

УДК 577.22/577.29

ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК L-ЛИЗИНА И L-АРГИНИНА С ПОМОЩЬЮ АДСОРБЦИОННОЙ, СТАЦИОНАРНОЙ И СИНХРОННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

© 2021 г. Е.Л. Терпугов*, С.Н. Удальцов**, О.В. Дегтярева*

*Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3

**Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 2/2

E-mail: olga_degt@mail.ru

Поступила в редакцию 10.06.2021 г.

После доработки 24.06.2021 г.

Принята к публикации 29.06.2021 г.

Недавно обнаруженные люминесцентные свойства неароматических аминокислот с зависимой от возбуждения фотолюминесценцией в отсутствие конъюгации внутри отдельных молекул вызвали большой интерес. Хотя существование явления внутренней люминесценции больше не вызывает сомнений, механизм, участвующий в этом процессе, остается неясным. В работе на примере изучения спектрально-люминесцентных свойств L-лизина и L-аргинина авторы попытались продвинуться в понимании этих процессов с помощью адсорбционной спектроскопии в ультрафиолетовом и видимом диапазонах, а также спектроскопии стационарной и синхронной флуоресцентной спектроскопии.

Ключевые слова: моногидрохлорид L-лизина, моногидрохлорид L-аргинина, возбуждающая фотолюминесценция, синхронная флуоресценция, УФ/видимая спектроскопия.

DOI: 10.31857/S0006302921050033

К важнейшим биологически активным веществам относятся аминокислоты – основные строительные блоки белков и биополимеров, выполняющие самые разнообразные функции в организмах. Критически важное для жизни значение аминокислот обеспечивает устойчивый интерес к их биологическим и физико-химическим свойствам. Для объяснения свойств аминокислот, а также для выявления общих структурных закономерностей, характерных для аминокислот и белков, важно знание строения и внутренней динамики отдельных молекул аминокислот, а также знание их возможных межмолекулярных взаимодействий в конденсированном состоянии. Последняя область очень важна в направлении понимания физики и внутреннего механизма функционирования живой системы.

Собственная люминесценция природных белков дает значительную информацию об их структуре и динамике и поэтому часто используется

для изучения конформационных переходов, прочности водородных связей, связанных реакций и других биохимических процессов [1–4]. Как правило, считается, что флуоресценция белка происходит от аминокислот с циклическими группами, такими как триптофан, тирозин и фенилаланин, поглощающих и излучающих эмиссию в ближней ультрафиолетовой (УФ) области. Между тем в последнее время стало известно, что триптофаноподобной флуоресценцией обладают также неароматические аминокислоты, не имеющие в своей структуре системы с сопряженными двойными связями. Этот новый феномен наблюдали не только у свободных аминокислот [5–8], но также в полипептидах и белках, которые не содержали в своем составе ароматические остатки [9–12]. Такие свойства были обнаружены в белках с относительно высоким содержанием бета-сшивков в их структуре, что, как оказалось, характерно для амилоидной формы белков. Явление внутренней флуоресценции было приписано де-локализации электронов через образование водородных связей в структуре бета-сшивки, которая дает возможность электронных переходов с более

Сокращения: УФ – ультрафиолетовый, L-Lys-HCl – моногидрохлорид L-лизина, L-Arg-HCl – моногидрохлорид L-аргинина.

низкой энергией [9, 10]. Было показано, что амилоидные фибриллы из различных полипептидных последовательностей при агрегации приобретают собственную характерную флуоресценцию в видимом диапазоне. Хотя существование автолюминесценции как феномена у неароматических аминокислот и белков, не имеющих в своем составе ароматических остатков, в настоящее время твердо установлено, механизм, вовлеченный в этот процесс, остается все еще не до конца изученным.

В противоположность ароматическим аминокислотам, анализ спектров возбужденных электронных состояний которых удается проводить лишь в случае растворов с низкой концентрацией, заметная люминесценция у неароматических аминокислот была обнаружена в концентрированном состоянии и практически не выявлялась в разбавленных растворах. Первоначально это новое свойство было обнаружено в растворе моногидрохлорида L-лизина [5]; было сделано предположение о его уникальности в случае агрегации лизина, что подтвердили последующие эксперименты с полилизинном [6]. Однако позже появились экспериментальные свидетельства автолюминесценции в сильно концентрированных растворах не только лизина, но и других неароматических аминокислот, которая могла возбуждаться не только ультрафиолетовым, но и видимым светом [7, 8, 11, 12]. Открытие нового свойства у алифатических аминокислот переворачивает представление о флуоресценции биомолекул как обусловленной исключительно присутствием «ароматики» в их структуре. В большинстве своем исследователи полагают, что автолюминесценция неароматических аминокислот может быть хорошо объяснена с помощью механизма эмиссии, инициируемой кластеризацией мономеров, а именно кластеризацией нетрадиционных хромофорных (амино-, карбокси- и гидроксильной) групп, обуславливающей перекрытие электронных облаков и увеличение делокализации электронов с одновременным усилением ригидности конформации. В действительности задействованные в этом новом феномене механизмы являются более сложными, чем представлялось ранее. Чтобы получить больше информации об излучении неароматических аминокислот и выявить общие закономерности в люминесценции нетрадиционных люминофоров, в настоящей работе с помощью обычной и синхронной флуоресцентной спектроскопии мы изучали спектральные характеристики диаминокарбоновых аминокислот аргинина и лизина, а также их изменение в связи с эффектом разведения. Исследование методом синхронной флуоресценции позволяет выявить флуорофоры, которые слабо разрешимы в обычном спектре излучения флуоресценции, измеренном при фиксированной длине волны возбуждения. Этот метод был разработан

