

О ЧИСЛЕ ЭКСПОНЕНТ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В КИНЕТИКЕ ЗАТУХАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

© 2018 г. **А.В. Клеваник**

Институт фундаментальных проблем биологии РАН,
142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 2

E-mail: rgreen1@rambler.ru

Поступила в редакцию 30.03.17 г.

Метод наименьших квадратов обычно используют для нахождения и параметров экспонент, и числа экспонент, формирующих кинетику затухания молекулярной флуоресценции. Однако этот метод чаще всего не достигает глобального минимума аппроксимации. Поэтому для нахождения числа экспонент N , сформировавших кинетику затухания флуоресценции, необходимо использовать более надежные методы. Если число экспонент не больше восьми, а величина отношения сигнала к шуму больше некоторого критического уровня, зависящего от N , то число экспонент, сформировавших кинетику затухающей флуоресценции, можно найти. Описан прямой безытерационный метод решения этой задачи.

Ключевые слова: кинетика затухания флуоресценции, число экспонент, матрица Ганкеля, ортогонально-треугольное разложение.

DOI: 10.1134/S0006302918060108

Достаточно часто кинетику затухания флуоресценции молекул невозможно аппроксимировать одной экспоненциально затухающей кривой [1,2]. Поэтому для выяснения амплитуд и действительных показателей экспонент разработали много методов мультиэкспоненциальной аппроксимации затухающей кинетики [1–3]. Чтобы воспользоваться любым из методов, необходимо заранее задать число экспонент (N), содержащихся в кинетике. Поскольку число N заведомо неизвестно, то, как правило, задают пробные значения N , и для каждого N проводят аппроксимацию. Потом находят то значение N_* , которое доставило самый глубокий минимум квадратичному отклонению теоретической кривой от эксперимента (см., например, работы [3,4]). Однако для заданной величины N при использовании итерационных методов нелинейной оптимизации находят такие значения искомого параметра, которые не позволяют достичь глобального минимума аппроксимации. Поэтому надежность такого поиска N_* представляется весьма сомнительной. Недавно, итерационно решая нелинейную задачу наименьших квадратов, N включили в число независимо

варьируемых переменных [5]. При этом, однако, глобальный минимум аппроксимации так и не находили. В некоторых безытерационных методах аппроксимации кинетики [6,7], а они доставляют глобальный минимум аппроксимации, проводя расчет значений искомого параметра, попутно получают оценку числа N_* . Однако для безытерационных методов аппроксимации кинетических кривых характерна очень низкая надежность [1]: по неведомым до сих пор причинам они чаще не работают с данными эксперимента, чем работают. Поэтому возникает вопрос: нельзя ли найти число аппроксимирующих экспонент N_* таким способом, чтобы к процедурам аппроксимации не прибегать вообще? Ведь за этим числом очень часто скрываются именно те процессы, которые и необходимо исследовать более детально. Приведу ряд примеров.

1. При исследовании процесса разделения зарядов в реакционных центрах фотосинтезирующих бактерий было показано, что молекула бактериофеофитина служит переносчиком электрона от первичного донора к «первичному» акцептору электрона [8]. Причиной проведения более детальных исследований послужило следующее наблюдение. Если реакционные центры возбуждали светом, а они при этом находились в состоянии с уже восстановленным «первичным» акцептором электрона, то в кинетике затухания флуоресценции первичного донора

Сокращения: *rank* – ранг матрицы, $A \in \mathfrak{R}^{n \times m}$ – матрица A принадлежит множеству вещественных матриц размерности $n \times m$, *QR* – ортогонально-треугольное разложение, *SNR* – величина отношения сигнал/шум, измеряемая в децибелах.

электрона кроме пикосекундно релаксирующей компоненты появилась компонента со временем жизни порядка 10 нс [8,9]. Далее выяснили рекомбинационную природу этого излучения и идентифицировали молекулы, принимающие участие в рекомбинационном процессе [8].

