteins investigated represent promising candidates for subsequent experimental validation and assessment of their suitability for optogenetic applications.

Keywords: QM/MM, long-scale MM, new rhodopsins, bioprospecting, optogenetics

For citation. Khorn A. P., Fedotov D. A., Khnykin A. N., Anuchina A. A., Malysheva E. V., Ilyinsky N. S., Okhrimenko I. S., Pavlov A. V., Pavlov V. V., Kolesnik M. V., Demkina A. O., Rubinshteyn I. D., Taldaev A., Mishin A. V., Borshchevskiy V. I. Predicting rhodopsin photochemistry to bioprospect new optogenetic tools. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series*, 2026, vol. 62, no. 4, pp. 309–322 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1561-8331-2026-62-4-309-322

Введение. Оптогенетика представляет собой быстроразвивающуюся биотехнологическую область, развитие которой зависит от появления новых инструментов. К ним относятся микробные родопсины – мембранные белки, поглощающие свет с использованием кофактора ретиналя и преобразующие сигнал в ионные токи и другие клеточные ответы [1]. Родопсины применяются в оптогенетике для точного контроля активности нейронов и органелл.

Поиск новых оптогенетических инструментов может осуществляться по-разному: с помощью мутагенеза существующих родопсинов для придания им желаемых свойств (например, сдвиг спектров поглощения или изменение ионной селективности посредством сайт-направленного мутагенеза) или поиска природных потенциальных инструментов в метагеномных последовательностях [2]. Второй подход обладает преимуществами, однако достаточно трудоемкий и длительный. Для упрощения этого процесса на этапе оценки потенциальной значимости вновь выявленных структур применяют методы молекулярного моделирования и квантовые расчеты, с помощью которых предсказывают характерные спектры поглощения родопсинов.

Для предсказания положения максимума поглощения новых родопсинов использовался гибридный метод, который сочетает преимущества квантовой (QM) и молекулярной (MM) механики для изучения сложных молекулярных систем – QM/MM [3]. С помощью его дана оценка фотохимическим свойствам родопсинов. При этом высокоточная QM использовалась для описания состояния хромофора (ретиналя) и его непосредственного окружения (основание Шиффа, координирующие аминокислотные остатки в кармане связывания), а высокоэффективная MM – для описания состояния остальной части белка. В ходе междисциплинарного исследования трех новых родопсинов, обнаруженных в галофильных микроорганизмах, культивированных из проб, собранных в гиперсоленом оз. Эбейты (Омская обл., Россия), после этапов сбора проб и получения накопительной культуры на их основе выделена метагеномная ДНК и выполнено высокопроизводительное секвенирование. После сборки геномов из метагеномов были определены последовательности, кодирующие белки, гомологичные микробным родопсинам. Филогенетический анализ полученных последовательностей белков выявил наиболее дивергентные и относящиеся к сенсорным родопсинам I типа. С помощью инструментов AlphaFold3 и длительного молекулярного моделирования получены пространственные структуры исследуемых белков, содержащие кофактор и молекулы воды. На основе результатов моделирования проведена геометрическая оптимизация структур и вычислена энергия возбуждения ретиналя. Предполагается, что исследованные родопсины обладают потенциалом в качестве оптогенетических инструментов.

Материалы и методы исследования. *Отбор проб и обогащающее культивирование.* Природные образцы (вода и донные отложения) собирали на оз. Эбейты (Омская обл.) в августе 2024 г., транспортировали в лабораторию при комнатной температуре. Для приготовления накопительных культур объемом 50 мл 23 % MGM-среды инокулировали 0,5 мл отобранной воды и инкубировали при 42 °C в шейкере на протяжении 7 дней. Клетки осаждали центрифугированием (6 000 g, 4 °C) в течение 30 мин для последующего выделения ДНК.

Выделение ДНК и высокопроизводительное секвенирование. Выделение ДНК проводили с использованием набора Dneasy PowerSoil Pro Kit (Qiagen) в соответствии с рекомендациями производителя. Библиотеки для полногеномного секвенирования (WGS) готовили из 500 нг высокомолекулярной ДНК с использованием набора MGI Easy PCR-Free Library Prep Set (MGI Tech). Ферментативную фрагментацию проводили в соответствии с протоколом производителя с после-

дующей селекцией фрагментов длиной 400–450 п. н. С помощью предоставленных в наборе магнитных частиц DNA Clean Beads. Концентрацию полученных библиотек измеряли с использованием системы Qubit Flex (Life Technologies) и набора dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen). Качество приготовленных библиотек оценивали с помощью системы 4200 TapeStation System с набором High Sensitivity D1000 ScreenTape Assay (Agilent). Далее ДНК-библиотеки объединяли в пулы и секвенировали на платформе DNBSEQ-G400 в парноконцевом режиме 2 × 150 п. н. Файлы в формате FastQ получали с использованием программного обеспечения zebracallV2 (MGI Tech).

Сборка метагеномов, аннотация, поиск целевых последовательностей. Полученные данные (метагеномные библиотеки) в формате FastQ после контроля качества прочтений собирали с помощью metaSPAdes 4.2.0 [4]. Открытые рамки считывания (ORF) на собранных метагеномных скаффолдах аннотировали в Prokka 1.14.6 в метагеномном режиме (--metagenome) [5]. Предсказанные аминокислотные последовательности всех пяти сборок объединили в единый набор. Для схлопывания избыточных дубликатов репрезентативные белки кластеризовали Mmseqs2 (easy-cluster, пороги идентичности 0,8 и покрытия 0,9) [6]. По репрезентативным последовательностям кластеров проводили два независимых скрининга: BLAST (blastp, порог E-value 1×10^{-3}) против набора референсных последовательностей родопсинов, и HMMER3 (hmmsearch) [7] с профилями домена PF01036 (бактериородопсин-подобный белок) [8] и специализированными HMM-профилями (7TM, 8TM, HeR). Последовательности, прошедшие хотя бы один из критериев, рассматривали как кандидаты на микробные родопсины для последующего анализа.

Филогенетический анализ новых родопсинов. Учитывая среднюю длину домена микробных родопсинов – около 250 аминокислотных остатков – для дальнейшего анализа отбирали последовательности с длиной > 200 аминокислотных остатков. Финальный набор состоял из 33 аминокислотных последовательностей. Для составления референсного набора взяли 52 последовательности экспериментально охарактеризованных родопсинов с аннотированным доменом PF01036 (бактериородопсин-подобный белок) и/или полученной структурой. Последовательности доменов выделяли с помощью HMMER3. Полученные 40 последовательностей доменов были добавлены к набору из 33 целевых последовательностей. Множественное выравнивание выполняли в программе MUSCLE (v. 5.15.2). Филогенетическое дерево строили с помощью инструмента FastTree (v. 2.1), визуализацию проводили с помощью программы Figtree (v. 1.4.4).

Молекулярное моделирование воды в активный центр новых родопсинов. В качестве стартовых структур использовали модели трех исследуемых родопсинов в комплексе с ковалентно связанным ретиналем, предсказанные с использованием AlphaFold3 [9]. В каждой модели ретиналь располагался в ретиналь-связывающем кармане и был сцеплен с консервативным остатком лизина через протонированное основание Шиффа. Состояния протонирования ионизируемых аминокислотных остатков определяли с использованием PROPKA3 [10]. Эти белок-хромофорные комплексы использовали в качестве исходных структур для подготовки мембранных систем.

Сборку систем проводили с использованием CHARMM-GUI Membrane Builder [11]. Каждый родопсин встраивали в смешанный липидный бислой POPE/POPG, сольватировали водой модели TIP3P и нейтрализовали ионами Na^+/Cl^-. Для всех трех систем использовали расчетную ячейку одинакового размера, составляющую около $100 \times 100 \times 140$ Å^3. Для ретиналя адаптировали CHARMM-совместимые параметры протонированного ретиналевого основания Шиффа, опубликованные в работе S. Zhu, M. F. Brown, S. E. Feller [12].