для многокомпонентного анализа и использовался для повышения селективности анализа сложных химических и биологических систем [13, 14]. Насколько известно авторам, синхронная флуоресценция еще не использовалась для изучения алифатических аминокислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Химически чистые образцы L-лизина моногидрохлорида (L-Lys·HCl) и L-аргинина моногидрохлорида (L-Arg·HCl) производства фирмы «Реанал» (Венгрия) использовали для приготовления растворов на основе деионизованной воды (рН ~ 6.8) при 293 К. Чистота воды подтверждена величиной проводимости в 18 МΩ. Дополнительно для устранения нерастворенных твердых частиц готовые приготовленные растворы пропускали через фильтр Millex® CV с размером пор 0.22 мкм. Концентрации аминокислот составляли 1.00–0.01 М для L-Lys·HCl и 0.5–0.01 М для L-Arg·HCl.

Спектрофотометрические измерения в УФ- и видимой области были выполнены на спектрофотометре модели UV/VIS Evolution 600 (Thermo Scientific, США), люминесцентная спектроскопия проведена с использованием спектрофлуориметра Lumina Fluorescence (Thermo Scientific, США). Были сняты спектры возбуждения и излучения стационарной люминесценции. Во все спектры вносились поправки на изменения интенсивности возбуждающего света и чувствительность детектора к длине волны по всему спектру. Спектры излучения флуоресценции были получены при разных длинах волн возбуждения: 280, 310, 340, 355, 370 и 410 и 436 нм. Для сравнения между собой все спектры изучаемых аминокислот впоследствии были нормированы на единицу. Была также выполнена коррекция всех спектров на фоновые рассеяние и люминесценцию путем вычитания спектров деионизованной воды, полученных в идентичных условиях. Образцы всегда были свежеприготовленными, все измерения проводили при комнатной температуре в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм.

Синхронные спектры флуоресценции измеряли путем сканирования интенсивности флуоресценции в диапазоне длин волн возбуждения ($\lambda_{\text{возб}} = 200\text{--}650$ нм) и излучения ($\lambda_{\text{изл}} = 200\text{--}650$ нм) для создания трехмерных графиков интенсивности-возбуждения-эмиссии, которые обеспечивают более полное многомерное обнаружение флуоресценции. 3D-спектры регистрировали с интервалом длин волн $\Delta\lambda = 10$ нм, скорость сканирования составляла 600 нм/с, а напряжение ФЭУ – 700–800 В. Ширина эмиссионной щели и щели при возбуждении равнялась

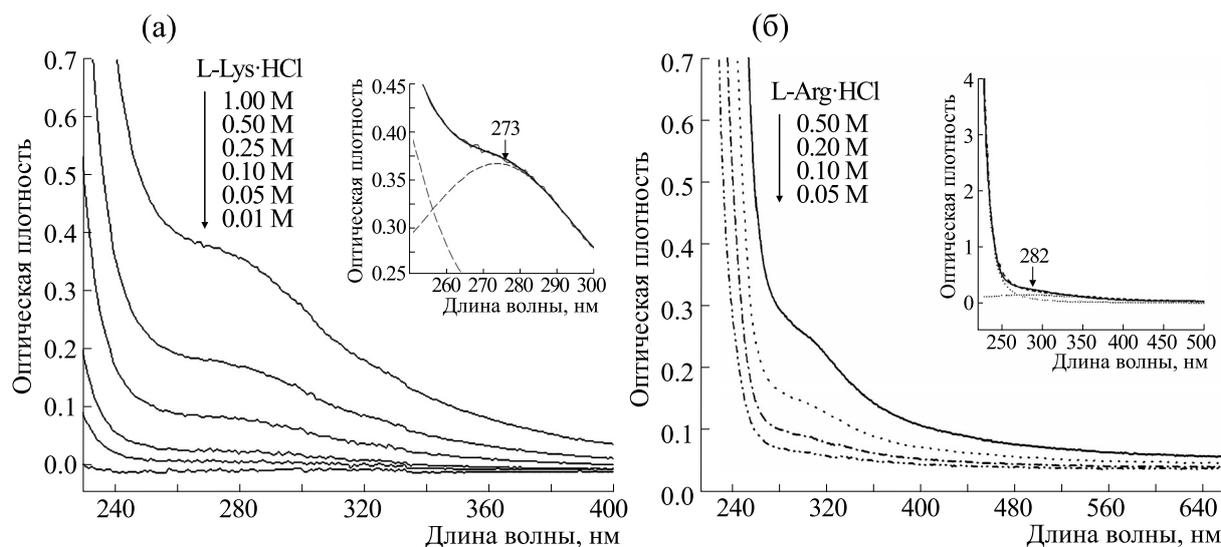


Рис. 1. (а) – Спектры поглощения L-Lys-HCl в концентрациях 1.0–0.01 М; на врезке – кривая поглощения L-Lys-HCl и ее аппроксимация разложением на компоненты с помощью гауссовых кривых 230 и 273 нм. (б) – Спектры поглощения L-Arg-HCl в концентрациях 0.5–0.05 М; на врезке – кривая поглощения L-Arg-HCl и ее аппроксимация разложением на компоненты с помощью гауссовых кривых 224 и 282 нм.