2. После того, как было показано участие молекулы феофитина в процессе разделения зарядов в реакционных центрах второй фотосистемы высших растений [10,11], стало понятным, что необходимо искать соответствующий (рекомбинационный) компонент в кинетике затухающей флуоресценции первичного донора электрона. И этот компонент нашли [12,13].

3. Переносу электрона от первичного донора на молекулу бактерифеофитина в реакционных центрах фотосинтезирующих бактерий предшествует обратимый перенос электрона от первичного донора (димера молекул бактериохлорофилла) на молекулу бактериохлорофилла [14–16]. Поэтому в кинетике индуцированного излучения первичного донора электрона в реакционных центрах должен был проявиться соответствующий рекомбинационный компонент. И он был обнаружен [17]. Детальный анализ кинетики индуцированного излучения, проведенный в работах [18,19], показал, что при температурах 5–25 К кинетика состояла только из одной экспоненты. Показатель этой экспоненты дает константу скорости отрыва электрона от первичного донора. В интервале температур 25–200 К в кинетике индуцированного излучения первичного донора уже обнаруживались две экспоненты. Если первая экспонента описывала процесс разделения зарядов, то вторая – их рекомбинацию. При температурах среды, больших 200 К, кинетика индуцированного излучения состояла из трех затухающих экспонент. Если первая экспонента, как и прежде, описывала процесс разделения зарядов, то вторая и третья – их рекомбинацию с «ловушками» разной глубины. Поэтому представляется важным, чтобы у экспериментатора была возможность оперативно, т.е. во время проведения эксперимента, получать информацию о числе экспоненциальных компонент, присутствующих в затухающей кинетике, например флуоресценции.

МАТРИЦА ГАНКЕЛЯ ДАННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Пусть $I(t)$ – кинетика затухающей флуоресценции (или любого иного процесса), а $I_j = I(t_j)$ – ее равноотстоящие во времени дискретные отсчеты ($j = 1, \dots, n$). Мы хотим из этой кинетической кривой извлечь то ее свойство, которое ни в каком физическом эксперименте

невозможно измерить. А именно, выявить число экспонент (N), которые сформировали эту кинетику. Для этого выделим в кинетике $I(t)$ m фрагментов и представим их следующими векторами: $\omega_1^T = [I_1 \ I_2 \ \dots \ I_L]$, $\omega_2^T = [I_2 \ I_3 \ \dots \ I_{L+1}]$, ..., $\omega_m^T = [I_m \ I_{m+1} \ \dots \ I_n]$, где $L = n - m + 1$, T – транспонирование. Если $I(t) = I_0 \exp(-t/\tau)$ или $I_k = I_0 \exp(-(k-1)h/\tau)$, то $I_1 = I_0$, $I_2 = \xi I_1$, $I_3 = \xi^2 I_1$ и $I_m = \xi^{m-1} I_1$, где $\xi = \exp(-h/\tau)$. Тогда $\omega_2 = \xi \omega_1$, $\omega_3 = \xi^2 \omega_1$ и $\omega_m = \xi^{m-1} \omega_1$. Другими словами, в случае моноэкспоненциальной кинетики $I(t)$ все введенные векторы ω_k линейно зависимы. В случае мультиэкспоненциально затухающей кинетики $I(t)$ не все введенные векторы ω_k будут линейно зависимыми. Можно предположить, что число экспонент, содержащихся в кинетике $I(t)$, равно числу линейно независимых векторов из множества $\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_m$. Следуя работе [20], составим из координат векторов ω_k матрицу Γ :

$$\Gamma = \begin{bmatrix} I_1 & I_2 & I_3 & \dots & I_m \\ I_2 & I_3 & I_4 & \dots & I_{m+1} \\ I_3 & I_4 & I_5 & \dots & I_{m+2} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ I_L & I_{L+1} & I_{L+2} & \dots & I_n \end{bmatrix} \quad (1)$$

Поскольку антидиагональные элементы у матрицы (1) не изменяются, то Γ является матрицей Ганкеля (Hankel) [20]. Число линейно независимых векторов из множества $\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_m$ равно рангу матрицы Ганкеля [20], составленной из координат этих векторов. Поэтому число экспонент, содержащихся в кинетике $I(t)$, равно рангу (rank) матрицы Ганкеля, составленной из дискретных компонент кинетики $I(t)$. Если $I(t)$ – экспонента, то $\text{rank}(\Gamma) = 1$.

