

Otsingutest füüsika ja bioloogia piirimail Tartu Ülikooli füüsikainstituudis

Arvi Freiberg

Tartu Ülikooli Füüsika Instituut

Tartu Ülikooli Molekulaar- ja Rakubioloogia instituut

Selgituseks

Järgides kogumiku koostajate soovitus, pole järgnev rangelt teaduslik traktaat. Pigem on tegemist artikli autori subjektiivse tagasivaatega 40 aastasele perioodile Tartu Ülikooli füüsikainstituudi (enne 1991. aastat Eesti NSV Teaduste Akadeemia Füüsika Instituut) arengus, vaadatuna läbi bioloogilist huvi pakkuvate molekulide (nii seda teemat esialgu nimetati) uurimistöö prisma. Allakirjutanu pole pelgalt olnud selle protsessi tunnistaja, vaid aktiivse osaluse kaudu ka otsene mõjutaja ning suunaja. Teema laialivalgavast nimest hoolimata oli algusest peale tegemist eelkõige klorofüllilaadsete fotosünteesiliste pigmentide uurimisega. Huvitav on sellega seoses jälgida füüsikainstituudi katseobjektide ringi muutumist läbi aegade. Alguses, möödunud sajandi 50. aastatel, uuriti põhiliselt suurt rakenduslikku tähtsust omavaid luminofoore. Viimased rajanesid laia keelutsooniga leelishalogeniid-ühenditel, millele lisatud väike kogus leelismuldmetallide ioone neile funktsiooni andis. Luminofooride omaduste parandamiseks süveneti puhta (st lisandivaba) aluskristalli omadustesse. Ideede ammutamiseks käsitleti ka eksootilisi vääriskaaside kristalle, mis eksisteerivad vaid krüogeensetel temperatuuridel. Eelmise sajandi 60. aastatel tekitasid elevust väikeste molekulaarsete lisanditega (O_2^- , NO_2^- jt) dopeeritud leelishalogeniid-kristallid, mille optilistes spektrites leiti võrreldes luminofooridega väga kitsaid nn foononvabu jooni. Neid jooni kutsuti ka Mössbaueri efekti optiliseks analoogiks, sest Saksa teadlane Rudolf Mössbauer oli just hiljuti (1961) saanud Nobeli füüsikapreemia ülikitsaste resonantsjoonte avastamise eest gamma-footonite neeldumis- ja kiirgusspektrites. Struktuursed spektrid on lamedatest palju kõnekamad, andes rikkalikult võimalusi materjalide tundmaõppimiseks. Käesoleva teema seisukohalt tähtis huvi pööre anorgaanilistelt kehadelt orgaaniliste ühendite poole toimus möödunud sajandi 60.-70. aastate vahetusel, just siis kui allakirjutanu Tallinna Polütehnilist Instituuti lõpetama valmistus. Hakati tänapäeva mõistes maatriks-spektroskoopiat arendama, uurides klaasjasse või kristallilisse keskkonda kinnistatud orgaanilisi molekule selektiivsel laserergastusel. Seejärel ilmusid objektide hulka ka orgaanilised molekulaarkristallid. Sellega olid loodud kõik tingimused veelgi keerulisemate orgaanilise aine struktuuride nagu pigment-valgu kompleksid või roheliste taimede kloroplastid ning vastavate protsesside (fotosüntees) katsumiseks. Ja siis see kõik algaski.