Подготовленные системы минимизировали методом наискорейшего спуска, после чего проводили многостадийное уравновешивание с позиционными ограничениями на белок, ретиналь и липиды. В ходе уравновешивания ограничения постепенно ослабляли, обеспечивая релаксацию мембраны, растворителя и боковых цепей белка при сохранении исходной геометрии активного центра. Молекулярно-динамическое моделирование проводили в GROMACS [13] с использованием силового поля CHARMM36m [14] и периодических граничных условий. Температуру поддерживали на уровне 303,15 K с помощью термостата V-rescale, давление – на уровне 1 бар с использованием баростата C-rescale. Связь с давлением осуществляли в полуизотропном режиме: размеры расчетной ячейки в плоскости мембраны масштабировались совместно, а размер вдоль нормали к мембране изменялся независимо. Дальнодействующие электростатические вза-

имодействия рассчитывали методом PME, а связи с участием атомов водорода фиксировали алгоритмом LINCS. После уравновешивания для каждой системы проводили основной этап продуктивного МД-моделирования продолжительностью 500 нс с шагом интегрирования 2 фс.

Полученные траектории анализировали для определения положения молекул воды в ретиналь-связывающем кармане, в том числе вблизи протонированного основания Шиффа, ретиналя и полярных аминокислотных остатков активного центра.

QM/MM моделирование. Оценку максимума поглощения новых родопсинов проводили на основе последнего кадра из траектории молекулярной динамики родопсина 1. Структура белка была оптимизирована с использованием гибридного квантово-механического/молекулярно-механического метода (QM/MM). Все QM/MM расчеты проводили с использованием электростатической схемы [15, 16]. Оптимизацию геометрии выполняли с помощью алгоритма L-BFGS [17] в вычислительном пакете Orca v6.1.0 [18] в два этапа. На первом этапе QM-часть оптимизировали с помощью полуэмпирического метода GFN2-xTB [19]. На втором этапе QM-часть переоптимизировали с помощью метода B3LYP [21] с применением cc-pVDZ [20]. В обоих случаях учитывали дисперсионную поправку Гримме (D3BJ) [22]. На всех этапах структурной оптимизации применяли приближение разрешения тождества (RI) [23] со вспомогательным базисным набором, соответствующим атомному. MM-часть описывали с помощью силового поля AMBER FF14SB [24]. QM-часть включала: ретинальный хромофор (RET213), боковые цепи аминокислотных остатков Asp113, Asp83, Tyr59, Asp209, Tyr182, а также молекулы воды WAT670, WAT339, WAT598, WAT1282 и WAT863. Граница между QM- и MM-областями проходила по ковалентной связи Cε–Cδ для хромофора RET213 и по связям Cα–Cβ для аминокислот. MM-часть включала атомы белка и молекул воды, не входящие в QM-область, и подразделялась на подвижную и неподвижную части. Подвижная часть включала атомы белка, находящиеся в радиусе 5 Å от атомов QM-области. Оставшаяся часть белка оставалась неподвижной в процессе оптимизации. Полученные оптимизированные структуры использовали для расчета вертикальных энергий возбуждения. QM-часть была описана с помощью метода алгебраической диаграмматической схемы второго порядка (ADC(2)), в то время как точечные заряды MM-окружения генерировали с помощью силового поля AMBER FF14SB. Вычисления производили в пакете «Турбомоль» (Turbomole) [25]. При расчете возбужденных энергий применяли приближение замороженного ядра (Frozen Core Approximation) [26].

Результаты и их обсуждение. *Филогенетический анализ новых родопсинов.* Филогенетическое дерево родопсин-подобных белков представлено на рис. 1. Последовательности, полученные в результате секвенирования, кластеризуются с известными родопсинами каждой из шести групп: сенсорные родопсины I типа (SRI), сенсорные родопсины II типа (SRII), бактериородопсины (BR), галородопсины (HR), гелиородопсины (HeR), протеородопсины (PR). SRI и SRII формируют две отдельные клады на дереве с максимальной близостью к бактериородопсинам, что согласуется с литературными данными [27]. Три образца (1, 2, 3), расположенные в кластере сенсорных родопсинов I типа, были выбраны для дальнейшего анализа, так как представители этой группы наименее изучены и в настоящее время не имеют экспериментально полученных структур.

Пакет связывания ретиналя в родопсинах. Известно, что заряженные аминокислотные остатки вблизи основания Шиффа (консервативный остаток Lys), с которым ковалентно связан ретиналь, способны оказывать влияние на сдвиг спектра поглощения родопсина и опосредуют функцию, которую выполняет белок [28]. Для того чтобы выявить заряженные аминокислотные остатки, способные оказывать сдвиг спектра поглощения у отобранных в этом исследовании новых родопсинов (1, 2, 3), проанализированы карманы связывания ретиналя у различных клад родопсинов. Для этого использовали кристаллографические структуры с высоким разрешением, приведенные в PDB (Protein Data Bank, с англ. банк данных трехмерных структур белков) (рис. 2).

У бактериородопсина карман связывания отличается компактностью, высокой степенью гидрофобной упаковки и жесткой фиксацией молекулы ретиналя; спектральную настройку здесь существенно определяют остатки Asp85, Asp212, Tyr185, формирующие ионную и водородно-связанную среду вокруг основания Шиффа и влияющие на положение максимума поглощения. Сенсорный родопсин II типа характеризуется большей пластичностью активного центра –