Пусть $\Gamma \mathbf{P} = \mathbf{Q} \mathbf{R}$ – ортогонально-треугольная факторизация прямоугольной матрицы Ганкеля Γ с выбором ведущего столбца у матрицы Γ (\mathbf{P} – матрица перестановок) [21]. Поскольку \mathbf{P} – матрица полного ранга, то $\text{rank}(\Gamma \mathbf{P}) = \min(\text{rank}(\Gamma), \text{rank}(\mathbf{P})) = (\text{rank}(\Gamma))$ [22]. Поскольку \mathbf{Q} – ортогональная матрица, то $\text{rank}(\mathbf{Q}) = m$ и $\text{rank}(\Gamma) = \min(\text{rank}(\mathbf{Q}), \text{rank}(\mathbf{R})) = (\text{rank}(\mathbf{R}))$. То есть ранг Γ равен числу ненулевых диагональных элементов ее верхнетреугольного фактора \mathbf{R} [21]. Следовательно, число экспонент, содержащихся в кинетике $I(t)$, равно числу ненулевых диагональных элементов треугольного фактора \mathbf{R} матрицы Ганкеля Γ . Поскольку в современных экспериментах кинетика $I(t)$ содержит не менее 1024 дискретных отсчетов, то

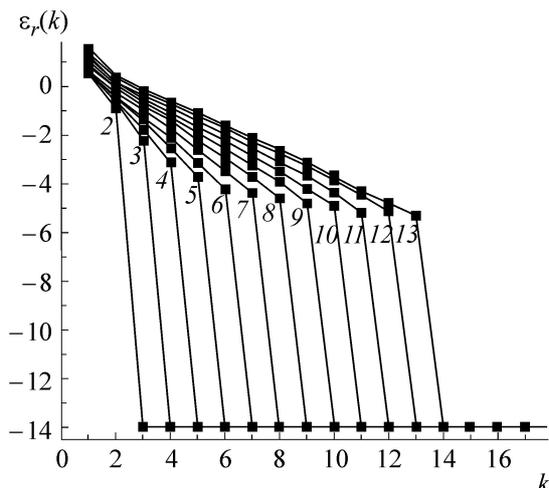


Рис. 1. Факторные спектры мультиэкспоненциальных кинетических кривых. Число, расположенное около кривой, означает: номер спектра; номер последнего ненулевого факторного числа в спектре (или ранг матрицы Γ); число экспонент в кинетической кривой, соответствующей данному спектру.

справедливость последнего утверждения можно показать, проведя, например, численные эксперименты.

ПАРАМЕТРЫ ЧИСЛЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Будем полагать, что кинетику затухающей флуоресценции можно представить следующей суммой: $I(t) = \sum_{k=1}^{k=N} d_k \exp(-t/\tau_k)$. Пусть

$$\tau_k = 2^{k-1} \tau_{\min}, \quad (2)$$

где $k = 1, 2, \dots, N$, а τ_{\min} задает масштаб и единицы измерения. В этом случае относительное «расстояние» δ_k ($\delta_k = \tau_{k+1}/\tau_k - 1$) между ближайшими по величине постоянными времени не изменяется. Если

$$\tau_k = k \tau_{\min}, \quad (3)$$

то в этом случае $\delta_k = 1/k$, и относительное расстояние между ближайшими по величине постоянными времени уменьшается с ростом k . Если

$$\tau_k = k! \tau_{\min}, \quad (4)$$

то $\delta_k = k$. В этом случае относительное расстояние между ближайшими по величине постоянными времени увеличивается. Пусть $h = \tau_{\min}/4$ и $T = 8\tau_N$. Тогда число отсчетов будет равно $n = 1 + T/h$ или $n = 1 + 32\tau_N/\tau_{\min}$. Если