5 нм. Источником возбуждения служила ксеноновая лампа мощностью 100 Вт. Для измерения использовали прямоугольную геометрию. Спектр сканирования синхронной флуоресценции в каждом интервале длин волн измеряли с шагом 10 нм.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Origin (версия 8.0).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены электронные спектры поглощения водных растворов L-Lys-HCl и L-Arg-HCl в области 220–400 нм.

Видно, что в спектре сильно разбавленных растворов аргинина и лизина отсутствует поглощение за пределами УФ-области 220 нм, что соответствует представлению о светопоглощении неароматических аминокислот в изолированном состоянии. Известно, что все аминокислоты обладают одним общим свойством – отсутствием поглощения излучения во всей видимой области спектра [15, 16]. L-лизин и L-аргинин являются основными аминокислотами с боковыми цепями, состоящими соответственно из трех и четырех ($-\text{CH}_2$)-групп, которые не могут поглощать в ближней УФ-области в своей мономерной форме. Поглощение в дальней УФ-области обусловлено присутствием в структуре аминокислот простой хромофорной ($\text{C}=\text{O}$)-группы. Электронные переходы $\pi \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$ в карбоксильной группе происходят по ненасыщенным связям «углерод–кислород» и наблюдаются при 190–220 нм [17–19]. В зависимости от ионного состояния (кати-

он, цвиттерион, анион) и их концентрации в воде может присутствовать водородная связь, которая может дать спектр, смещенный относительно главного на определенный небольшой интервал частот. Боковые цепи этих аминокислот полярны и поэтому гидрофильны. Лизин имеет первичную аминогруппу на конце боковой цепи, аргинин – гуанидиновую группу. Обе концевые группы заряжены положительно при нейтральных значениях pH. Вода как растворитель содержит ОН-группу, которая способна вступать в водородную связь с концевыми имино-, амина- и карбонильными группами аминокислот, образуя различные по составу и ориентации межмолекулярные соединения. Из наблюдаемых спектров было установлено, что с ростом концентрации аминокислот происходит гигантское «красное» смещение нижней границы полосы и распространение ее в ближнюю УФ- и даже видимую область (выше 400 нм). Одновременно с этим отмечено повышение коэффициента поглощения. Кроме того, начиная с концентрации 0.20 М, в спектрах обоих образцов выявлено появление дополнительного пика в области ~ 270–280 нм. Хотя подобные особенности спектрального поведения неароматических аминокислот были уже отмечены в первой работе по автолюминесценции лизина [5], молекулярный механизм этого феномена остается все еще неизученным.

Спектральные свойства растворенных аминокислот в возбужденном состоянии могут отличаться от таковых в основном состоянии, что показало исследование спектральных характеристик возбуждаемой люминесценции L-Lys-HCl и

