

## **Fotosünteesiliste valgusergastuste eksiton-polaron iseloom**

*A. Freiberg, M. Rätsep, K. Timpmann*

Koolilapski teab, et elu aluseks olev fotosüntees algab valguse neeldumisega klorofüllilise molekuli poolt. Mis sel hetkel aga täpselt juhtub, aimavad vähesed. Riigi teaduspreemiaga äramärgitud töödetsükli õnnestus meil näidata, et teatud juhtudel muundub valguskvant e footon kõigest sajakonna femtosekundi jooksul teiseks kvantosakeseks - eksiton-polaroniks. See on võimeline neeldunud valgusenergiat fotosünteesilises membraanis väga kiiresti vajalikku kohta edasi toimetama.

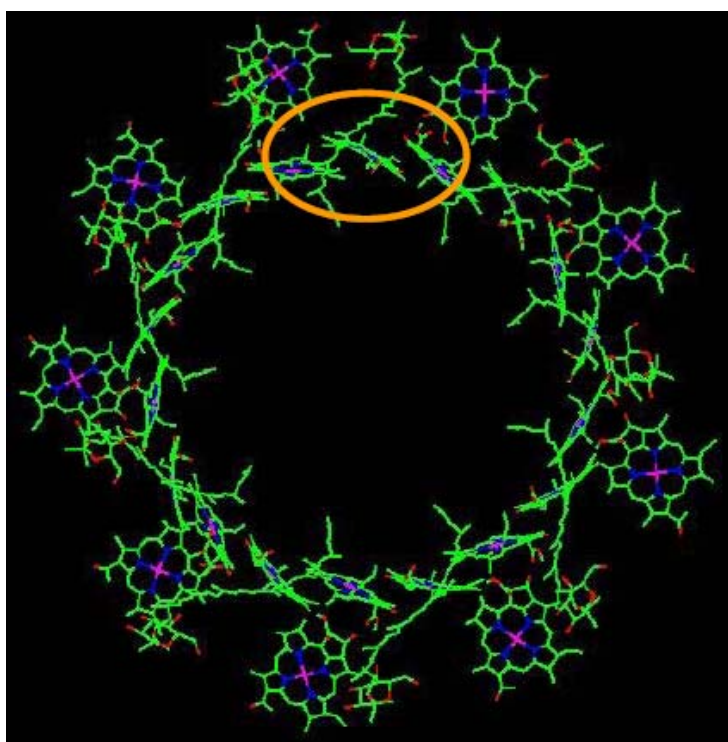
### **Eellugu**

Biosfäär eksisteerib vaid tänu fotosünteesi vahendusel Päikeselt saadavale energiale. Fotosünteesis neelatakse footon eelkõige klorofüllilise molekuli poolt, mis paiknevad taimede ja fotosünteesiliste bakterite erilistes rakumembraaniga seotud valgukompleksides e antennides. Laias spektrivahemikus neelatud valgusenergia liigub kiiresti nn tsentriklorofüllidele, põhjustades nende oksüdatsiooni. Oksüdatsioonil vabaneva elektroni ja sellega kaasneva prootoni e vesiniku tuuma ülekandereaktsioonides muundataksegi esialgne valgusenergia elusaine sünteesiks kõlblikuks keemiliseks energiaks.