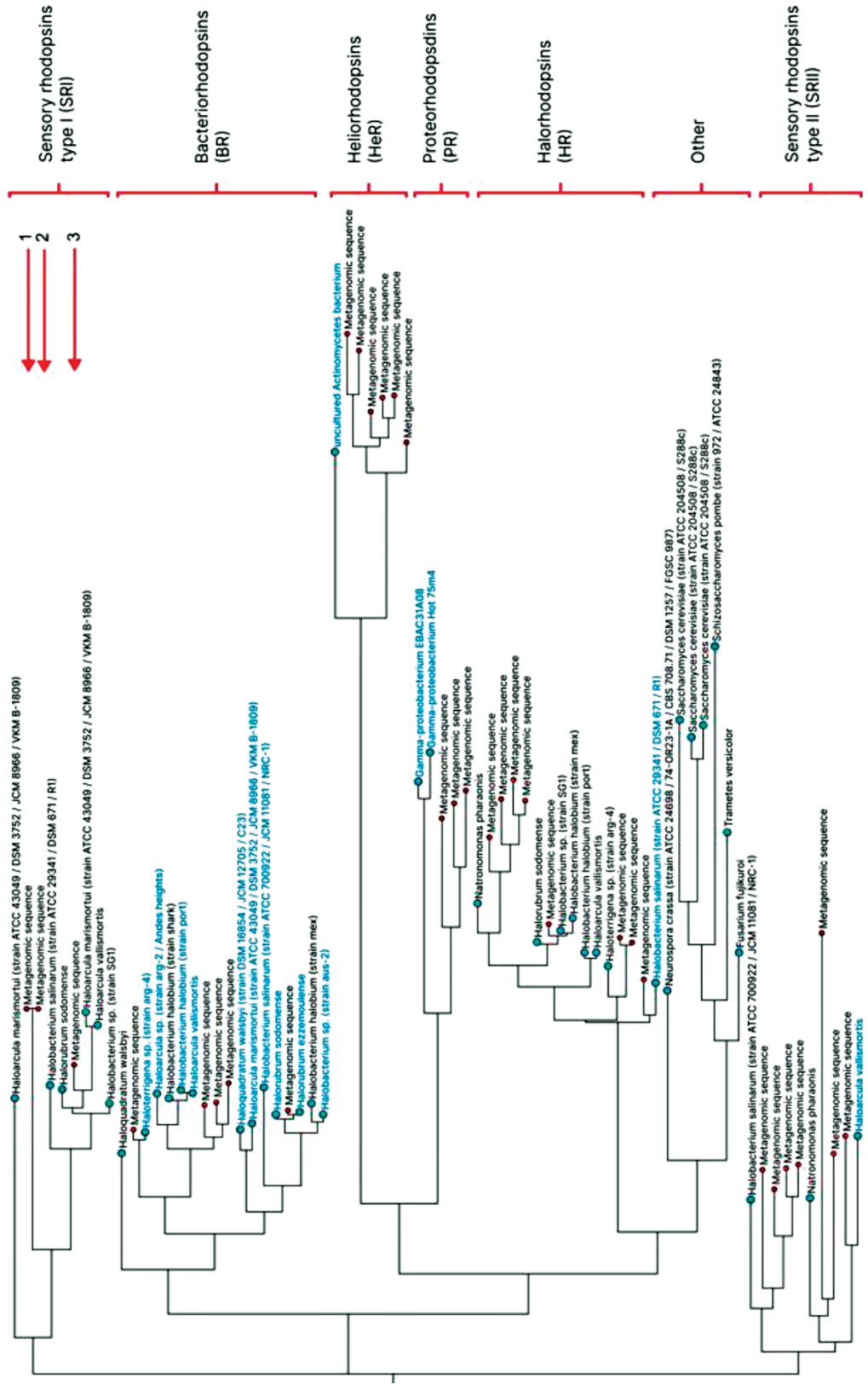


Рис. 1. Филогенетическое дерево родопсин-подобных белков с нанесенными на него целевыми последовательностями (три отобранные для анализа последовательности обозначены стрелками (1, 2, 3); для каждой последовательности указаны видовые названия, синим цветом выделены названия последовательностей с разрешенной структурой; полученные в результате секвенирования последовательности отмечены красными кружками и подписаны «Metagenomic sequence»)

Fig. 1. Phylogenetic tree of rhodopsin-like proteins with mapped target sequences (arrows (1, 2, 3) indicate the three sequences selected for analysis; species names are shown for each sequence; domains with resolved structures are highlighted in blue; sequencing results are marked with red circles and labeled as «Metagenomic sequence»)

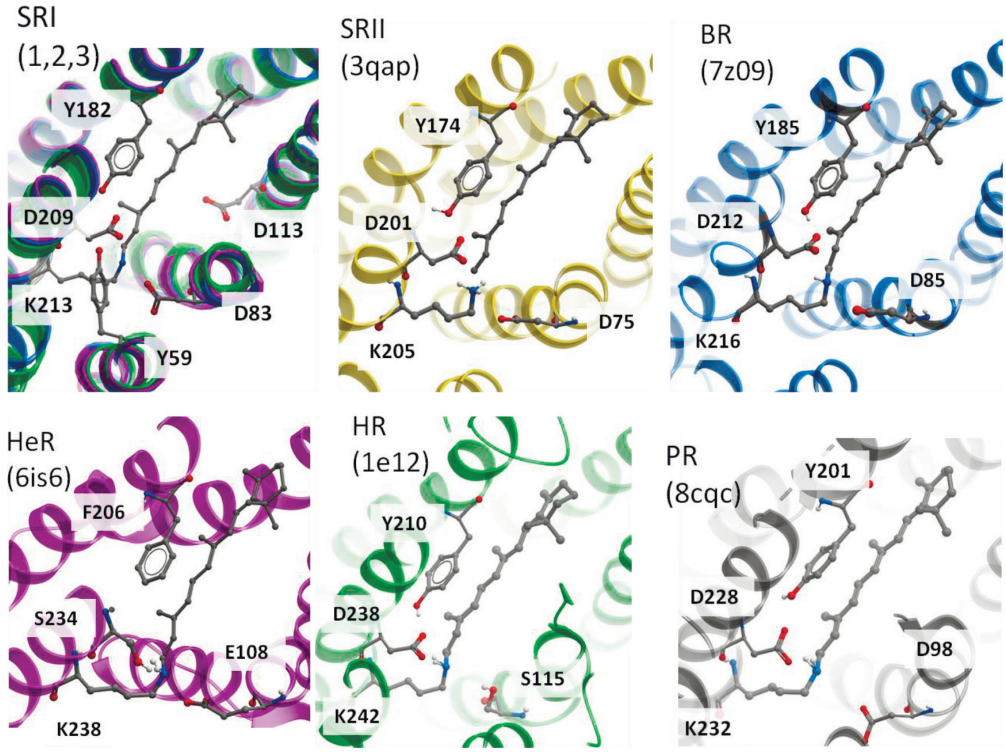


Рис. 2. Карманы связывания ретиналя различных кладов родопсинов (все структуры пространственно совмещены в одной системе координат с помощью функции SuperImpose программного пакета Molsoft MolBrowser 3.9 и представлены отдельно, кроме структур новых родопсинов, которые показаны в совмещенном виде; структуры новых родопсинов предсказаны с помощью AlphaFold3, для остальных клад родопсинов использованы известные структуры из PDB с хорошим разрешением: BR (бактериородопсин) – 7Z09, SRII (сенсорный родопсин II типа) – 3QAP, HeR (гелиородопсин) – 6IS6, PR (протеородопсин) – 8CQC, HR (галородопсин) – 1E12; в пакете связывания ретиналя отмечены ключевые аминокислотные остатки)

Fig. 2. Retinal-binding pockets of different rhodopsin clades (all structures were spatially superimposed in a single coordinate system using the SuperImpose function of the Molsoft MolBrowser 3.9 software package and are shown separately, except for the structures of the new rhodopsins, which are presented in a superimposed view; the structures of the new rhodopsins were predicted using AlphaFold3; for the remaining rhodopsin clades, previously known high-resolution structures from the PDB were used: BR (bacteriorhodopsin) – 7Z09, SRII (sensory rhodopsin II) – 3QAP, HeR (heliorhodopsin) – 6IS6, PR (proteorhodopsin) – 8CQC, HR (halorhodopsin) – 1E12; key amino acid residues in the retinal-binding pocket are highlighted)

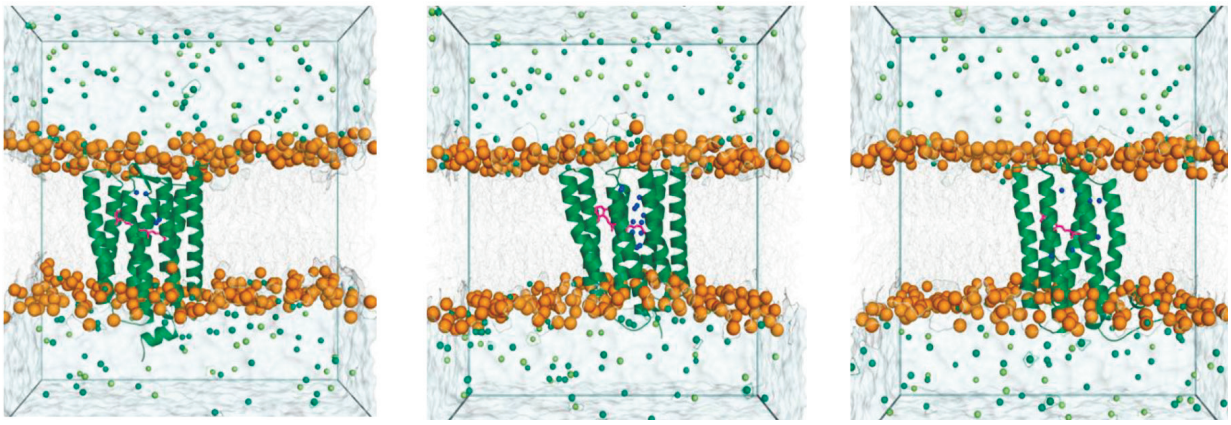
даже минимальные конформационные сдвиги боковых цепей вблизи хромофора приводят к существенной модификации спектральной чувствительности и эффективности передачи сигнала на партнерные трансдукционные системы [28]. Важную роль играет набор полярных позиций в области хромофора, включая Asp201, который модулирует спектральные свойства через изменение локальной электростатики и сети водных молекул. Стоит отметить, что у исследуемых в данной работе родопсинов, определенных как сенсорные I типа, в кармане связывания ретиналя присутствует дополнительный аминокислотный остаток Asp113, значение которого для данной клады родопсинов пока не установлено. Гелиородопсины демонстрируют иные архитектурные особенности кармана, включая вариации в расположении ключевых полярных остатков, таких как Gln108 и Ser234, которые участвуют в стабилизации хромофорного центра и определяют уникальные спектральные характеристики этого семейства. Для галородопсинов характерна повышенная поляризация микроокружения основания Шиффа; спектральную настройку здесь определяют, например, Ser115, Asp85-эквивалентная позиция BR и другие остатки, участвующие в стабилизации анион-связанного состояния и смещении спектра в область более длинных волн. Протеородопсины, сохраняя общий для семейства микробных родопсинов принцип организации хромофор-связывающего центра, демонстрируют вариабельность в архитектуре водородно-

связанной сети и в составе остатков, определяющих pK_a основания Шиффа; для них спектральные особенности часто связаны с заменами в позициях, гомологичных Asp85, Asp212 и Tyr185 BR [28].