$n \geq 1024$, то $t_j = h(j - 1)$. Если $n < 1024$, то полагаем: $n = 1024$, $h = T/(n - 1)$ и $t_j = h(j - 1)$. Отсчеты идеального сигнала будут следующими:

$$I_j^{(o)} = \sum_{k=1}^{k=N} d_k \exp(-t_j/\tau_k).$$

Далее задавали реализации «белого» шума S_j (*ran2.f*, согласно работе [23]) и рассчитывали дискретные отсчеты полного сигнала:

$$I_j = I_j^{(o)} + \delta(S_j - \bar{S}), \quad (5)$$

где $\bar{S} = n^{-1} \sum_{j=1}^{j=n} S_j$ – средняя амплитуда шума, δ – амплитуда шума, которую задавали следующим образом. Величину отношения сигнал/шум (*SNR*) в децибелах определим следующим способом:

$$SNR = 20 \lg(I_o / \langle s \rangle_T), \quad (6)$$

где I_o – амплитуда кинетики без вклада шума, $\langle s \rangle_T = n^{-1} \sum_{j=1}^{j=n} |S_j - \bar{S}|$ – средняя амплитуда абсолютной величины шума. Заранее задав требуемую величину *SNR*, получим $\delta = 10^{\frac{SNR}{20}} I_o / \langle s \rangle_T$.

Заполнив дискретными отсчетами матрицу Γ , проводили ее *QR*-факторизацию с выбором ведущего столбца: $\Gamma \Pi = \mathbf{Q} \mathbf{R}$ (*dgeqpf.f*, согласно работе [24]). Несколько изменив текст программы *dgeqpf.f*, обрабатывали только k ($k = m/10$) столбцов матрицы Γ . Поэтому $\mathbf{Q} \in \mathfrak{R}^{L \times k}$ и $\mathbf{R} \in \mathfrak{R}^{k \times k}$. Чтобы исправить значения факторных чисел, небольшую матрицу \mathbf{R} подвергали сингулярному разложению (*dgesvdf.f*, согласно работе [23]): $\mathbf{R} = \tilde{\mathbf{U}} \tilde{\boldsymbol{\mu}} \tilde{\mathbf{V}}^T$, $\tilde{\mathbf{U}} \in \mathfrak{R}^{k \times k}$, $\tilde{\mathbf{V}} \in \mathfrak{R}^{k \times k}$, $\tilde{\boldsymbol{\mu}} \in \mathfrak{R}^{k \times k}$. Когда $k = m$, тогда исправленные факторные числа с хорошей точностью совпадали с сингулярными числами сингулярного разложения $\Gamma = \mathbf{U} \boldsymbol{\mu} \mathbf{V}^T$. Но поскольку $k \ll m$, то, несколько потеряв в точности расчета исправленных факторных чисел, мы существенно выиграли во времени их расчета. Далее рассчитывали факторный спектр ($j = 1 \div k$): $\varepsilon_r(j) = \lg(\max(10^{-14}, \tilde{\boldsymbol{\mu}}_{j,j}))$.

РАНГ МАТРИЦ ГАНКЕЛЯ В ИДЕАЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

На рис. 1 показаны факторные спектры, рассчитанные для кинетических кривых $I^{(o)}(t)$ согласно уравнению (5) при разном числе экспонент, сформировавших кинетику $I^{(o)}(t)$, а постоянные времени экспонент распределили по