Selliselt kokkuvõetuna ei paista fotosünteesi pärisalgus (asjaosalised räägivad sellega seoses primaar- või esmaprotsessidest) sugugi keeruline olevat. See mulje on paraku sügavalt ekslik. Fotosünteesi esmaprotsesside erakordselt kõrge - peaaegu 100% - kvantsaagise põhjusi on kaua ja pingsalt uuritud. Esimesi töid selles vallas, mis avaldati juba ligi 70 aastat tagasi, kuulub J Franckile ja E. Tellerile [1]. Mitmekülgset andekas Ungari päritolu füüsikateoreetik E. Teller on sama mees, kes sai hiljem tuntuks ameerika vesinikupommi ühe loojana. Üllataval kombel käsitletakse töös [1] fotosünteesiga seoses esmakordselt ka eksitone - valguse neeldumisel tekkivaid ja üle paljude naabermolekulide levivaid (delokaliseerunud) elektronergastusi. Eksiton oli küll juba mõned aastad varem (1931. a) vene füüsiku J. Frenkel poolt teadusesse toodud, kuid silmas pidades vaid kõrg-korrastatud (kristallilisi) objekte. Taimede fotosüsteemi aga tolleaegsete teadmiste valguses vaevalt väga korrastatuks pidada sai. Arvatavasti just taustateadmiste puudulikkus ei võimaldanud kõnealusel ega ka paljudel järgnevatel töödel asja tuuma tabada. Näiteks fotosüsteemilist ühikut käsitleti esialgu vaid funktsionaalse üksusena, võrreldavalt "musta kastiga" elektrotehnikas. Tema keeruline molekulaarne struktuur ja erinevate osade omavahelised suhted selgusid tasapisi alles palju hiljem, vastavalt edusammudele molekulaarbioloogia ja struktuurse bioloogia vallas. Selle arengu käigus töötati välja ka antud töödetsükli seisukohalt oluline energeetilise leetri printsiip. Selle kohaselt antennipigmentide üleminekuenergiad kasvavad laias laastus võrdeliselt kaugusega leetri alumises otsas või neelus asuvatest tsentriklorofüllidest. Nii moodustub fotosünteesilisel membraanil asuv vaba energia potentsiaalireljeef, mille kõrgemad osad moodustuvad erinevatest antennidest ning mille orgudes asuvad tsentrikomplekside neelud nagu laukad soos. Vaba energia gradient määrab siis valguse poolt tekitatud elektronergastuse liikumise suuna ja impulsi sellel pinnal. Mõistagi on see ettekujutus ülimalt lihtsustatud, kuid vahel on sellestki suur abi. Meilgi õnnestus selle mudeli täpsustamisesse oma panus anda [2-4]. Muuhulgas tõestasime, et näiliselt eraldiseisvad spektrihooned

füsioloogilistel temperatuuridel mõõdetud fotosünteetilise ühiku spektrites on tegelikult mittehomoogeenselt laienenud. Sellest tuleb aru saada niimoodi, et üksikult võttes on antennikomplekside spektrid küllaltki erinevad. Üheskoos, suure ansamblina, aga katavad nad ühtlaselt võrdlemisi laia spektrivahemiku, mis üldjuhul soodustab energia efektiivset tsentriklorofüllidele kanaliseerimist. Samuti määrasime fotoergastuste keskmise eluea bakterite fotosüsteemis ning näitasime, et see eluiga sõltub tsentriklorofüllide ergastusolekust [5]. Täna võime tõdeda, et just need aastatetagused tulemused löid aluse Tartu fotosünteesi biofüüsika uurimise koolkonnale.

Antud töödetsükli seisukohalt aga kujunes pöördeliseks möödunud kümnendi keskpaik. Siis tuvastati fotosünteetiliste purpurbakterite perifeerse LH2 antennivalgu kristallstruktuur [6]. Põguski pilk joonisele 1 viib mõttele, et Franckil-Telleril võis olla õigus – korrapärane ringikujuline bakteriklorofüllide struktuur võiks eksitone küll toetada. Kas ka tegelikult, see vajab muidugi alles selgitamist. Valkude



Joonis 1. Fotosünteetiliste purpurbakterite *Rhodospseudomonas acidophila* perifeerne LH2 antennikompleks. Membraanitasandi pealtvaates on näidatud vaid fotoaktiivsete bakteriklorofüllide paigutus. Pigmentimolekule kooshoidev valgümbri on ülevaatlikkuse huvides eemaldatud. Kokku 27 bakteriklorofüllide molekuli moodustavad kaks kontsentrist ringi. Just siseringsis tihedalt külj-külje kõrval asuvad (ja seega tugevas resonantses vastastikmõjus olevad) 18 molekuli pakuvad meile antud käsitluses erilist huvi. Ovaal kujutab autokaliseerunud eksitoni ja sellega seotud võreformatsiooni ligikaudset ulatust.