Таким образом, для изучения новых родопсинов нужно отмечать различия в геометрии полости, локальной электростатике и наборе конкретных аминокислотных остатков, формирующих хромофорный центр.

Молекулярное моделирование новых родопсинов (МД). Для трех выбранных родопсинов с помощью AlphaFold3 были получены пространственные модели с ковалентно связанным ретиналем. Перед проведением молекулярной динамики протонирование аминокислотных остатков уточняли с использованием PROPKA3 [10]. Такие модели задают положение белка и хромофора, однако не позволяют определить, как в области активного центра будут располагаться молекулы воды. Между тем именно ближайшее окружение протонированного основания Шиффа важно для дальнейшего расчета спектральных свойств белка.

В связи с этим родопсины моделировали в явном мембранном и водно-солевом окружении, не задавая заранее положения воды в кармане. В ходе МД молекулы воды самостоятельно проникали в область хромофора и занимали положение рядом с ретиналем, основанием Шиффа и полярными остатками белка (рис. 3). Таким образом были получены релаксированные конформации активного центра, включающие как белок и ретиналь, так и сформированное в процессе моделирования водное окружение. Подготовленную структуру родопсина 1 далее использовали для геометрической оптимизации и QM/MM-расчетов энергии электронного возбуждения ретиналя.



a *b* *c*

Рис. 3. Репрезентативные структуры исследуемых родопсинов после основного этапа полноатомного МД-моделирования в мембранном окружении: *a* – родопсин 1, *b* – родопсин 2, *c* – родопсин 3 (белок показан зеленым цветом, ретиналь в ретиналь-связывающем кармане – розовым, липидный бислой POPE/POPG – серым с выделенными оранжевым фосфатными группами; водно-солевое окружение – полупрозрачная голубая поверхность; молекулы воды, расположенные вблизи ретиналь-связывающего кармана, – синие сферы; зеленые сферы – ионы Na^+ и Cl^-; голубая рамка – границы расчетной ячейки)

Fig. 3. Representative structures of the rhodopsins under study following the main stage of all-atom MD simulation in a mem-brane environment: *a* – rhodopsin 1, *b* – rhodopsin 2, *c* – rhodopsin 3 (protein – green; retinal in the retinal-binding pocket – pink; POPE/POPG lipid bilayer – gray with phosphate groups highlighted in orange; aqueous-saline environment – semi-transparent blue surface; water molecules located near the retinal-binding pocket – blue spheres; green spheres – Na^+ and Cl^- ions; blue frame – boundaries of the simulation box)

Оценка фотоабсорбции новых родопсинов. Принимая во внимание то, что спектральные характеристики родопсинов в значительной мере зависят от аминокислотного состава пакета связывания ретиналя [29], проведен детальный сравнительный анализ аминокислотного состава вблизи молекулы хромофора для трех новых родопсинов (рис. 4). Аминокислотный состав всех трех родопсинов демонстрирует значительную консервативность. Родопсин 1 и родопсин 2 обладают почти идентичным аминокислотным составом пакета связывания, в то время как аминокислотный состав родопсина 3 отличается в четырех позициях (F205, F142, F116, M91 –

нумерация приведена для родопсина 1). Все отличающиеся аминокислоты находятся на значительном удалении от молекулы ретиналя (4 Å и более), что характеризует их влияние на фотохимические свойства белка как малозначительные. Примечательно, что все три родопсина обладают тремя титрируемыми аминокислотными остатками вблизи хромофора в одинаковых позициях (D83, D113 и D209 – нумерация приведена для родопсина 1). Высокая консервативность сайта связывания в трех новых родопсинах с высокой долей вероятности указывает на сходные фотохимические свойства всех трех родопсинов. На основе проведенного анализа было принято решение оценить спектроскопические характеристики новых родопсинов на примере родопсина 1.

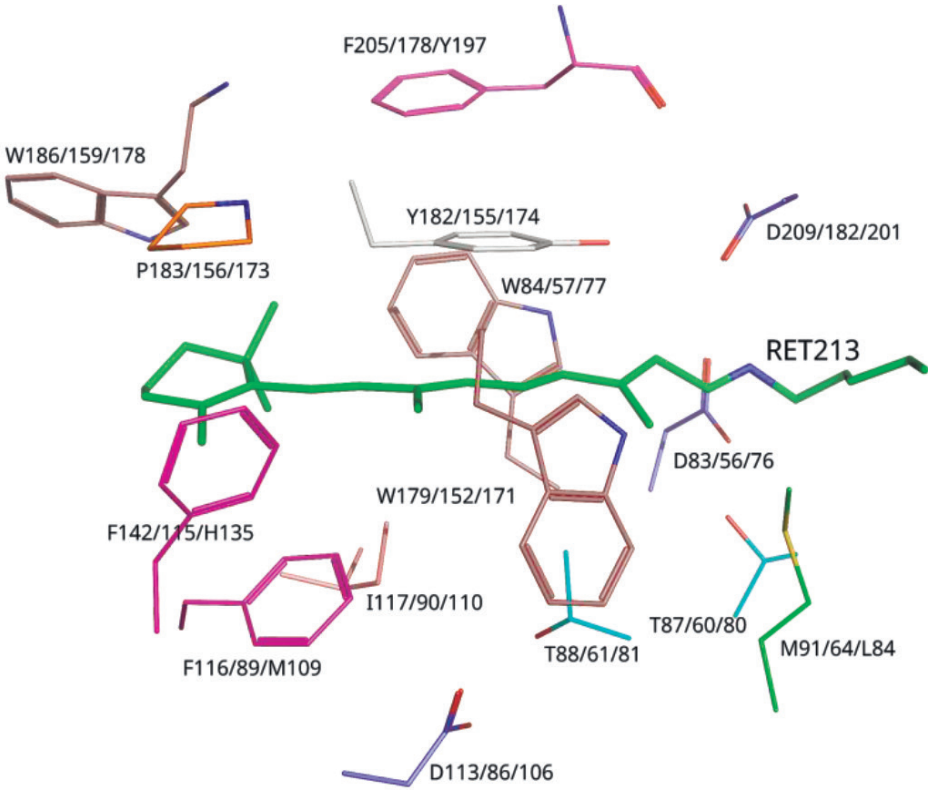
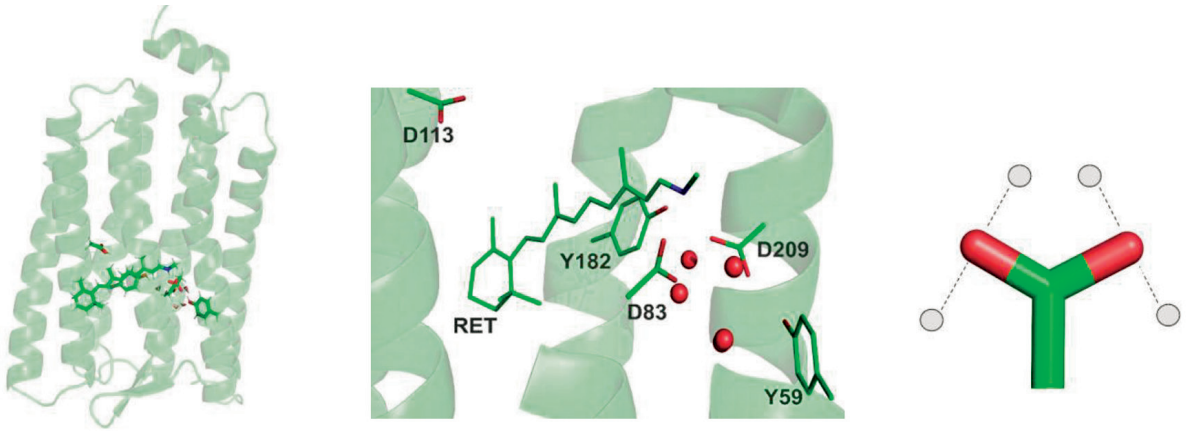