Enne algust

Klorofüllil uurimise algust Tartus võib, ehkki teatud mööndustega, seostada juba kromatograafia looja Mikhail Tswetti (1872-1919) nimega. Tswett sobib suurepäraselt kaasaegse ettekujutusega biofüüsikust. Genfi ülikoolis võttis ta võrdselt

füüsikat, keemiat ja botaanikat, doktorikraadi kaitses aga füsioloogia alal. Teda huvitasid taimedele värvi andvad pigmendid. Soovist neid üksteisest eraldada ja üksikhaaval uurida kasvaski välja kromatograafia kui analüütilise keemia tähtis meetod, mille avastamisaastaks on pakutud nii 1903. kui ka 1906. aastat. Just enne oli M. Tswett edutult üritanud Tartu Ülikoolis kanda kinnitada. Tema 1910. aastal Varssavi Ülikoolis kaitstud teine doktoritöö (sest Vene tsaaririik ei tunnistanud välisriikide diplomeid) kandis pealkirja “Taime- ja loomariigi kromofüllid” (1). Ülaltehtud mööndus seisneb selles, et Tswett liitus Tartu Ülikooliga juba peale oma teedrajavate avastuste tegemist. Aastatel 1917-1918 oli ta Tartu Ülikooli botaanikaproffessor ja ühtlasi Botaanikaiaia juhataja.

Klorofüllid lisandimolekulide selektiivspektroskoopia

1970. aastal kaitses Rein Avarmaa (1940-1987) oma kandidaadiväitekirja väikeste lisandimolekulide spektroskoopiast. Tekkis küsimus, mida edasi teha? Tema juhendaja Karl Rebane (1926-2007) soovitas suunda muuta ja hoopis biomolekule uurima hakata. Mõistagi madalatel temperatuuridel ja selektiivsel laserergastusel. Ootus, mis hiljem tõeks osutus, oli, et ka suurte molekulide spektrites avalduvad kitsad foononvabad jooned, just niisamuti nagu väikestes lisandimolekulides (vt Selgituseks). Teema nii radikaalne muutus polnud Reinule esialgu meeltnööda. Vähemalt jäi kõrvaltvaatajale selline mulje. See vastumeelsus oli ka igati põhjendatud, sest füüsikainstituudis puudus (ja puudub siiani) bioobjektide valmistamiseks nii tarindus kui ka praktiline kogemus. Aga K. Rebase ettepanekud kuulusid nende kilda, mida tollastes oludes polnud lihtsalt võimalik eirata. Saatus tuli Reinule sedakorda appi. Just see eelmise sajandi kümnend läheb teaduse ajalukku kahe suurepärase selektiivspektroskoopia meetodi avastamisega, mida siiaaani suure eduga erinevate tahkiste uurimiseks kasutatakse. Kõigepealt nägi ilmavalgust nn fluorestsentsikitsenemise meetod (2). Seejärel, 1974. aastal, ilmus koduinstituudis avastatud spektraalse augusälgamise tehnika (3). Kitsajooneliste laserite kasutamisel põhinevad selektiivspektroskoopia võtted võimaldavad üle saada spektrite mittehomogeensusest laienemisest, mis pahatihti struktuursema ja informatiivsema üksikmolekuli spektri (teaduslikus argoos homogeense spektri) tundmatuse ni moonutab. Mõlemad meetodid võimaldavad erakordselt suurt (kümneid, vahel isegi sadu tuhandeid kordi tavapärasest paremat) spektraalset lahutust. See lubab selektiivspektritest tuletada homogeensete spektrite tõelise kuju, väga täpselt mõõta elektron-foonon ja elektron-võnke vastastastikmõjusid, samuti jälgida energiasiiirete teid ja kiirusi. Reinul oli ettenägelikkust ja julgust neid tuliuusi vahendeid kohe, st esmakordselt maailmas, biosüsteemide katsumiseks rakendada. Vapper pealehakkamine tasus end uudsete tulemuste saamise näol kuhjaga ära. Keeruliste biomolekulide neeldumis- ja kiirgusspektrites õnnestus madalatel temperatuuridel tõepoolest avastada molekuli tuumade omavõnkumistega seotud rikkalik peenstruktuur. Esimesed positiivsed tulemused saadi juba 1972. aastal, millest samal aastal Moskvas toimunud Rahvusvahelise Biofüüsika Kongressi kaudu ka maailma teavitati. Põhjalik kokkuvõte sellele järgnenud enam kui kümneaastasest pingsast uurimistööst avaldati ajakirjas *Spectrochimica Acta A* (4). See on ka R. Avarmaa siiani enimsiteeritud teadusartikkel. Hilisem ülevaateartikkel nägi ilmavalgust juba peale tema ootamatut lahkumist (5). Paljude jaoks subjektiivselt veelgi suurem üllatus oli klorofüllid molekulidele vastava peenstruktuuri avastamine etioleeritud (st pimedas kasvatatud ja seetõttu minimaalse klorofüllisisaldusega) taimelhtedes (6). Katke artikli resümeest - “...*Up to now site selection spectroscopy has not been successfully applied to biologically active chromophores in vivo. Our results demonstrate that*