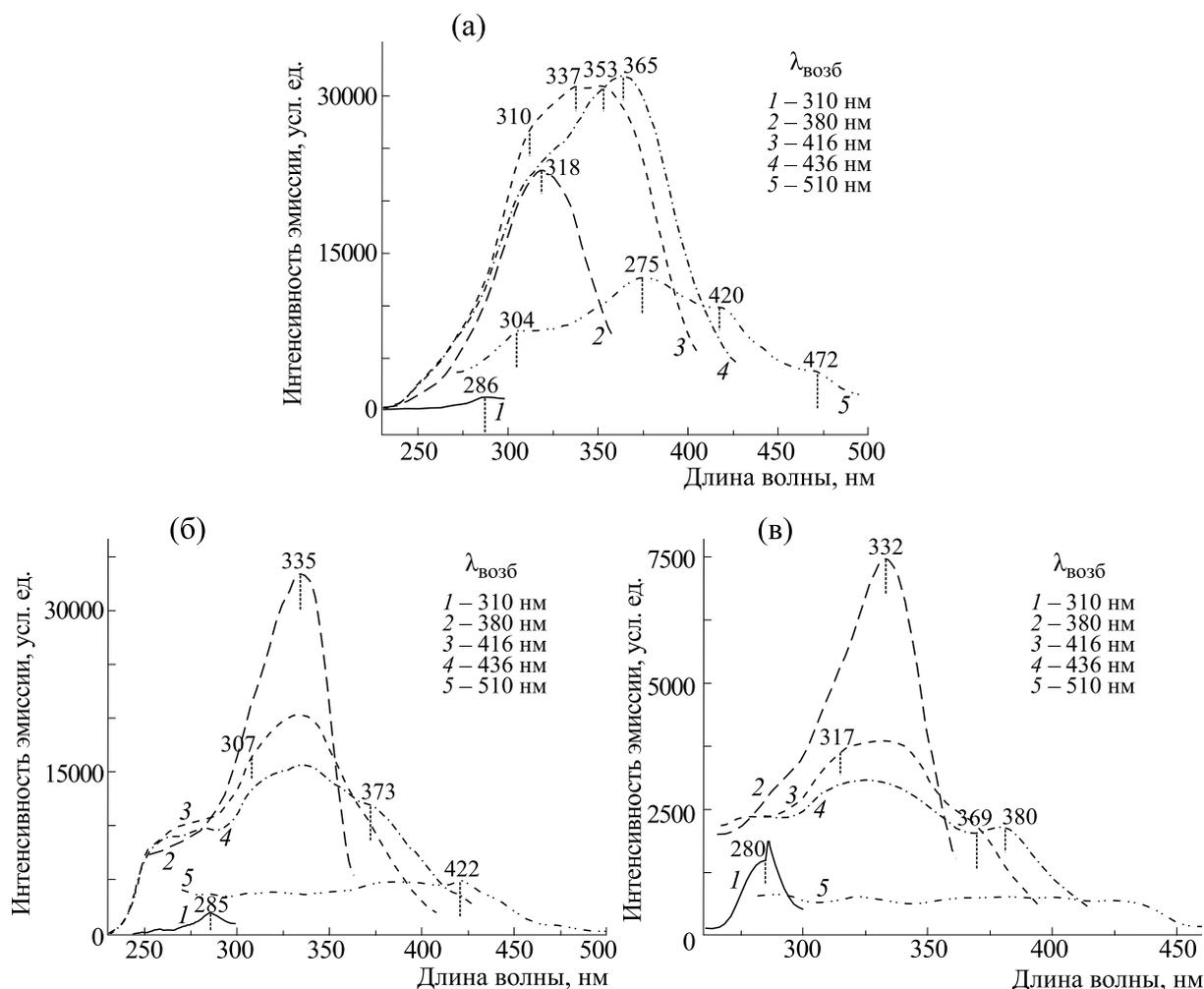


Рис. 2. Спектры возбуждения 1.0 М водного раствора L-Lys-HCl (а); L-Arg-HCl при концентрациях 0.5 М (б) и 0.05 М (в). Спектры 1–5 записаны при длине волны возбуждения $\lambda_{\text{возб}} = 310, 380, 416, 436$ и 510 нм соответственно.

L-Arg-HCl при комнатной температуре. При определенном в сходстве в спектральном поведении дикарбоновых аминокислот было также отмечено различие в их свойствах в возбужденном состоянии, что иллюстрирует рис. 2а,б, где представлены спектры возбуждения концентрированных растворов лизина и аргинина, записанные при разных длинах волн возбуждения (310, 380, 416, 436 и 510 нм). При использовании короткой длины волны (310 нм) в обоих образцах была выявлена довольно слабая одиночная полоса с максимумом возле ~ 280 нм. Положение максимума этой полосы совпадало с локализацией пика в соответствующих спектрах поглощения, что тем самым подтверждало присутствие в используемых растворах новой поглощающей структуры. Однако слабая интенсивность этой полосы свидетельствовала о крайне низкой эффективности поглощения у нового образования. Интересно, что при использовании более длинных волн возбуждения мы наблюдали значительное усиление сигнала,

который, проходя через пороговое значение, спадал почти до уровня сигнала при длине волны возбуждения 310 нм. Максимальный уровень сигнала в спектре возбуждения аргинина наблюдали на длине волны 370 нм, в то время как в спектре лизина – на длине волны 436 нм. Как можно видеть на рис. 1, в этих условиях поглощение обеих исследуемых аминокислот крайне низкое (ниже 10% от максимума), а сами спектры представляют собой гладкую кривую без выраженных максимумов. Таким образом, полученные нами данные показывают, что спектры возбуждения растворенных в воде аминокислот лизина и аргинина не совпадают с их спектром поглощения и демонстрируют зависимость от длины волны возбуждения, что не характерно для спектров возбуждения одиночных мономеров [15]. Зависимость спектров возбуждения дикарбоновых кислот от длины волны эмиссии свидетельствует прежде всего о неоднородности растворенных аминокислот и многообразии флуоресцирующих объектов, ко-

торые могут возникать в результате различных взаимодействий (полярных, гидрофобных) между заряженными частицами, какими являются цвиттерионы, преобладающие в жидкости при нейтральном значении рН. Также появлению этих новых образований, как мы полагаем, может способствовать присутствие света, который влияет на электронную структуру цвиттерионов и изменяет взаимодействие аминокислот между собой и с молекулами воды. Это происходит потому, что помимо способности фотонов вызывать электронное возбуждение в хромофорах, свет индуцирует в среде осциллирующее электрическое поле, которое может влиять на частоту колебаний связанных электронов, изменять внутренние характеристики диполей в результате смещения связанных зарядов и производить дипольные переходы [20, 21]. Аминокислоты, как известно, обладают помимо постоянного наведенным дипольным моментом, т. е. под действием света дипольный момент возбужденного состояния больше, чем дипольный момент основного их состояния [22–26]. Следовательно, для стабилизации системы в окружении возбужденного иона лизина или аргинина должна произойти соответствующая перестройка. Ранее на примере глицина было показано, что на локальном уровне электрическое поле электромагнитного излучения способно изменять дополнительный потенциал взаимодействия, приводя к увеличению концентрации и образованию молекулярных ассоциатов и даже зародышей кристаллов [27–29]. Таким образом, свет, помимо эффектов поляризации, может вызывать специфические взаимодействия аминокислот между собой и/или с молекулами воды, приводящие к образованию водородных связей и кластерных структур. И то, и другое может влиять на их спектральные характеристики в возбужденном состоянии [19].