Рис. 4. Сравнение состава пакета связывания трех новых родопсинов, структуры которых были получены с помощью AlphaFold3 (первый индекс аминокислотного остатка относится к родопсину 1, второй – к родопсину 2, третий – к родопсину 3; пакет связывания демонстрирует значительную консервативность у всех трех новых родопсинов)

Fig. 4. Comparison of the binding pocket composition in three novel rhodopsins, the structures of which were predicted using AlphaFold3 (the first residue index corresponds to rhodopsin 1, the second to rhodopsin 2, and the third to rhodopsin 3; the binding pocket exhibits a high degree of conservation across all three rhodopsins)

Оценка максимума абсорбции новых родопсинов. Для оценки фотохимических свойств родопсина I был использован последний кадр траектории МД. В ходе МД пять молекул воды (рис. 5) подошли в непосредственную близость к основанию Шиффа. Наличие молекул воды вблизи основания Шиффа согласуется с экспериментальными структурными данными других микробных родопсинов (PDB: 7Z09, 3QAP, 6IS6, 8CQC, 1E12). Использование метода МД позволило приблизить структуру родопсина 1, полученного с помощью статистической модели AlphaFold3, к более нативному состоянию.

Поскольку вблизи молекулы ретиналя располагаются несколько титруемых аминокислотных остатков, проведена оценка значений pK_a аминокислотных остатков родопсина 1, используя сервис PROPKA [10]. Результаты, представленные в таблице, указывают на то, что при нормальной кислотности (pH = 7) остатки аспарагиновых кислот D83 и D113 находятся в протонированном состоянии и имеют нейтральный заряд, в то время как другие остатки кислот, включая противоион основания Шиффа D209, имеют отрицательный заряд.



a *b* *c*

Рис. 5. Структура родопсина I типа после проведения МД: *a* – структура белковой части родопсина 1; *b* – боковые цепи аминокислот и молекул воды WAT670, WAT339, WAT598, WAT1282, WAT863 (представлены красными сферами, молекулы воды W598 и W670 на рисунке неразличимы) родопсина 1, включенных в QM; атомы водорода опущены для упрощения чтения рисунка; *c* – возможные ориентации протона на карбоксильной группе остатков аспарагиновой или глутаминовой кислот в соответствии с методом из [29] и [30])

Fig. 5. Structure of rhodopsin I after MD simulation: *a* – structure of the protein moiety of rhodopsin 1; *b* – side chains of amino acid residues and water molecules WAT670, WAT339, WAT598, WAT1282, and WAT863 (shown as red spheres, the water molecules W598 and W670 in the figure are indistinguishable) of rhodopsin 1 included in the QM region; hydrogen atoms are omitted for clarity; *c* – possible proton orientations on the carboxyl group of aspartic or glutamic acid residues according to the method described in [29] and [30])

Оценка pK_a всех аспарагиновых и глутаминовых аминокислотных остатков в структуре родопсина 1, произведенная с помощью PROPKA

Evaluation of pK_a of all aspartic and glutamic amino acid residues in the structure of rhodopsin 1, performed using PROPKA3

Аминокислотный остаток	D6	D35	D36	D39	D41	D83	D100	D113	D209	E11	E75	E77	E102	E159	E163	E165	E222	E229	E234
pK_a	3,56	2,15	4,07	4,04	3,66	8,77*	3,98	7,11*	6,68	3,73	4,51	4,01	4,55	4,56	4,75	4,75	4,46	4,93	4,63

Примечание. При нейтральном pH = 7 D83 и D113 pK_a являются протонированными (в таблице отмечены *).

В связи с тем что ориентация протона на титруемых аминокислотных остатках может оказывать значительный эффект на положение максимума абсорбции родопсинов [29, 30], оценено положение максимума абсорбции (и соответствующая энергия основного состояния системы) в зависимости от ориентации протонов на карбоксильных группах D83 и D113 (рис. 6).

Проанализированы различные ориентации протона на карбоксильных группах титруемых групп вблизи хромофора и оценено соответствующее положение максимума поглощения. Такой подход основан на предположении, что каждая карбоксильная группа остатка аспарагиновой кислоты может иметь четыре различные ориентации (рис. 5, *c*). Для родопсина 1 были рассмотрены 16 различных взаимных ориентаций протона на остатках D83 и D113. Результаты изучения представлены на рис. 6. На основании проведенного анализа положение максимума абсорбции родопсина 1 варьируется в диапазоне от 545 до 590 нм. Наиболее энергетически стабильному варианту ориентации протонов соответствует значение максимума поглощения λ_{max} = 576 нм. Другие варианты ориентации протонов являются менее энергетически стабильными и отличаются более чем на 10 ккал/моль, что делает их менее вероятными. Примечательно, что среди разнообразия родопсинов похожая длина волны активации (570–590 нм) соответствует сенсорному родопсину I типа (SRI, Halobacterium salinarum) с λ_{max} ~587 нм, который также является одним из наиболее близких к исследуемым белкам гомологом согласно филогенетическому анализу микробных родопсинов (см. рис. 1).

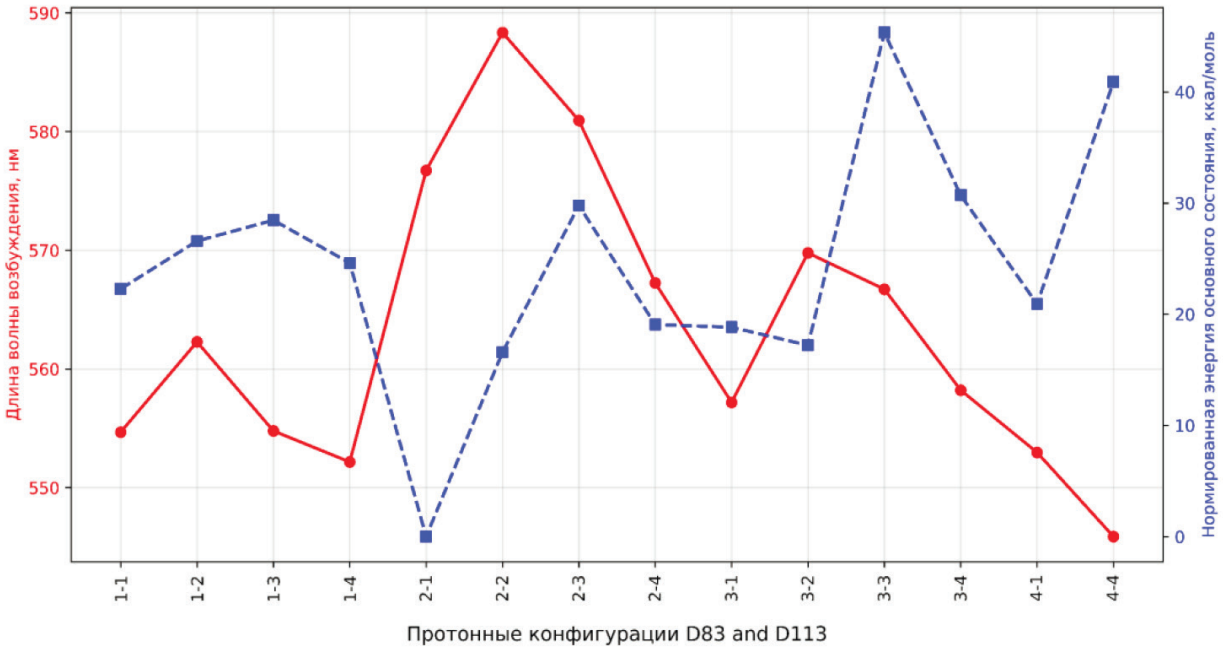


Рис. 6. Оценка энергии основного состояния системы и положения максимума абсорбции для различных ориентаций протонов на карбоксильной группе D83 и D113 (пунктирная и сплошная линии относится к правой и левой шкалам соответственно)