kristallograafia lahutusvõime on tänapäeval piiratud umbes 0.2 nm. Optiline spektroskoopia tunneb aga vähemalt kolm suurusjärku väiksemaid ruumikoordinaatide muutusi. Lisaks esindab kristallstruktuur vaid mingit keskmist valgü ehitust. Iga üksiku antennikompleksi struktuur võib sellest piisavalt palju erineda.

Nende küsimuste lahendamiseks rakendati kogu kättesaadavat meetodilist arsenalit alates geenitehnoloogiast ja lõpetades teoreetilise füüsikaga. Tartu labori osales jõudumööda selles kohati palavikulises võidujooksus. Meie selle perioodi põhitulemus seisneb antennisisese energiarelaksatsiooni ja antennidevaheliste energiasüirete ühemõttelises

eristamises ajalis-spektraalse e spektrokronograafilise kriteeriumi järgi [7, 8]. Ülikiire spektrokronograafia on teatavasti juba paarkümmend aastat tagasi Tartus väljaarendatud spektroskoopiasuund [9]. Võrreldes mõõtmistulemusi üksikute ja membraanis kõrvutiasetsevate antennide jaoks selgus, et antennisiseste protsesside karakterne aeg on 100 fs kuni 1 ps. Aeglasemad protsessid esinevad vaid membraanides ja on seega seotud energiasiiiretega erinevate kompleksite vahel. Sarnaselt võib spektrite mittehomogeenses laienemises eristada kahte, sisemist ja välist, komponenti. Esimene on tingitud pigmendimolekulide siirdeenergiate variatsioonidest üksikus antennikompleksis, teine aga keskmise üleminekuenergia erinevustest antennide ansamblis [10].

Kuid naaseme eksitoni juurde. On siis neid fotosünteetilistes antennides või mitte? Sellele tähtsale küsimusele seni selge vastus puudus. Just esmaste fotoergastuste iseloomust sõltub, milline on tekkinud molekulaarsete elektronergastuste edasine saatus, sh nende relaksatsiooni ja liikumise mehhanismid ning levi kiirus fotosünteetilises membraanis. Neid protsesse detailselt uurides võiks ja peaks olema võimalik saada teavet meid huvitava küsimuse kohta.

Raskused tulenevad sellest, et enamikku nimetatud protsesse suunavad väga erinevad jõud, mille suurus ja suund on pahatihti kas tundmatud või vaid osaliselt teada. Võtame näiteks elektronide siirdeenergiat mõjutavad tegurid. Neid saab lihtsustatult jagada kaheks, eristades klorofüllimolekulide omavahelist (resonantset) vastastikmõju mitteresonantsest mõjust, mis toimib klorofüllil ja teda ümbritseva valguga vahel ning on ülalmainitud mittehomogeense laienemise põhjuseks. Kirjandust sirvides selgub, et erinevate autorite poolt esitatud resonantse interaktsioonienergia väärtus lahkes fotosünteetiliste bakterite puhul kuni neli korda. Taimede jaoks puudusid põhjendatud hinnangud sootuks. Sama ebamäärased olid ka mittehomogeense laiuse hinnangud. Mida võtta, mida jätta? See ei ole triviaalne küsimine. Toome veelkord näiteks mittehomogeense laienemise. Laiemate spektrite energialevi soodustav mõju tundub iseenesestmõistetav. Sügavamal järelemõtlemisel tekivad aga õigustatud küsimused. Kuidas energia sellises spektraalselt ebahürtlases keskkonnas üldse levida saab, eriti madalatel temperatuuridel, kui molekulide puht-elektronsed spektrid on väga kitsad? Teatavasti sõltub energialevi kiirus ja seega tema efektiivsus energeetilisest resonantsist (energiavõrdusest) energiat ära andva ja seda vastu võtva molekuli vahel. Suurele energiavahele vastab aeglane levi. Halvimal juhul võib levi hoopiski katkeda – toimub nn Andersoni lokaliseerimine. Loodus on oskuslikult rakendanud mitut moodust vältimaks kahjulikku energia peatumist antennis enne tema sihtmärki, st reaktsioonitsentrisse jõudmist. Katsed kinnitavad suurepäraselt levi isegi vedela heeliumi keemistemperatuuridel umbes 4 K. Üheks oluliseks võtteks on elektronide ja neid siduvate tuumade vaheliste vastastikmõjude (nn elektron-foonon ja elektron-võnkeinteraktsioonid) ärakasutamine. Nende interaktsioonide tõttu ei ole klorofüllide siirdesagedused konstantsed, vaid muutuvad pidevalt ajas. Spektraalses mõõtmes vastab ajalisele modulatsioonile aga spektrite laienemine. Sellist aatomvõre dünaamikast tingitud spektrite laienemist nimetatakse homogeenseks laienemiseks, eristamaks teda eelpoolkirjeldatud staatilisest mittehomogeensest laienemisest.