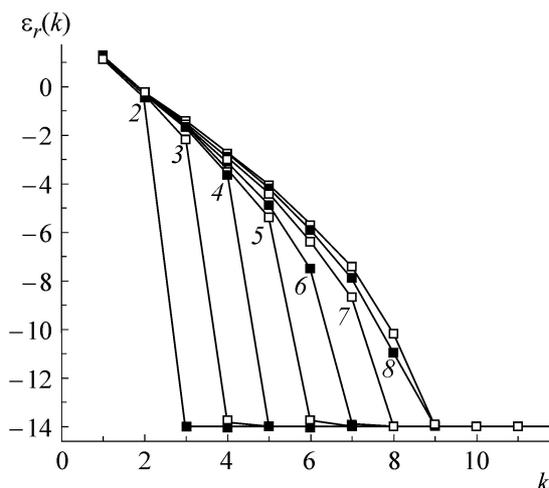


Рис. 2. Факторные спектры мультиэкспоненциально затухающих кинетических кривых, постоянные времени которых распределены по закону (3). Число, расположенное около кривой, означает: номер спектра; номер последнего ненулевого факторного числа в спектре; число экспонент в кинетической кривой, соответствующей данному спектру.

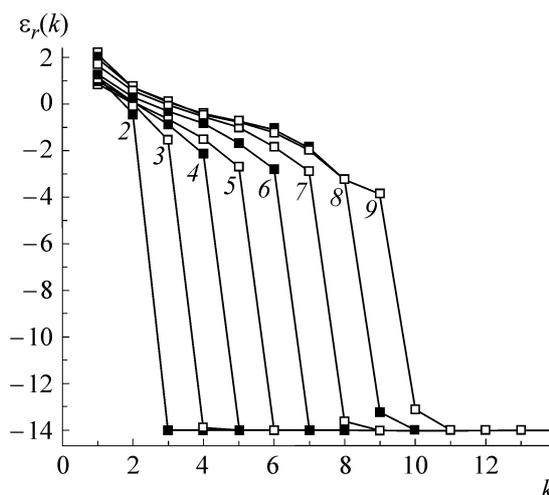


Рис. 3. Факторные спектры мультиэкспоненциально затухающих кинетических кривых, постоянные времени которых распределены по закону (4). Число, расположенное около кривой, означает: номер спектра; номер последнего ненулевого факторного числа в спектре; число экспонент в кинетической кривой, соответствующей данному спектру.

закону (2). Амплитуды экспонент были равными. Число, расположенное около спектральной кривой на рис. 1 соответствует числу экспонент, сформировавших кинетическую кривую $I^{(o)}(t)$. Это с одной стороны. А с другой – показывает число ненулевых диагональных элементов в **R**-факторе соответствующей матрицы Ганкеля **G**, т.е. ранг матрицы **G**. Итак, ранг матрицы Ганкеля (1) полностью соответствует числу затухающих экспонент, сформировавших кинетику $I^{(o)}(t)$. Заметим, что если N затухающих экспонент сформировали кинетику, то именно N факторных чисел будут отделены «ступенькой» от «нулевых» факторных чисел. «Ступенька» будет наблюдаться, если у функции $f_r(k) = r_{k,k} / \sqrt{r_{k-1,k-1} r_{k+1,k+1}}$ при $k = N$ будет сильный максимум.

На рис. 2 показаны факторные спектры, рассчитанные для кинетических кривых $I^{(o)}(t)$ в том случае, когда постоянные времени распределены по закону (3). В этом случае удалось выявить только восемь экспонент. Если кинетика $I^{(o)}(t)$ состояла из девяти экспонент, то «ступенька», которая разделяет ненулевые и «нулевые» диагональные элементы в **R**-факторе, исчезла. Произошло это из-за близости постоянных времени: их не удалось разрешить. Правда, если кинетика состояла только из двух экспонент, то в идеальном эксперименте можно было разрешить очень близкие по величине постоянные времени. Однако если шумы присутствовали в эксперименте, тогда разрешающая способность метода сильно зависела от

амплитуды шума. Формулу разрешения см. в работе [25].