even in the presence of specific pigment-protein and pigment-pigment interactions very narrow purely electronic lines can be obtained in the optical spectra of biological systems" - kirjeldab hästi teadusharus väljakujunenud olukorda. Kahjuks pole siin mõistet *in vivo* päris korrektselt kasutatud. Eestikeelne Wikipedia annab sellise vaste: *In vivo* (1d) tähendab "elusas"; see on protsess või katse, mis toimub (korraldatakse) elavas organismis või rakus. Viidatud katsetes hoiti lehte vedelas heeliumis 4,2 K juures, kus mingit elutegevust muidugi ei toimu.

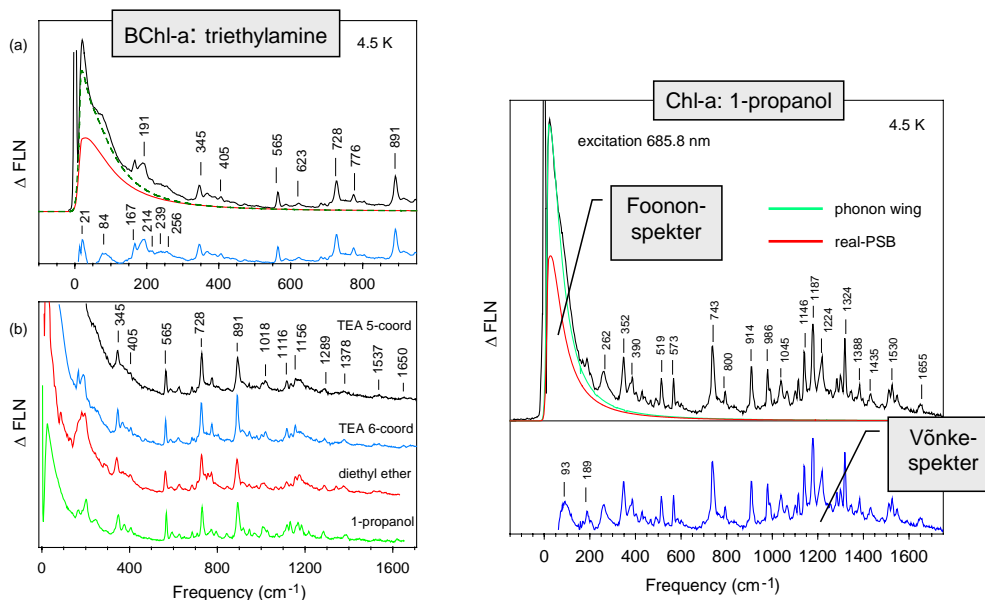
Väliselt jättis Rein Avarmaa (Joon. 1) endassetõmbunud, isegi reserveeritud inimese mulje. Aga see oli vaid pealispind. Tema südikast pealehakkamisest teaduses



Joonis 1. Ljubov Rebase (1929-1991) 50. sünnipäeva puhul kogunesid pildile kõik tema juhendamisel kaitsnud teaduste kandidaadid (e tänapäeva PhD-d). Vasakult: Arvi Freiberg, Ilmo Sildos, Rein Avarmaa, Ljubov Rebane, Anshel Gorokhovsky ja Aleksei Treštšalov. Doktorikraadini jõudsid neist hiljem R. Avarmaa ja A. Freiberg. (K. Vestre foto.)