Поскольку спектры возбуждения особенно чувствительны к взаимодействию с микроокружением, мы исследовали влияние концентрации растворов исследуемых аминокислот на спектральный отклик при разбавлении растворов (в десять и более раз), полагая, что при низких концентрациях растворенных веществ каждая молекула аминокислоты полностью окружена молекулами воды, и поэтому взаимодействие между мономерами экранировано молекулами воды, о чем свидетельствуют данные теоретических [30] и экспериментальных [31] работ. Следовательно, из-за недостаточной конъюгации мономеры будут трудно возбудить. В действительности же оказалось, что при разбавлении растворов в десять и более раз мы могли наблюдать хотя и слабую, но вполне регистрируемую фотолюминесценцию. Более того, мы не обнаружили существенного влияния подобного разведения на спектральное поведение системы, которая при меньшем уровне

сигнала продемонстрировала зависимость спектров возбуждения от длины волны наблюдения аналогично той, что наблюдали в исходном состоянии (рис. 2в). Таким образом, в этом случае особенности спектрального поведения растворенных аминокислот нельзя объяснить исключительно агрегацией молекул. Очевидно, что свет меняет свойства растворенных в воде аминокислот, способствуя кластеризации изолированных видов молекул и создавая в них локальные возбужденные состояния.

В работе помимо спектров возбуждения были исследованы и спектры эмиссии. Как и ожидалось, наблюдаемая выше изменчивость спектров возбуждения в полной мере отразилась в их спектрах излучения. На рис. 3 представлены спектры эмиссии 500 мМ L-Arg-HCl и 1М L-Lys-HCl, записанные при разных длинах волн возбуждения ($\lambda_{\text{возб}} = 280, 310, 355, 380, 410, 436$ и 480 нм). Как видно, эмиссионные спектры сильно зависят от длины волны возбуждения, которая влияет не только на интенсивность, но и на форму спектральных кривых и положение главного максимума. При переходе от короткой к более длинной длине волны возбуждения наблюдался рост сигнала, который, достигнув порога, спадал до нулевого уровня. При этом отмечалось сужение спектра и сдвиг главного максимума в красную область, от 381/398 к 493/504 нм для длин волн возбуждения от 310 до 435 нм соответственно для аргинина и лизина. Чтобы исследовать зависимость излучения от возбуждения более подробно, мы построили графики длин волн пиков излучения в зависимости от длины волны возбуждения. Как можно видеть на рис. 3в, данные демонстрируют четкую линейную зависимость ($R^2 = 0.981$ и 0.976) с крутизной 0.77 и 0.49 между длинами волн излучения и возбуждения для L-Lys-HCl и L-Arg-HCl соответственно. Наклон, определяемый как изменение длины волны пикового излучения при изменении длины волны возбуждения, т.е. $\Delta\lambda_{\text{эм}}/\Delta\lambda_{\text{возб}}$, остается практически постоянным до 440 нм. Эти данные подтверждают более ранние наблюдения, показывающие, что каждому спектру флуоресценции соответствует своя длина волны возбуждения. Таким образом, применяя несколько длин волн возбуждения в УФ- и видимом спектральном диапазоне, удалось обнаружить присутствие в растворе целого ряда эндогенных флуорофоров, которые вносят вклад в наблюдаемый флуоресцентный сигнал.

Флуоресценция как в лизине, так и в аргинине наблюдалась при возбуждении как УФ-, так и видимым светом. Хотя флуоресценция при возбуждении видимым светом при 480 нм была довольно слабая (кривая 5 на рис. 3а), чувствительность прибора позволяла достаточно надежно регистрировать ее сигнал.