На рис. 3 показаны факторные спектры, рассчитанные для тех кинетических кривых $I^{(o)}(t)$, в которых постоянные времени распределены по закону (4). Только недостаточный объем оперативной памяти персонального компьютера не позволил использовать кинетические кривые с числом экспонент, превышающим девять. Но даже в этом случае $\tau_9/\tau_1 = 362880$, что, по-видимому, достаточно для моделирования результатов любого эксперимента. Итак, если число экспонент, сформировавших $I(t)$, не превысило восьми, то нет причин, кроме шума, которые бы помешали оперативно их выявить.

ВЛИЯНИЕ ШУМА

Пусть $I^{(o)}(t)$ – сумма трех (6) затухающих экспонент ($\tau_k = 1,2,4$ нс; $b_k = 1$), а $I(t)$ – сумма $I^{(o)}(t)$ и белого шума (7). На рис. 4 показаны факторные спектры, рассчитанные для разных значений SNR . Видно, что с ростом SNR величины одной группы факторных чисел синхронно уменьшаются. Через факторные числа этой группы, начиная с четвертого числа (см. рис. 4), можно провести линию, почти «параллельную» оси абсцисс. Поэтому числа, принадлежащие этой группе, следует связать с шумами. Величина первого факторного числа почти не зависит от использованных уровней шума. Поэтому первое факторное число связано только с полезным сигналом. С соотношением второго

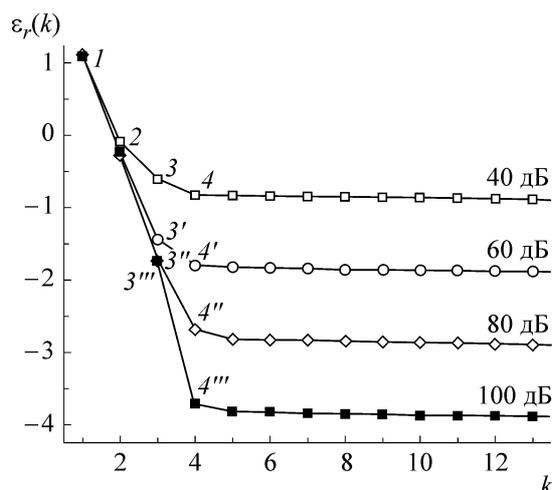


Рис. 4. Факторные спектры зашумленных трех экспоненциально затухающих кинетических кривых. Число, расположенное около спектральной кривой, указывает значение SNR для использованной в расчете кинетики.

и третьего факторных чисел возникают проблемы. Но если рассмотреть факторный спектр «100 дБ», то здесь все понятно. Факторные числа с номерами 3 и 4 отделены «ступенькой». Особенно это хорошо видно в f -спектре, показанном дисками на рис. 5. Максимум и минимум функции $f_r(k) = r_{k,k} / \sqrt{r_{k-1,k-1} r_{k+1,k+1}}$ приходятся на номера 3 и 4 соответственно, причем $k_{\min} - k_{\max} = 1$ и $f_r(k_{\max}) > 1$. Именно эти два обстоятельства указывают на то, что $N_* = 3$. В спектре «80 дБ» (рис. 4) факторные числа с номерами 3 и 4 отделены «щелью», а не «ступенькой». Максимум и минимум функции $f_r(k)$ (рис. 5, кружки) приходятся на номера 2 и 4. Поэтому можно только предположить, что $N_* = 3$. В спектре «60 дБ» (рис. 4) факторные числа с номерами 3 и 4 отделены «щелью», а максимум и минимум функции $f_r(k)$ (рис. 5, треугольники) приходятся на номера 2 и 3. Но поскольку $f_r(k_{\max}) < 1$, то $N_* \neq 2$, и SNR необходимо увеличить, продолжив накопление данных в эксперименте.