Fig. 6. Evaluation of the system ground-state energy and the position of the absorption maximum for different proton orientations at the carboxyl groups of residues D83 and D113 (the dashed and solid lines correspond to the right and left scales respectively)

Заключение. Квантово-механические расчеты вносят значительный вклад в изучение родопсинов – они позволяют на уровне электронных состояний описывать фотохимические процессы и спектральные свойства хромофора ретиналя в белковом окружении. Гибридные методы квантовой и молекулярной механики (QM/MM) дают возможность моделировать большие белковые системы, выделяя активный центр (ретиналь и ближайшие аминокислотные остатки) для точного квантово-химического описания при учете влияния белкового матрикса классическими потенциалами, что важно для корректного воспроизведения тонкой настройки длины волны поглощения и квантового выхода фотоизомеризации. Такие расчеты позволяют интерпретировать сдвиги спектров при точечном мутагенезе белка, анализировать роль электростатического поля и поляризации белка в стабилизации основного и возбужденного состояний, а также реконструировать энергетический профиль и структуру переходного состояния фемтосекундной изомеризации ретиналя в родопсине. В совокупности это делает квантово-механическое моделирование незаменимым инструментом для сопоставления экспериментальных данных (рентгеноструктурный анализ, ИК- и УФ-видимая спектроскопия, фемтосекундная спектроскопия) с молекулярной картиной фототрансдукции и рационального дизайна мутантов родопсинов с заданными спектральными и функциональными свойствами.

В данной работе использованы квантово-механические расчеты для исследования спектральных свойств новых, не имеющих решенной пространственной структуры и других экспериментальных данных, родопсинов. В совокупности с молекулярным моделированием и филогенетическим анализом предсказана близость фотохимических параметров у исследуемых белков, относящая их к сенсорным родопсинам I типа, и рассчитан максимум поглощения для одного из исследуемых белков (λ_{max} = 576 нм). Такой подход может позволить значительно сократить трудоемкий и длительный процесс поиска новых родопсинов для оптогенетического применения на этапе отбора кандидатов для дальнейшей экспериментальной работы.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания (соглашение 075-03-2026-305, проект FSMG-2024-0012). Филогенетический анализ (грант 25-74-00061), квантово-механические расчеты (грант 25-74-00077), получение моделей структур новых родопсинов (грант 23-14-00160-П), анализ и обобщение результатов (грант 25-24-00770) выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда.

Acknowledgments. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the state assignment (Agreement 075-03-2026-305, Project FSMG-2024-0012). Phylogenetic analysis (grant 25-74-00061), quantum-mechanical calculations (grant 25-74-00077), generation of structural models for novel rhodopsins (grant 23-14-00160-P), and analysis and synthesis of results (grant 25-24-00770) were carried out with the financial support of the Russian Science Foundation.

Список использованных источников

1. Nakao, S. Microbial rhodopsins as multifunctional photoreactive membrane proteins for optogenetics / S. Nakao, K. Kojima, Y. Sudo // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 2021. – Vol. 44, № 10. – P. 1357–1363. https://doi.org/10.1248/bpb.b21-00544

2. McIsaac, R. S. Recent advances in engineering microbial rhodopsins for optogenetics / R. S. McIsaac, C. N. Bedbrook, F. H. Arnold // Current Opinion in Structural Biology. – 2015. – Vol. 33. – P. 8–15. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.05.001

3. Altun, A. Mechanism of spectral tuning going from retinal in vacuo to bovine rhodopsin and its mutants: multireference ab initio quantum mechanics/molecular mechanics studies / A. Altun, S. Yokoyama, K. Morokuma // The Journal of Physical Chemistry B. – 2008. – Vol. 112, № 51. – P. 16883–16890. https://doi.org/10.1021/jp807172h

4. MetaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler / S. Nurk, D. Meleshko, A. Korobeynikov [et al.] // Genome Research. – 2017. – Vol. 27, № 5. – P. 824–834. https://doi.org/10.1101/gr.213959.116

5. Seemann, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation / T. Seemann // Bioinformatics. – 2014. – Vol. 30, № 14. – P. 2068–2069. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153

6. GPU-accelerated homology search with Mmseqs2 / F. Kallenborn, A. Chacon, C. Hundt [et al.] // Nature Methods. – 2025. – Vol. 22, № 10. – P. 2024–2027. https://doi.org/10.1038/s41592-025-02819-8

7. Eddy, S. R. Accelerated profile HMM searches / S. R. Eddy // PloS Computational Biology. – 2011. – Vol. 7, № 10. – P. e1002195. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002195

8. InterPro: the protein sequence classification resource in 2025 / M. Blum, A. Andreeva, L. C. Florentino [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2025. – Vol. 53, № D1. – P. D444–D456. https://doi.org/10.1093/nar/gkae1082

9. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3 / J. Abramson, J. Adler, J. Dunger [et al.] // Nature. – 2024. – Vol. 630, № 8060. – P. 493–500. https://doi.org/10.1038/s41586-024-07487-w

10. PROPKA3: consistent treatment of internal and surface residues in empirical pK_a predictions / M. H. M. Olsson, C. R. Søndergaard, M. Rostkowski [et al.] // Journal of Chemical Theory and Computation. – 2011. – Vol. 7, № 2. – P. 525–537. https://doi.org/10.1021/ct100578z

11. CHARMM-GUI membrane builder for mixed bilayers and its application to yeast membranes / S. Jo, J. B. Lim, J. B. Klauda [et al.] // Biophysical Journal. – 2009. – Vol. 97, № 1. – P. 50–58. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.04.013

12. Zhu, S. Retinal conformation governs pKa of protonated Schiff base in rhodopsin activation / S. Zhu, M. F. Brown, S. E. Feller // Journal of the American Chemical Society. – 2013. – Vol. 135, № 25. – P. 9391–9398. https://doi.org/10.1021/ja4002986

13. GROMACS: high performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers / M. J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz [et al.] // SoftwareX. – 2015. – Vol. 1–2. – P. 19–25. https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001

14. CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins / J. Huang, S. Rauscher, G. Nawrocki [et al.] // Nature Methods. – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 71–73. https://doi.org/10.1038/nmeth.4067

15. Warshel, A. Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme / A. Warshel, M. Levitt // Journal of Molecular Biology. – 1976. – Vol. 103, № 2. – P. 227–249. https://doi.org/10.1016/0022-2836(76)90311-9

16. Altun, A. Quantum mechanical/molecular mechanical studies on spectral tuning mechanisms of visual pigments and other photoactive proteins / A. Altun, S. Yokoyama, K. Morokuma // Photochemistry and Photobiology. – 2008. – Vol. 84, № 4. – P. 845–854. https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00308.x

17. Nocedal, J. Updating quasi-Newton matrices with limited storage / J. Nocedal // Mathematics of Computation. – 1980. – Vol. 35, № 151. – P. 773–782. https://doi.org/10.1090/s0025-5718-1980-0572855-7

18. Neese, F. The ORCA program system / F. Neese // Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 73–78. https://doi.org/10.1002/wcms.81