Mittehomogeensuse ületähtsustamine koos elektron-foononinteraktsiooni alatähtsustamisega löid olukorra, kus domineerisid kaks vastandlikku arusaama. Esimese järgi koosneb antenn üksikutest klorofüllilistest molekulidest, kus lokaliseeritud ergastatus Försteri mehhanismi abil molekulilt molekulile liikudes viimaks tsentriklorofüllilile jõuab. Teise järgi on antenn tugevas interaktsioonis olevate molekulide kogum, kus ergastus on eksiton, mis levib koherentselt membraanis.

## Töödetsükli olulisemaid tulemusi telegrammistilis

Eelkõige Tartus tehtud katsed [11, 13, 15-22], nende teoreetiline analüüs ja üldistamine [11, 12, 14, 15, 21] osutasid, et vähemalt uuritud bakteriaalsetes antennides (perifeerne LH2 ja tsentraalne LH1 antennid) asub tõde kusagil vahepeal. Nimelt ei hakka kogu antenn footoni saabudes korraga võnkuma, samuti ei haardu footon vaid ühes molekulis. Energeetiline korrastamatus piirab samaaegselt ergastuvate bakterklorofüllide arvu kümnekonna molekuliga, mis näiteks LH2 antenni puhul vastab umbes poolele kõikidest siseringi molekulidest. Elektron-foononinteraktsiooni tõttu aheneb tekkinud eksiton veelgi. Tegemist on mittelineaarse dünaamilise protsessiga, eksiton-polaroni moodustumisega, mis päädib eksitoni pitsumisega e autolokaliseerumisega kahe kuni kolme molekuli ulatusega potentsiaaliauku. Nagu näidati töös [23], kestab see protsess vaid 100-150 femtosekundit. Eksitoni autolokalisatsiooniga kaasneb korrapärase antennistruktuuri lokaalne deformatsioon (vt joonis 1). Määravaks selles uues arusaamises said katsed [13, 16-22], mis tõestasid tugeva (kuni 8 korda seni arvatust suurema) elektron-foonon vastastikmõju olemasolu antennides.

Nende, paradigmat muutvate, katseandmete taga oli juba paarkümmend aastat tagasi lisandimolekulide peal vormitud ja siis unustusehõlma vajunud diferentsiaalne selektiivfluorestsentsi meetod, mis sobitab augusälkamise meetodi kõrge spektraalse lahutuse kiirgusspektrite mõõtmist iseloomustava suure tundlikkusega. Antennispektritele sobitatuna annab see meetod väga häid tulemusi.