ОБСУЖДЕНИЕ

Чтобы выяснить число экспонент, содержащихся в кинетической кривой, в 1984 г. квантовые химики предложили рассчитывать матрицу ковариаций данных эксперимента и анализировать ее детерминанты [26]. Однако расчет ковариационной матрицы – времяемкая процедура. Более того, легко показать, что ранг матрицы Ганкеля данных эксперимента равен рангу ковариационной матрицы этих же данных. Поэтому оба подхода дают одинаковые

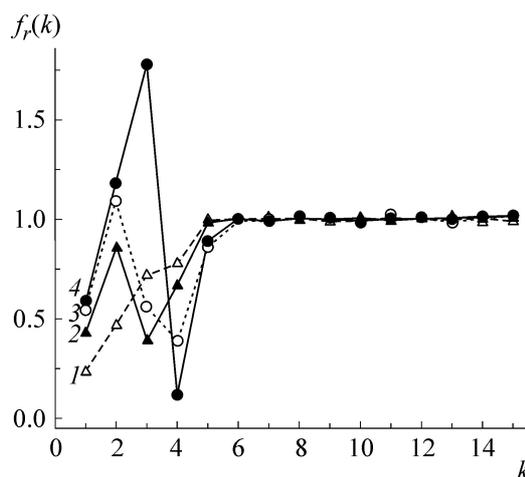


Рис. 5. Факторные f -спектры зашумленных трех экспоненциально затухающих кинетических кривых: $SNR = 40$ дБ (1); $SNR = 60$ дБ (2); $SNR = 80$ дБ (3); $SNR = 100$ дБ (4).

результаты, за исключением того, что метод, описанный здесь, работает во много раз быстрее. В работе [6] число экспонент оценивали из величин коэффициентов Падэ при аппроксимации образа Лапласа кинетики. К сожалению, значительно более корректный расчет этих коэффициентов требует и значительно больших затрат процессорного времени. Более всего предложенный метод согласуется с частью метода мультиэкспоненциальной аппроксимации кинетики (алгоритм АРМ) [7]. В нем матрицу Ганкеля $\Gamma \in \mathcal{R}^{L \times N_*}$, где N_* – предварительная оценка числа экспонент, подвергали сингулярному разложению. Однако ранее было показано [27], что для того, чтобы все сингулярные числа сигнала отделились от сингулярных чисел шума низкого уровня, отношение m/N_* должно быть не менее 80, т.е. число столбцов в матрице Ганкеля должно быть много больше ожидаемого числа экспонент. Недавно показано, что если n – число дискретных отсчетов в кинетике $I(t)$, то величина «ступеньки» будет максимальной, если $m = n/2$ [28]. Если мы хотим потенциально выявить, скажем, восемь экспонент, то размерность матрицы Ганкеля должна быть порядка 640×640 . Затраты времени, требуемые на расчет сингулярного разложения, пропорциональны $n^3/8$. Ту же матрицу приводим к ортогонально-треугольному виду, затратив на это время, пропорциональное только $n^2/4$ [20]. Если факторные числа полезного сигнала отделены «ступенькой» от факторных чисел шума, то полное число факторных чисел сигнала даст число экспонент, сформировавших затухающую кинетику (см. рис. 4, спектр «100 дБ»). Если уровень шума высок и «ступенька» не выявля-