oli juba juttu. Siinkohal meenub mulle juhtum 1977. aasta Prahast. Minule oli see esimene teaduslik väliskomandering, Rein oli juba kogenum. Auväärse Karli Ülikooli peahoones olid iseäralikud avatud liftikastid, kuhu sai liikumise pealt peale ja maha astuda. Vasakul olev kastidejoru liikus kogu aeg üles, paremal aga alla. Viimasel korrusel kadusid vasakud kastid liftitunneli pimedusse, kust nad siis paremal jälle välja ilmusid. Mulle jäi mõistatuseks, kas on tegemist kahe paralleelse või ühe lindiga? Ja mis seal pimeduses edasi juhtub? Mõlemal juhul jäi võimalus, et kast vahepeal pea alaspidi keeratakse. Katselise teaduse esindajana tuli asi lihtsalt ära proovida, st koos liftiga pimedusse sõita. Aga väike hirm oli sees ka. Kahekesi oleks ikka julgem. Nii ma siis Reinu endaga sellele uurimisreisile kaasa tulema meelitasin. Minu suureks üllatuseks oligi ta hopsti! minu kõrval. Uuesti valguse kätte jõudes oli Rein küll näost natuke kahvatu. Oma nägu ma muidugi ei näinud ja Reinu käest igaks juhaks küsima ka ei hakanud. Probleemi lahendus oli iseenesest geniaalselt lihtne. Liftikast tõusis kogu oma kõrguses pimedusse ja nihutati siis vastava liigendi abil parempoolsesse asendisse, kust ta omakorda alla liikus.

Hiljuti me pöördusime R. Avarmaa poolt avatud teema juurde tagasi (7, 8). Ajendiks olid klorofüllilise spektrite (Joon. 2) senilahendamata probleemid ja uus diferentsiaalne fluorestsentskitsenemise meetod, mis meie poolt edasiarendatuna (9)



Joonis 2. Tõenäoliselt parimad klorofüllilise spektrid maailmas. Tegemist on diferentsiaalse fluorestsentskitsenemise (Δ FLN) meetodil mõõdetud bakterklorofüll *a* (vasakul) ja klorofüll *a* (paremal) kiirgusspektritega madalatemperatuursetes (4,5 K) klaasides. Selektiivspektroskoopias tavapäraselt loetakse spektri nullpunktiks ergastava laseri lainepikkust. Vasakpoolsele joonisel on see 780.2 nm, parempoolsele aga 685.8 nm. Null-sagedusel asuv foononvaba joon on katkestatud umbes 5% tasemel tema tegelikust kõrgusest. Vertikaalsed numbrid tähistavad optiliselt aktiivsete võnkemoodide sagedusi. Ühikuks on pöördsekundimeeter. Paneel (b) vasakpoolsele veerus demonstreerib klorofüllilise spektrite sõltumatust kasutatavast maatriksist ning tsentraalse Mg aatomi koordinatsioonist. (M. Rätsepa joonis.)

e ristub varem tundud selektiivspektroskoopia tehnikatest veelgi suurema lahutuse ja parema tundlikkuse poolest. Nende mõõtmistega õnnestus tuvastada klorofüllilise omavahel seotud neeldumise - ja kiirgusspektrite kuju oluline asümmeetria ja kindlaks määrata selle füüsikalised põhjused. Samuti leidsime elektron-foonon interaktsiooni tugeva sõltuvuse ergastava valguse lainepikkusest lisandite mittehomoogeenselt laienenud neeldumisribas (10). See avastus väljub lisandispektrite standardmudeli rakenduspiiridest, ajendades teooriat edendama.