19. Bannwarth, Y. J. GFN2-xTB—an accurate and broadly parametrized self-consistent tight-binding quantum chemical method with multipole electrostatics and density-dependent dispersion contributions / Y. J. Bannwarth, S. Ehlert, S. Grimme // Journal of Chemical Theory and Computation. – 2019. – Vol. 15, № 3. – P. 1652–1671. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b01176

20. Dunning, T. H. Jr. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen / T. H. Dunning Jr. // The Journal of Chemical Physics. – 1989. – Vol. 90, № 2. – P. 1007–1023. https://doi.org/10.1063/1.456153

21. Runge, E. Density-functional theory for time-dependent systems / E. Runge, E. K. U. Gross // Physical Review Letters. – 1984. – Vol. 52, № 12. – P. 997–1000. https://doi.org/10.1103/physrevlett.52.997

22. Grimme, S. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction / S. Grimme // Journal of Computational Chemistry. – 2006. – Vol. 27, № 15. – P. 1787–1799. https://doi.org/10.1002/jcc.20495

23. Vahtras, O. Integral approximations for LCAO-SCF calculations / O. Vahtras, J. Almlöf, M. W. Feyereisen // Chemical Physics Letters. – 1993. – Vol. 213, № 5–6. – P. 514–518. https://doi.org/10.1016/0009-2614(93)89151-7

24. ff14SB: improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB / J. A. Maier, C. Martinez, K. Kasavajhala [et al.] // Journal of Chemical Theory and Computation. – 2015. – Vol. 11, № 8. – P. 3696–3713. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255

25. TURBOMOLE: today and tomorrow / Y. J. Franzke, C. Holzer, J. H. Andersen [et al.] // Journal of Chemical Theory and Computation. – 2023. – Vol. 19, № 20. – P. 6859–6890. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.3c00347

26. Optimized accurate auxiliary basis sets for RI-MP2 and RI-CC2 calculations for the atoms Rb to Rn / A. Hellweg, C. Hättig, S. Höfener [et al.] // Theoretical Chemistry Accounts. – 2007. – Vol. 117, № 4. – P. 587–597. https://doi.org/10.1007/s00214-007-0250-5

27. Genomic and transcriptomic evidence of light-sensing, porphyrin biosynthesis, Calvin-Benson-Bassham cycle, and urea production in Bathyarchaeota / J. Pan, Z. Zhou, O. Béjà [et al.] // Microbiome. – 2020. – Vol. 8, № 1. – P. 43. https://doi.org/10.1186/s40168-020-00820-1

28. Tsujimura, M. Insights into the protein functions and absorption wavelengths of microbial rhodopsins / M. Tsujimura, H. Ishikita // The Journal of Physical Chemistry B. – 2020. – Vol. 124, № 52. – P. 11819–11826. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.0c08910

29. A subgroup of light-driven sodium pumps with an additional Schiff base counterion / E. Podoliak, G. H. U. Lamm, E. Marin [et al.] // Nature Communications. – 2024. – Vol. 15, № 1. – P. 3119. https://doi.org/10.1038/s41467-024-47469-0

30. Rhodopsin-bestrophin fusion proteins from unicellular algae form gigantic pentameric ion channels / A. Rozenberg, I. Kaczmarczyk, D. Matzov [et al.] // Nature Structural & Molecular Biology. – 2022. – Vol. 29, № 6. – P. 592–603. https://doi.org/10.1038/s41594-022-00783-x

References

1. Nakao S., Kojima K., Sudo Y. Microbial Rhodopsins as Multi-functional Photoreactive Membrane Proteins for Optogenetics. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2021, vol. 44, no. 10, pp. 1357–1363. https://doi.org/10.1248/bpb.b21-00544

2. McIsaac R. S., Bedbrook C. N., Arnold F. H. Recent advances in engineering microbial rhodopsins for optogenetics. *Current Opinion in Structural Biology*, 2015, vol. 33, pp. 8–15. https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.05.001

3. Altun A., Yokoyama S., Morokuma K. Mechanism of spectral tuning going from retinal in vacuo to bovine rhodopsin and its mutants: multireference ab initio quantum mechanics/molecular mechanics studies. *Journal of Physical Chemistry B*, 2008, vol. 112, no. 51, pp. 16883–16890. https://doi.org/10.1021/jp807172h

4. Nurk S., Meleshko D., Korobeynikov A., Pevzner P. A. metaSPAdes: a new versatile metagenomic assembler. *Genome Research*, 2017, vol. 27, no. 5, pp. 824–834. https://doi.org/10.1101/gr.213959.116

5. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 14, pp. 2068–2069. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153

6. Kallenborn F., Chacon A., Hundt C., Sirelkhatim H., Didi K., Cha S., et al. GPU-accelerated homology search with Mmseqs2. *Nature Methods*, 2025, vol. 22, no. 10, 2024–2027. https://doi.org/10.1038/s41592-025-02819-8

7. Eddy S. R. Accelerated Profile HMM Searches. *PloS Computational Biology*, 2011, vol. 7, no. 10, p. e1002195. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002195

8. Blum M., Andreeva A., Florentino L. C., Chuguransky S. R, Grego T., Hobbs E., et al. InterPro: the protein sequence classification resource in 2025. *Nucleic Acids Research*, 2025, vol. 53, no. D1, pp. D444–D456. https://doi.org/10.1093/nar/gkae1082

9. Abramson J., Adler J., Dunger J., Evans R., Green T., Pritzel A., et al. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature*, 2024, vol. 630, no. 8060, pp. 493–500. https://doi.org/10.1038/s41586-024-07487-w

10. Olsson M. H. M., Søndergaard C. R., Rostkowski M., Jensen J. H. PROPKA3: Consistent Treatment of Internal and Surface Residues in Empirical pK_a Predictions. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2011, vol. 7, no. 2, pp. 525–537. https://doi.org/10.1021/ct100578z

11. Jo S., Lim J. B., Klauda J. B., Im W. CHARMM-GUI Membrane Builder for mixed bilayers and its application to yeast membranes. *Biophysical Journal*, 2009, vol. 97, no. 1, pp. 50–58. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.04.013

12. Zhu S., Brown M. F., Feller S. E. Retinal conformation governs pKa of protonated Schiff base in rhodopsin activation. J*ournal of the American Chemical Society*, 2013, vol. 135, no. 25, pp. 9391–9398. https://doi.org/10.1021/ja4002986

13. Abraham M. J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J. C., Hess B., et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 2015, vol. 1–2, pp. 19–25. https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001

14. Huang J., Rauscher S., Nawrocki G., Ran T., Feig M., de Groot B. L., et al. CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. *Nature Methods*, 2017, vol. 14, no. 1, pp. 71–73. https://doi.org/10.1038/nmeth.4067

15. Warshel A., Levitt M.. Theoretical studies of enzymic reactions: dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme. *Journal of Molecular Biology*, 1976, vol. 103, no. 2, pp. 227–249. https://doi.org/10.1016/0022-2836(76)90311-9

16. Altun A., Yokoyama S., Morokuma K. Quantum mechanical/molecular mechanical studies on spectral tuning mechanisms of visual pigments and other photoactive proteins. *Photochemistry and Photobiology*, 2008, vol. 84, no. 4, pp. 845–854. https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00308.x

17. Nocedal J. Updating quasi-Newton matrices with limited storage. *Mathematics of Computation*, 1980, vol. 35, no. 151, pp. 773–782. https://doi.org/10.1090/s0025-5718-1980-0572855-7

18. Neese F. The ORCA program system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2012, vol. 2, no. 1, pp. 73–78. https://doi.org/10.1002/wcms.81

19. Bannwarth C., Ehlert S., Grimme S. GFN2-xTB-An Accurate and Broadly Parametrized Self-Consistent Tight-Binding Quantum Chemical Method with Multipole Electrostatics and Density-Dependent Dispersion Contributions. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2019, vol. 15, no. 3, pp. 1652–1671. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b01176