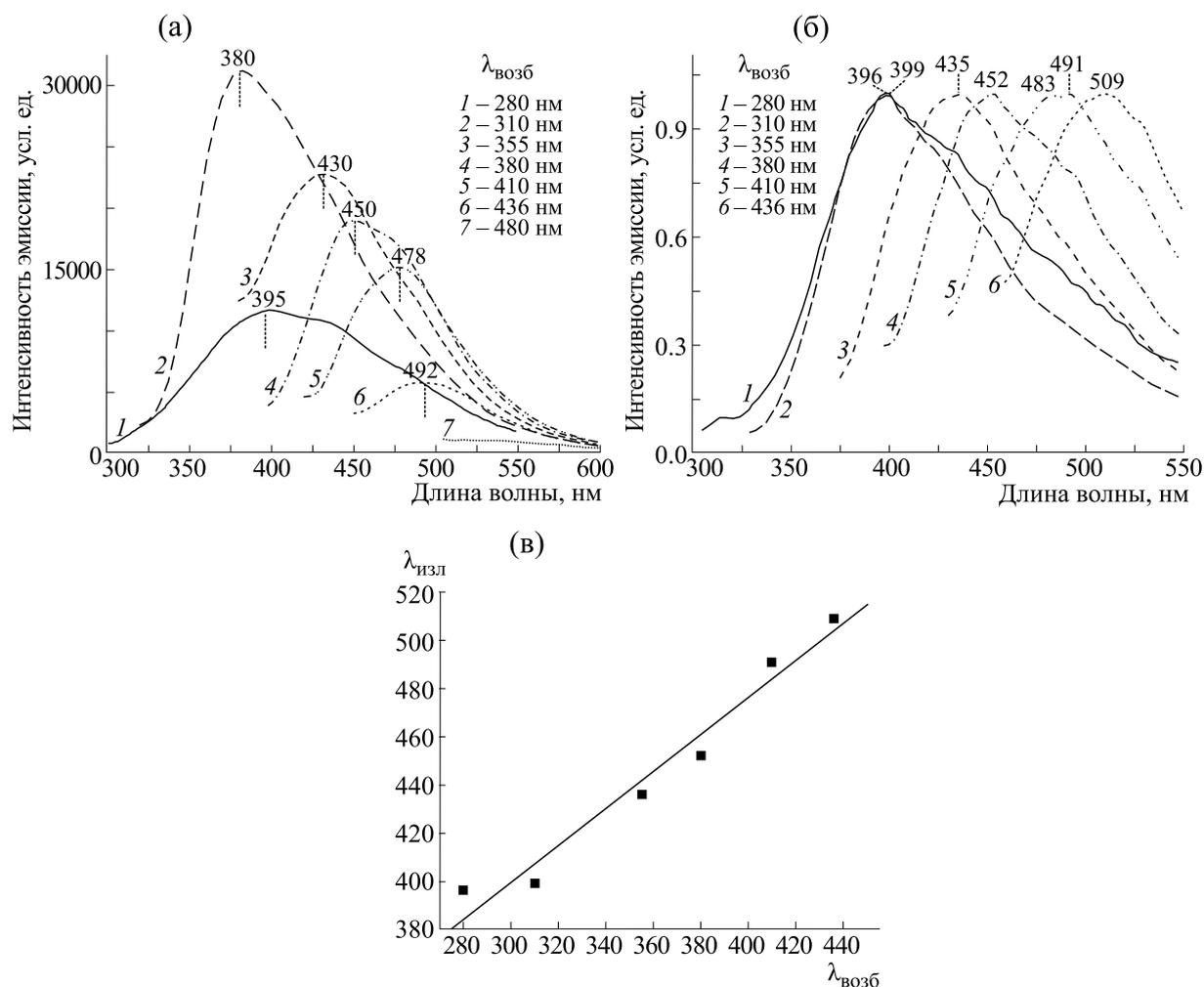


Рис. 3. Иллюстрация зависимости флуоресценции дикарбоновых аминокислот от длины волны накачки: (а) – реальные спектры 500 мМ водного раствора L-Arg-HCl; (б) – нормированные спектры 1 М водного раствора L-Lys-HCl, записанные при различных длинах волн возбуждения ($\lambda_{\text{возб}} = 280, 310, 355, 380, 410, 436$ и 480 нм); (в) – линейная зависимость максимума длины волны излучения лизина от длины волны возбуждения.

Для оценки всех присутствующих в жидкости эндогенных флуорофоров, которые вносят вклад в наблюдаемый флуоресцентный сигнал, можно использовать метод синхронной флуоресцентной спектроскопии, когда возбуждение и излучение сканируются одновременно. Спектр излучения регистрируется для всех длин волн возбуждения образца. В этом случае оба монохроматора возбуждения и эмиссии сканируются одновременно, сохраняя фиксированный интервал длин волн между ними. Синхронное сканирование флуоресценции приводит к сужению регистрируемых максимумов излучения и в целом улучшает разрешение излучающих состояний [13, 14]. Результаты синхронных спектров возбуждения-испускания представлены на рис. 4 в виде трехмерного графика, где интенсивность испускания отображена в виде контурной диаграммы как функция длин волн возбуждения и испускания.

На полученных спектральных картах выявляются определенные «островки» интенсивности флуоресценции, которые соответствуют определенному флуорофору с определенным максимумом возбуждения и испускания, что тем самым подтверждает присутствие в двухкомпонентной среде не одного, а целого ряда эндогенных флуорофоров, включая и те, которые могут возбуждаться видимым светом, а это практически не наблюдается у ароматических аминокислот. При этом отметим, что длинноволновая полоса излучения может возникать как из длинноволнового спектра возбуждения, так и при коротковолновом возбуждении. Это означает, что испускание света может быть обусловлено как структурами, которые непосредственно возбуждаются при поглощении света, так и другими структурами, которые сенсibiliзируются за счет безизлучатель-