***In vivo* klorofüllilise katsumine**

Esimeseks *in vivo* klorofüllilise uuringuks füüsikainstituudis saab nähtavasti pidada R. Avarmaa ja selle kirjatüki autori ainukest ühispublikatsiooni (11), kus tõepoolest katsetati füsioloogilistel tingimustel ja uuriti funktsionaalselt olulisi energia

ülekanne ning kustumise protsesse roheline taime kloroplasti osades. Aastaid hiljem oleme koostöös Agu Laisa töörühmaga isegi kasvava taime küljes olevat rohelist lehte uurinud (12). Need mõõtmised viisid üllatava leiuni, et fotosünteesi aktiveerib valgus lainepikkusega kuni 780 nm. See, seni arvatust palju pikalainelisem piir, sundis järeldama pikalaineliste neelavate vormide olemasolu taimede fotosüsteem II-s. Järgnevad mõõtmised on neid tulemusi kinnitanud.

Rein Avarmaa korraldas 1981. a. septembri lõpus Lohusalus seminari "Klorofüllilise spektraalsed ja kineetilised omadused", kuhu kogunesid osalejaid üle terve endise Nõukogude Liidu. Just sealt said alguse allakirjutatu väga viljakad kontaktid Moskva Riikliku Ülikooli biofüüsikutega eesotsas Prof. Aleksander Borisoviga. Seda fakti on Borisov heatahtlikult ära märkinud ka oma mälestustes (13). Moskvalased huvitusid fotosünteesiliste bakterite valgusprotsessidest ja, kuulnud meie ettekannet, arvasid, et see aparatuur (millest tuleb veel juttu allpool) sobib paremini kui ükski teine teadaolev lahendus nende protsesside uurimiseks. Katsed Valentina Godiku (vt Joon. 3) poolt Tartusse toodud elusate bakteritega algasid juba järgmise aasta jaanipäeval. Ja ehkki NSVL lagunemine ning Eesti taasiseseisvumine selle ühistegevuse oodatust varem lõpetas, jätkub fotosünteesi biofüüsikaliste aspektide uurimine füüsikainstituudis siiani.



Joonis 3. Pikosekundilise spektrokronograafi keskne seade - elektron-optiline muundur koos lampelektronikal põhineva laotusseadega (vertikaalne ehitus), mis sellisel kujul töötab tänaseni. Hetke *anno* 1983 naudivad (vasakult lugedes) fotosünteesiliste bakterite "maaletooja" Valentina I. Godik, teadur Kõu Timpmann ja füüsikainstituudi teadusdirektor Arvi Freiberg. (K. Vestre foto.)

Juba esimene moskvalastega tehtud töö tähistas läbimurret. Nimelt õnnestus Tartus esmakordselt otseselt ära mõõta antenni valgusergastuste pikosekundiline

eluiga bakterite fotosünteesilises membraanis ja selle sõltuvus reaktsioonitsentri redoks-olekust. Need teedrajavad tulemused, mis kanti ette 1983. aastal Brüsselis toimunud 6. Rahvusvahelisel Fotosünteesi Kongressil (14) ja mille paikapidavust on hiljem korduvalt kinnitatud, löid kindla aluse valdkonna edasisele arengule.

Järgnevalt suutsime näidata, et energiahaarde kiirus bakterite fotosünteesilises ühikus on piiratud ergastuse siirdekiirusega antennist reaktsioonitsentrisse, mitte ergastuse antennis viibimise ajaga või laengute eraldamise kiirusega reaktsioonitsentris, nagu seda varem arvati (vt ülevaadet (15)). Eelnevad andmed olid kasutatud ergastavate pikosekund-impulsside liialt suure võimsuse tõttu ekslikud (ülevaade (16)).