20. Dunning T. H. Jr. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. *The Journal of Chemical Physics*, 1989, vol. 90, no. 2, pp. 1007–1023. https://doi.org/10.1063/1.456153

21. Runge E., Gross E. K. U. Density-functional theory for time-dependent systems. *Physical Review Letters*, 1984, vol. 52, no. 12, pp. 997–1000. https://doi.org/10.1103/physrevlett.52.997

22. Grimme S. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction. *Journal of Computational Chemistry*, 2006, vol. 27, no. 15, pp. 1787–1799. https://doi.org/10.1002/jcc.20495

23. Vahtras O., Almlöf J., Feyereisen M. W. Integral approximations for LCAO-SCF calculations. *Chemical Physics Letters*, 1993, vol. 213, no. 5–6, pp. 514–518. https://doi.org/10.1016/0009-2614(93)89151-7

24. Maier J. A., Martinez C., Kasavajhala K., Wickstrom L., Hauser K. E., Simmerling C. ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. Journal of Chemical Theory and Computation, 2015, vol. 11, no. 8, pp. 3696–3713. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00255

25. Franzke Y. J., Holzer C., Andersen J. H., Begušić T., Bruder F., Coriani S., et al. TURBOMOLE: Today and Tomorrow. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2023, vol. 19, no. 20, pp. 6859–6890. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.3c00347

26. Hellweg A., Hättig C., Höfener S., Klopper W. Optimized accurate auxiliary basis sets for RI-MP2 and RI-CC2 calculations for the atoms Rb to Rn. *Theoretical Chemistry Accounts*, 2007, vol. 117, no. 4, pp. 587–597. https://doi.org/10.1007/s00214-007-0250-5

27. Pan J., Zhou Z., Béjà O., Cai M., Yang Y., Liu Y., et al. Genomic and transcriptomic evidence of light-sensing, porphyrin biosynthesis, Calvin-Benson-Bassham cycle, and urea production in Bathyarchaeota. *Microbiome*, 2020, vol. 8, no. 1, pp. 43. https://doi.org/10.1186/s40168-020-00820-1

28. Tsujimura M., Ishikita H. Insights into the Protein Functions and Absorption Wavelengths of Microbial Rhodopsins. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2020, vol. 124, no. 52, pp. 11819–11826. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.0c08910

29. Podoliak E., Lamm G. H. U., Marin E., Schellbach A. V., Fedotov D. A., Stetsenko A., et al. A subgroup of light-driven sodium pumps with an additional Schiff base counterion. *Nature Communications*. 2024, vol. 15, no. 1, pp. 3119. https://doi.org/10.1038/s41467-024-47469-0

30. Rozenberg A., Kaczmarczyk I., Matzov D., Vierock J., Nagata T., Sugiura M., et al. Rhodopsin-bestrophin fusion proteins from unicellular algae form gigantic pentameric ion channels. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2022, vol. 29, no. 6, pp. 592–603. https://doi.org/10.1038/s41594-022-00783-x

Информация об авторах

Хорн Полина Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: khorn.pa@phystech.edu; http://orcid.org/ 0000-0002-2117-2130

Федотов Даниил Александрович – старший научный сотрудник. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: fedotov.daniil.kras@gmail.com; http://orcid.org/ 0000-0001-5019-2096

Хныкин Андрей Николаевич – аспирант, Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: khnykin.andrey.fw@gmail.com; http://orcid.org/ 0009-0006-2631-013X

Анучина Арина Артуровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: anuchina.aa@mipt.ru; http://orcid.org/0000-0003-1820-5461

Малышева Екатерина Вячеславовна – студент. Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (ул. Трубецкая, 8, 119991, Москва, Российская Федерация). E-mail: malyshevaekaterina 27@gmail.com; http://orcid.org/0009-0009-7849-0680

Information about the authors

Khorn Polina A. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: khorn.pa@phystech.edu; http://orcid.org/ 0000-0002-2117-2130

Fedotov Daniil A. – Senior Researcher. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: andex.daniil.kras@gmail.com; http://orcid.org/ 0000-0001-5019-2096

Khnykin Andrey N. – Postgraduate Student. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: khnykin.andrey.fw@gmail.com; http://orcid.org/0009-0006-2631-013X

Anuchina Arina A. – Ph. D. (Biology), Senior Researcher. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: anuchina.aa@mipt.ru; http://orcid.org/0000-0003-1820-5461

Malysheva Ekaterina V. – Student. I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (8-2, Trubetskaya Str., 119991, Moscow, Russian Federation). E-mail: malyshevaekaterina 27@gmail.com; http://orcid.org/0009-0009-7849-0680

Ilyinsky Nikolai S. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: ilinsky@phystech.edu; http://orcid.org/0000-0002-8812-5849

Ильинский Николай Сергеевич – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: ilinsky@phystech.edu; http://orcid.org/0000-0002-8812-5849

Охрименко Иван Станиславович – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник – заведующий лабораторией. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: okhrimenko.is@mipt.ru; http://orcid.org/ 0000-0002-1053-2778

Павлов Андрей Владимирович – студент. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: pavlov.andrei@phystech.edu; http://orcid.org/0009-0002-6620-4316

Павлов Владислав Владиславович – студент. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: pavlov.vv@phystech.edu; http://orcid.org/0009-0009-6861-3261

Колесник Матвей Владимирович – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник. Институт биологии гена РАН (ул. Вавилова, 34/5, 119334, Москва, Российская Федерация). E-mail: matveykolesnik@gmail.com; http://orcid.org/0000-0002-7997-657X

Демкина Алина Олеговна – старший научный сотрудник. Институт биологии гена РАН (ул. Вавилова, 34/5, 119334, Москва, Российская Федерация). E-mail: ademkina@biotc.ru

Рубинштейн Илья Дмитриевич – студент. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: ilrubi.ru@yandex.ru; http://orcid.org/0009-0005-3056-2076

Талдаев Амир Халилевич – младший научный сотрудник. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: t-amir@bk.ru; http://orcid.org/0000-0003-2593-1963

Мишин Алексей Викторович – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: mishinalexej@gmail.com; http://orcid.org/0000-0003-3759-380X

Борщевский Валентин Иванович – доктор физико-математических наук, заведующий лабораторией. Московский физико-технический институт (Институтский пер., 9, Долгопрудный, 141700, Российская Федерация). E-mail: borshchevskiy@gmail.com; http://orcid.org/0000-0003-4398-9712

Okhrimenko I. S. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher – Head of the Laboratory. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: okhrimenko.is@mipt.ru; http://orcid.org/ 0000-0002-1053-2778

Pavlov Andrey V. – Student. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: pavlov.andrei@phystech.edu; http://orcid.org/0009-0002-6620-4316,

Pavlov Vladislav V. – Student. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: pavlov.vv@phystech.edu; http://orcid.org/0009-0009-6861-3261

Kolesnik Matvey V. – Ph. D. (Biology), Junior Researcher. Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences (34/5, Vavilova Str., 119334, Moscow, Russian Federation). E-mail: matveykolesnik@gmail.com; http://orcid.org/0000-0002-7997-657X

Demkina Alina O. – Senior Researcher. Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences (34/5, Vavilova Str., 119334, Moscow, Russian Federation). E-mail: ademkina @biotc.ru

Rubinshteyn Ilya D. – Student. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: ilrubi.ru@yandex.ru; http://orcid.org/0009-0005-3056-2076

Taldaev Amir – Junior Researcher. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: t-amir@bk.ru; http://orcid.org/0000-0003-2593-1963

Mishin Alexei V. – Ph. D. (Physics and Mathematics), Senior Researcher. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: mishinalexej@gmail.com; http://orcid.org/0000-0003-3759-380X

Borshchevskiy Valentin I. – Dr. Sci. (Physics and Mathematics), Head of the Laboratory. Moscow Institute of Physics and Technology (9, Institutskiy Per., 141700, Dolgoprudny, Russian Federation). E-mail: borshchevskiy@gmail.com; http://orcid.org/0000-0003-4398-9712