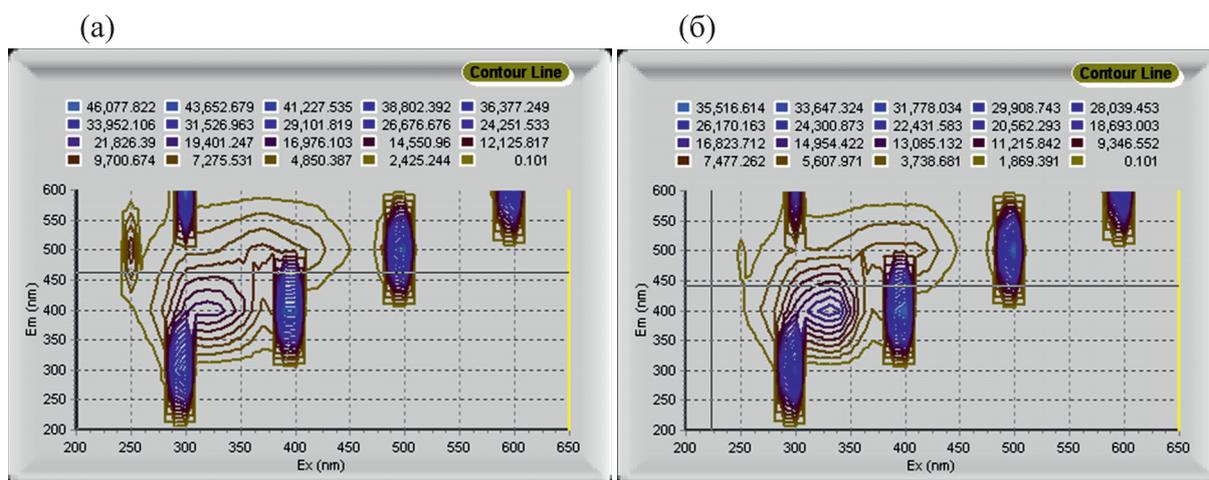


Рис. 4. Трехмерная контурная диаграмма возбуждения-эмиссии лизина (а) и аргинина (б) в концентрации 1 М и 0.05 М соответственно.

ной передачи энергии возбуждения или в результате переноса заряда.

Как видно на рис. 4, топографический график лизина отличается от такового для аргинина по распределению максимальной интенсивности флуоресценции и профилю контурных кривых, что отражает специфику их структуры и динамики в возбужденном состоянии.

В работе этим методом был также проанализирован спектральный отклик при разбавлении растворов. Результирующие спектры представлены на рис. 5. Согласно полученным данным, неоднородность популяции излучающих видов обоих образцов сохраняется также и в разбавленном состоянии (рис. 5). Однако топографические графики разбавленных растворов несколько отличаются от приведенных выше для концентрированных растворов, что может быть результатом различного влияния среды на электронную

структуру и динамику лизина и аргинина в возбужденном состоянии.

На основе полученных данных можно заключить, что аминокислоты в растворе демонстрируют фотофизические свойства, подобные тем, что наблюдаются у органических хромофоров, у которых эти свойства связаны с явлением двойной флуоресценции [32–36]. Механизм, ответственный за двойную флуоресценцию, по своей сути противоречит хорошо установленным теориям, таким как, например, правило Вавилова–Каши [14, 19], согласно которому независимо от длины волны возбуждения излучение флуоресценции в молекуле красителя происходит всегда с самого нижнего синглетного уровня, поэтому для одного типа молекул полоса возбуждения одного перехода приводит к одной полосе излучения и спектр излучения одного перехода не показывает зависимости от длины волны. В то же время показано, что явлению двойной флуоресценции способ-

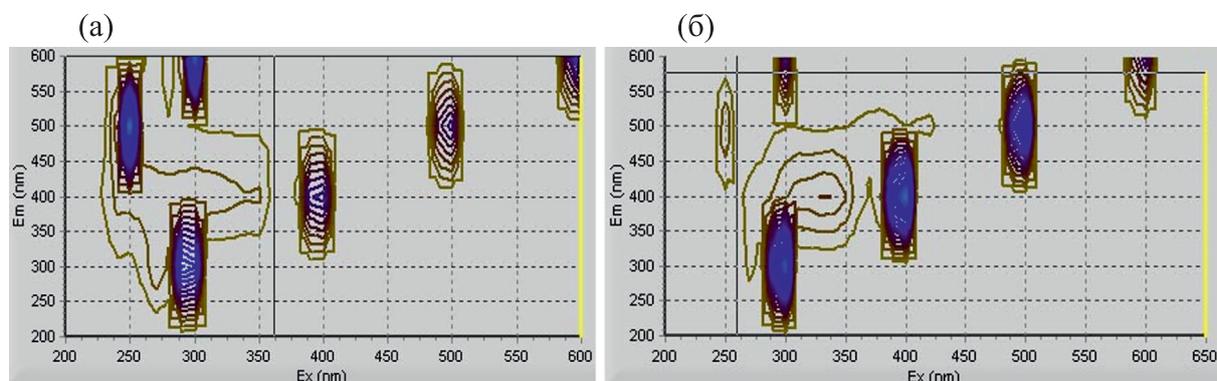


Рис. 5. Трехмерная контурная диаграмма возбуждения-эмиссии лизина (а) и аргинина (б) в концентрации 0.1 М и 0.005 М соответственно.