Antennieksitonide kiirgusspektrites eristuvad nii spektraalselt kui ka kineetiliselt kaks komponenti [13, 16, 17]. See duaalsus on seletatav väikese ning suure raadiusega autolokaliseerunud eksitonide olemasoluga antenniringides [21, 22]. Ergastustingimustest sõltuvalt lokaliseeruvad nad antenniagregaadi erinevatel segmentidel. Tegemist võib olla üldise nähtusega, mis laieneb kõikidele korrastamata (kvaasi-)ühemõõtmeliste molekulaarsetele agregaatidele, ka praktika seisukohast üliolulistele polümeeridele. Antennides on see nähtavasti osa kiirgusspektrite laiendamise strateegiast.

Teoreetiliselt ennustati [14] ja katseliselt tõestati [18], et struktuurne korrastamatus soodustab eksitonide autolokalisatsiooni. Autolokalisatsiooniprotsessi iseloomustav kriitiline interaktsiooniparameeter võib mittehomoogeensuse kasvades ideaalse struktuuriga võrreldes mitmekordselt väheneda. Antennistruktuur deformeerub kõige hõlpsamini seal, kus asuvad kõige madalama siirdeenergiaga klorofüllid. Avastati ka antennistruktuuride iseärasustega seletuv spektraalse mittehomoogeensuse erinev loomus erinevates antennides (struktuurne e mittediagonaalne korrastamatus LH1 antennis ja energeetiline e diagonaalne korrastamatus LH2 antennis) [12, 15].

Spektraalse mittehomoogeensuse ja molekulaaragregaatide lõpliku suuruse arvestamisega üldistati varem tuntud Holsteini molekulaarkristallide teooriat, võimaldades tema rakendamist realistlike süsteemide kirjeldamiseks [11, 14, 21]. See täiendatud mudel, mis oli aluseks kõikidele ülalkirjeldatud kvalitatiivsetele teoreetilistele järeldustele, lubab ühtlasi teha kvantitatiivseid hinnanguid, sh katseandmetega võrreldes määrata selliseid tähtsaid ja varem kättesaamatuid antennipolarone iseloomustavaid füüsikalisi parameetrid nagu resonantne eksitoninteraktsiooni energia ja autolokaliseeritud eksitonide seoseenergia [12, 15]. Katseandmetega võrreldes "möödeti" esmakordselt ka eksiton-polarontsooni laius fotosünteesilistes antennides, mis annab võimaluse juba aastakümneid diskuteeritud

antennispektrite peentimmimise molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks [11, 12, 15].

Antennieksitonide autolokalisatsioonile iseloomulikud spektrimuutused (spektri laienemine ja nihe pikemate lainepikkuste poole e punanihe) ning kiirgava seisundi ostsillaatori jõu kasv (nn ülikiirgus) soodustavad kõik valgushaarde efektiivsust. Tugevam ja laiem kiirgusspekter kindlustab parema kattumise naaberkomplekside neeldumisspektritega kiirendades ergastuse liikumist membraanis, samal ajal kui tema punanihe annab energiale vile kindla suuna - otse energeetiliselt allamäge asuva tsentri poole.

Polaronilaadseid ergastusi leiti samuti taimede fotosüsteem ühe (PSI) pikalainelistes (nn punastes) antennides [20], mis rõhutab saadud tulemuste üldisust, rakendatavust nii bakteriaalse kui taimse fotosünteesi valdkonnas. Kristallstruktuurist lähtudes on need need punased antennivormid tõenäoliselt seotud klorofüllü kaksikmolekulide e dimeeridega, mis moodustavad ergastatud olekus eksimere. PSI antennivormide punanihke põhjuseks tuleb seega lugeda neutraalsete antennieksitonide üleminekute segunemist lähedalasuvate polaarsete (nn laengu ülekande) seisunditega, mis seetõttu eriti tugevasti interakteeruvad pigmendimolekule ümbritseva võre võnkumistega.