ется (см. рис. 4, спектры «40 дБ» и «60 дБ»), то накопление кинетики необходимо продолжить. Если при регистрации кинетики используют метод счета фотонов, то необходимо проводить накопление (усреднение) треков, поступающих из прибора. Это единственный способ уменьшить уровень шума в сигнале и не исказить при этом ни спектр полезного сигнала, ни спектр шума. Если «ступенька» все же не образуется, то анализ выявит не истинное число экспонент, а даст *оценку* минимально возможного числа экспонент, которую следует использовать при аппроксимации кинетики. Если при этом средняя величина шума не равна нулю, то данный метод выявит одну лишнюю экспоненту. Не лишним будет избавиться и от аппаратной функции прибора, т.е. провести деconvolution кинетики [29].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. Holzwarth, *Methods Enzymol.* **246**, 334 (1995).
2. I. van Stokkum, *Global and target analysis of time-resolved spectra* (Vrije Universiteit, Amsterdam, 2005).
3. V. Pereyra and G. Scherer, *Exponential data fitting* (San Diego State Univ., San Diego, 2009).
4. C. Cabral, H. Imasato, J. Rosa, et al., *Biophys. Chem.* **97**, 139 (2002).
5. A. Alvarez and H. Lara, *Opuscula Mathematica* **31** (4), 481 (2011).
6. Z. Bajzer, A. Myers, S. Sedarous, and F. Prendergast, *Biophys. J.* **56**, 79 (1989).
7. D. Potts and M. Tasche, *Signal Processing* **90**, 1631 (2010).
8. V. Shuvalov and V. Klimov, *Biochim. Biophys. Acta* **440**, 587 (1976).
9. V. Godik and A. Borisov, *Biochim. Biophys. Acta* **548**, 296 (1979).
10. А. Клеваник, В. Климов, В. Шувалов и А. Красновский, *ДАН СССР* **236** (1), 241 (1977).
11. V. Klimov, A. Klevanik, V. Shuvalov, and A. Krasnovsky, *FEBS Lett.* **82** (2), 183 (1977).
12. В. Климов, С. Аллахвердиев и В. Пашенко, *Докл. АН СССР* **242**, 1204 (1978).
13. V. Shuvalov, V. Klimov, E. Dollan, et al., *FEBS Lett.* **118**, 279 (1980).
14. V. Shuvalov, A. Klevanik, A. Sharkov, et al., *FEBS Lett.* **91**, 135 (1978).
15. V. Shuvalov and A. Klevanik, *FEBS Lett.* **160**, 51 (1983).
16. T. Arlt, S. Schmidt, W. Kaiser, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 11757 (1993).
17. H. Huber, M. Meyer, H. Scheer, et al., *Photosyn. Res.* **55**, 155 (1998).
18. А. Клеваник, *Докл. РАН* **440** (6), 837 (2011).
19. А. Клеваник, *Биол. мембраны* **29** (3), 215 (2012).
20. Ф. Гантмахер, *Теория матриц* (Наука, М., 1966).
21. G. Golub and C. van Loan, *Matrix computations* (The Johns Hopkins Press, London, 1996).
22. В. Босс, *Лекции по математике. Линейная алгебра* (КомКнига, М., 2005).
23. W. Press, S. Teukolsky, W. Vetterling, and B. Flannery, *The art of Scientific Computing* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 2007).
24. E. Anderson, Z. Bai, C. Bischof, et al., *LAPACK Users' Guide* (SIAM, Philadelphia, 1999).
25. S. Marco, J. Palacn, and J. Samitier, *IEEE. Trans. Instrum. Measur.* **50** (3), 774 (2001).
26. J. Szamosi and Z. Schelly, *J. Comput. Chem.* **5**, 182 (1984).
27. H. Nielsen, *Multi-exponential fitting of low-field ¹H NMR data* (Technical University Denmark, Lyngby, 2000).
28. R. Mahmoudvand and M. Zokaei, *Chilean J. Statistics* **3** (1), 43 (2012).
29. J. Lakowicz, *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, (Kluwer Acad. Publishers, New York, 1999), vol. 1.

On the Sum of Exponentials Forming the Molecular Fluorescence Decay Kinetics

A.V. Klevanik

*Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 2, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

A least square method is commonly used to find the parameters and sums of exponentials forming the molecular fluorescence decay kinetics. However, this method does not usually lead to a global minimum of approximation, and therefore, more reliable methods are needed to find sums of exponentials N which have formed the fluorescence decay kinetics. If the sum of exponentials is not greater than 8, and a signal to noise ratio is greater than the critical ratio, which depends on N , then it is possible to calculate the sum of exponentials which have formed the fluorescence decay kinetics. A direct, noniterative method for state estimation is described.

Keywords: fluorescence decay kinetics, sums of exponentials, Hankel matrix, QR decomposition