ствует образование водородных связей и возникновение состояний с переносом заряда [32–36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исследование аминокислот и их хромофорных групп является одним из наиболее интересных направлений, которое может пролить света на дальнейшее понимание эндогенной люминесценции биомолекул и механизмов функционирования биологических систем на молекулярном уровне. Это также представляется важным с точки зрения разработки новых диагностических средств в ближней УФ- и видимой области.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают свою благодарность за помощь в работе сотрудникам Н.К. Призовой и Л.М. Хайбулаевой. Работа была выполнена с использованием оборудования Сектора оптической микроскопии и спектрофотометрии ЦКП ПНЦБИ РАН (<http://www.ckp-rf.ru/ckp/670266/>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. E. A. Permyakov, *Luminescent Spectroscopy of Proteins* (CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 1993).
2. C. A. Royer, *Chem. Rev.* **106**, 1769 (2006).
3. D. Zhong, in *Advances in Chemical Physics*, Ed. by S. A. Rice (J. Wiley & Sons Inc., Hoboken, NJ, USA, 2009), pp. 83–149.
4. P. R. Callis, *J. Mol. Struct.* **1077**, 22 (2014).
5. L. Homchaudhuri and R. Swaminathan, *Chem. Lett.* **30**, 844 (2001).
6. L. Homchaudhuri and R. Swaminathan, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **77**, 765 (2004).
7. B.-H. Chai, J.-m. Zheng, Q. Zhao, and G. H. Pollack, *J. Phys. Chem. A*, **112**, 2242 (2008).
8. C. Niyangoda, T. Miti, L. Breydo, et al., *PLoS One* **12** (5), e0176983 (2017).
9. X. Chen, W. Luo, H. Ma, et al., *Sci. China Chem* **61**, 351 (2018).
10. P. Guptasarma, *Arch. Biochem. Biophys.* **478**, 127 (2008).
11. A. Shukla, S. Mukherjee, S. Sharma, et al., *Arch. Biochem. Biophys.* **428**, 144 (2004).
12. S. Prasad, I. Mandal, S. Singh, et al., *Chem. Sci.* **8**, 5416 (2017).
13. T. Vo-Dinh, *Appl. Spectrosc.* **36**, 576 (1982).
14. J. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (Springer, Boston, MA, 2006).
15. V. M. Parkin, *Absorption spectroscopy of organic molecules* (Addison–Wesley Publ. Comp., Lond., 1974).
16. Д. Браун, А. Флорид и М. Сейнбери, *Спектроскопия органических веществ* (Мир, М., 1992).
17. T. Goto and A. Ikehata, in *Far and Deep-Ultraviolet Spectroscopy*, Ed. by Yu. Ozaki and S. Kawata (Springer Japan, Tokyo, 2015), pp. 67–69.
18. J. S. McConnell, R. M. McConnel, and L. R. Hossner, *Proc. Arkansas Acad. Sci.* **47**, 73 (1993).
19. А. Н. Теренин, *Фотоника молекул красителей и родственных органических соединений* (Наука, Л., 1967).
20. М. Борн и Э. М. Вольф, *Основы оптики* (Наука, М., 1973).
21. C. Z. Tan, *Physica B* **269**, 373 (1999).
22. D. V. Bent and E. Hayon, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 2612 (1975).
23. D. V. Bent and E. Hayon, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 2599 (1975).
24. D. V. Bent and E. Hayon, *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 2606 (1975).
25. G. Khanariam and W. J. Moore, *Austr. J. Chem.* **33**, 1727 (1980).
26. F. Hausen, L. Jensen, P.-O. Astrand, et al., *J. Chem. Theory Comput.* **1**, 626 (2005).
27. B. A. Garetz, J. Matic, and A. S. Myerson, *Phys. Rev. Lett.* **89**, 175501 (2002).
28. О. В. Дегтярева, В. Н. Афанасьев, Н. Н. Хечинашвили и Е. Л. Терпугов, *Современные проблемы науки и образования*, № 4, 10010 (2013).
29. E. L. Terpugov, M. S. Kondratyev, and O. V. Degtyareva, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **39** (1), 108 (2020). DOI: 10.1080/07391102.2020.1717628
30. A. Panuszko, B. Adamczak, J. Czub, et al., *Amino Acids* **47**, 2265, (2015).
31. М. В. Агупова, О. В. Бобрешова и С. И. Карпов, *Сорбционные и хроматографические процессы* **8** (1), 117 (2008).
32. K.-M. Lee, W.-Y. Cheng, Ch.-Yu. Chen, et al., *Nature Commun.* **4**, 1544 (2013).
33. C. J. Jödicke and H. P. Lüthi, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (1), 252 (2003).
34. P. T. Chou, M. L. Martinez, and J. H. Clements, *J. Phys. Chem.* **97** (11), 2618 (1993).
35. A. D. Gorse and M. Pesquer, *J. Phys. Chem.* **99** (12), 4039 (1995).
36. T. Chatterjee, M. Mandal, A. Das, et al., *J. Phys. Chem. B* **120**, 3503 (2016).

Study of Spectral Characteristics of L-Lysine and L-Arginine Using UV-VIS Spectroscopy, Steady-State Fluorescence Spectroscopy and Synchronous Fluorescence Spectroscopy

E.L. Terpugov*, S.N. Udaltsov, and O.V. Degtyareva***

**Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 2/2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

Recently discovered luminescence properties of non-aromatic amino acids, with excitation-dependent photoluminescence in the absence of conjugation within individual molecules, have attracted a great deal of interest. There is no doubt that intrinsic luminescence phenomenon is a reality, but so far the mechanism involved in this process is not yet defined. In this study, spectral-luminescence properties of L-lysine and L-arginine were investigated to provide an in-depth understanding of these processes by using UV-VIS spectroscopy, steady-state fluorescence spectroscopy and synchronous fluorescence spectroscopy.

Keywords: L-lysine monohydrochloride, L-arginine monohydrochloride, excitation-dependent photoluminescence, synchronous fluorescence, UV-VIS spectroscopy