## Järellugu

Esitatud töödetsükliga, milles tõestati fotosünteesi efektiivsust soodustav valguskoguvate kromoproteiinide fotoergastuste eksiton-polaron iseloom, on pandud alus kontseptuaalselt uuele suunale fotosünteesi fotoprotsesside uuringutes. Bioloogias tuntud polaronnähtuste hulka (elektron-polaronid DNA-s ja ATP hüdrolyüsil vabaneva energia kaugülekanedega seostatud vonkepolaronid (tuntud ka kui Davõdovi solitonid)) on laiendatud eksiton-polaronidele, mis meie maailmapilti rikastades võib tulevikus leida ka tehislüku väljundi. Näiteks iseorganiseeruvate fotorakkude loomise läbi, mis kasutaksid päikeseenergiat vähemalt sama võimekalt, kui looduslikud süsteemid. Tugevast elektron-foooninteraktsioonist tingitud polaronnähtuste väli on iseenesest tavatult lai. Sarnaseid efekte võib kohata kõrgtemperatuursetes ülijuhtides, elektrit juhtivates polümeerides, nn kolosaalset magnetakistust omavates materjalides jne. Tuntud jaapani tahkisefüüsika teoreetik Y. Toyozawa on mõni aeg tagasi autolokalisatsiooninähtustega seostanud koguni elu teket Maal [24]. Seega võib tõepoolest tegemist olla väga põhjaneva loodusnähtusega, mis kindlasti väärib edasist uurimist. Fotosünteesiga seoses: ehkki me nüüd teame, et antenniergastused relakseeruvad eksiton-polaronideks, ei ole meil veel polaronide vahendusel toimuva energiale vi ja energiahaarde kvantitatiivset mudelit. Ilma sellise mudelita oleks aga ennatlik arvata, et oleme asjast üle.

Siinkirjeldatud töid on osaliselt finantseerinud Eesti Teadusfond (grantid nr 347, 2271 ja 5543).

## Publikatsioonid

1. J. Franck, E. Teller, "Migration and photochemical action of excitation energy in crystals," J. Chem. Phys. **6** (1938) 861.
2. A. Freiberg, V.I. Godik, T. Pullerits, K. Timpmann, "Picosecond dynamics of directed excitation transfer in spectrally heterogeneous light-harvesting antenna of purple bacteria," Biochim. Biophys. Acta **973**, pp. 93-104, 1989.

3. T.Pullerits, A.Freiberg, "Kinetic model of primary energy transfer and trapping in photosynthetic systems," *Biophys. J.* **63**, pp. 879-896, 1992.
4. K.Timpmann, A.Freiberg, V.I.Godik, "Picosecond kinetics of light excitations in photosynthetic purple bacteria in the temperature range of 300-4 K," *Chem. Phys. Lett.* **182**, pp. 617-622, 1991.
5. A.Y.Borisov, A.Freiberg, V.I.Godik, K.Rebane, K.Timpmann, "Kinetics of picosecond bacteriochlorophyll luminescence in vivo as a function of the reaction center state," *Biochim. Biophys. Acta* **807**, pp. 221-229, 1985.
6. G.McDermott, S. M.Prince, A. A.Freer, A. M.Hawthornthwaite-Lawless, M. Z.Papiz, R. J.Cogdell, N. W.Isaacs, "Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria," *Nature* **374**, 517-521, 1995.
7. A.Freiberg, K.Timpmann, S.Lin, N.W.Woodbury, "Exciton relaxation and transfer in the LH2 antenna network of photosynthetic bacteria," *J. Phys. Chem. B* **102**, pp. 10974-10982, 1998.
8. K.Timpmann, N.W.Woodbury, A.Freiberg, "Unraveling exciton relaxation and transfer in LH2 photosynthetic antennas," *J. Phys. Chem. B* **104**, pp. 9769-9771, 2000.
9. A.Freiberg, P.Saari, "Picosecond spectrochronography," *IEEE J. Quant. Electr.* **QE 19**, pp. 622-630, 1983.
10. A.Freiberg, K.Timpmann, R.Ruus, N.W.Woodbury, "Disordered exciton analysis of linear and nonlinear absorption spectra of antenna bacteriochlorophyll aggregates: LH2-only mutant chromatophores of *Rhodobacter sphaeroides* at 8 K under spectrally selective excitation," *J. Phys. Chem. B* **103**, pp. 10032-10041, 1999.
11. K.Timpmann, G.Trinkunas, P. Qian, C.N.Hunter, A.Freiberg, "Excitons in core LH1 antenna complexes of photosynthetic bacteria: Evidence for strong exciton coupling and off-diagonal disorder," *Chem. Phys. Letters* **414**, pp. 359-363, 2005.
12. G.Trinkunas, A.Freiberg, "A disordered polaron model for polarized fluorescence excitation spectra of LH1 and LH2 bacteriochlorophyll antenna aggregates," *J. Luminescence* **119-120**, pp. 105-110, 2006
13. M.Rätsep, C.N.Hunter, J.D.Olsen, A.Freiberg, "Band structure and local dynamics of excitons in bacterial light-harvesting complexes revealed by spectrally selective spectroscopy," *Photosynth. Res.* **86**, pp. 37-48, 2005.
14. G. Trinkunas, A. Freiberg, "Abrupt exciton self-trapping in finite and disordered one-dimensional aggregates," *J. Luminescence* **112**, pp. 420-423, 2005.
15. K. Timpmann, G. Trinkunas, J.D. Olsen, C.N. Hunter, A. Freiberg, "Bandwidth of excitons in LH2 bacterial antenna chromoproteins," *Chem.Phys. Lett.* **398**, pp. 384-388, 2004.
16. K. Timpmann, M. Rätsep, C.N. Hunter, A. Freiberg, "Emitting exciton polaron states in core LH1 and peripheral LH2 bacterial light-harvesting complexes," *J. Phys. Chem. B* **108**, pp. 10581-10588, 2004.

17. A.Freiberg, M. Rätsep, K. Timpmann, G. Trinkunas, "Dual fluorescence of single LH2 antenna nanorings," *J. Luminescence* **108**, pp. 107-110, 2004.
18. K.Timpmann, A. Ellervee, A. Kuznetsov, A. Laisaar, G. Trinkunas, A. Freiberg, "Self-trapped excitons in LH2 bacteriochlorophyll-protein complexes under high pressure," *J. Luminescence* **102-103**, pp. 220-225, 2003.
19. A.Freiberg, M. Rätsep, K. Timpmann, G. Trinkunas, "Self-trapped excitons in circular bacteriochlorophyll antenna complexes," *J. Luminescence* **102-103**, pp. 363-368, 2003.
20. J.A. Ihalainen, M. Rätsep, P.E. Jensen, H.V. Scheller, R. Groce, R. Bassi, J.E.I. Korppi-Tommola, A. Freiberg, "Red spectral forms of chlorophylls in green plant PSI-A site-selective and high-pressure spectroscopy study." *J. Phys. Chem. B* **107** , pp. 9086-9093, 2003.
21. A. Freiberg, M. Rätsep, K. Timpmann, G. Trinkunas, W.N. Woodbury, "Self-trapped excitons in LH2 antenna complexes between 5 K and ambient temperature," *J. Phys. Chem. B* **107**, pp. 11510-11519, 2003.
22. M. Rätsep, A. Freiberg, "Resonant emission from the B870 exciton state and electron-phonon coupling in the LH2 antenna chromoprotein." *Chem. Phys.Lett.* **377**, pp. 371-376, 2003.
23. K. Timpmann, Z. Katiliene, N.W. Woodbury, A. Freiberg, "Exciton self-trapping in one-dimensional photosynthetic antennas," *J. Phys. Chem. B* **105**, pp. 12223-12225, 2001.
24. Y. Toyozawa, "The origin of life with natural selection," *J. Phys. Soc. Japan* **69** pp. 1907, 2000.