Brüsseli konverents oli minu jaoks mitmeti mälestusväärne. Borisovil oli seal tellitud ettekanne, allakirjutanul stendiettekanne. Juhtus aga nii, et Borisov Brüsselisse ei jõudnudki. Nõukaajal oli teatud ametkondade ootamatu vahelesegamine tavaline. Tahtmata programmi auku sisse jätta pöördusid Kongressi organisaatorid minu poole: Ega ma ei tahaks Borisovi ettekannet ise ära pidada? Minu esialgne reaktsioon oli negatiivne. Ma polnud varem välismaal suulist ettekannetki teinud, saati siis pooltunnist ülevaadet. Ja mu inglise keel jättis palju paremat soovida. Aga kiusatus enda proovilepanekuks oli suur ning kui tagapihta selgus, et tellitud ettekandjatele oli ette nähtud honorar (ei mäleta enam, kas 20 või 50 dollarit), siis soostusin, ehkki aega ettevalmistamiseks oli jäänud vaid poolteist päeva. Olukorda komplitseeris veelgi asjaolu, et olin oma jalad Moskvast (tol kaugel ajal sõideti välismaale ja tuldi sealt tagasi vaid läbi Moskva) ostetud uute kingadega nii ära hõõrunud, et käia sain mädanevate kandade tõttu vaid paljajalu. Aga ettekanne tuli kuulajate vastukaja järgi päris hästi välja, ehkki mõned mu sõbrad tõgavad mind siiamani, et ma olevat ettevalmistatud teksti paberi pealt maha lugenud. Oma arust rääkisin ma kõike peast.

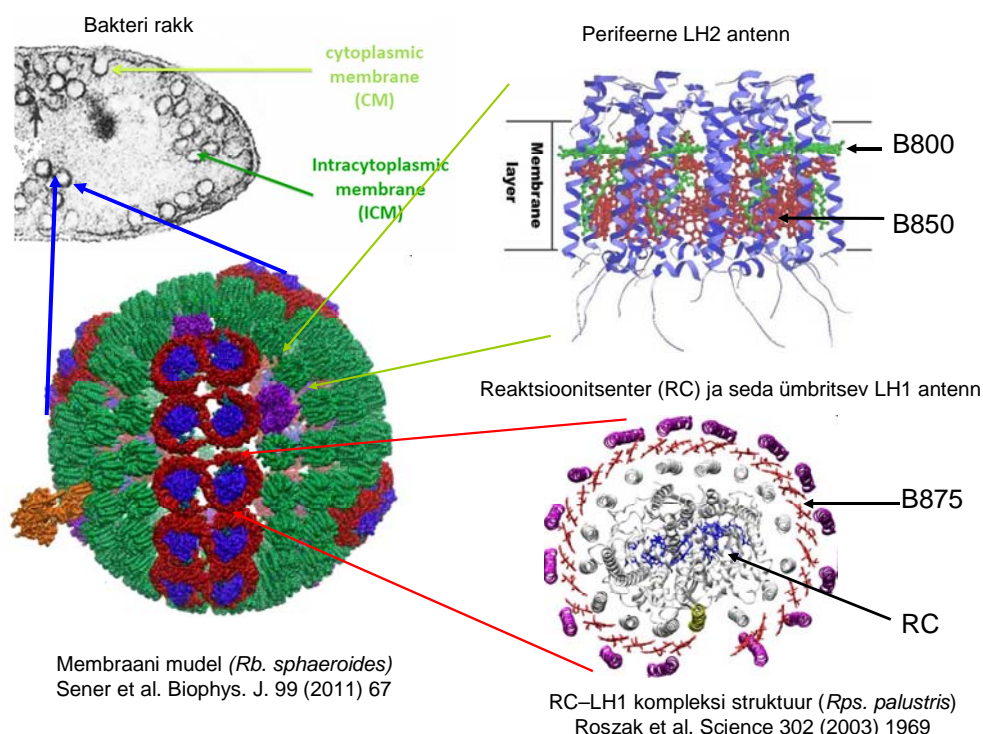
Järgnev põhjapanev idee, mis samuti tulenes kineetilistest mõõtmistest, oli spektraalse mittehomogeensuse arvestamise vajadus füsioloogilistes protsessides (17). Sellega on nt seotud vektoriaalne (suunatud) energiaülekanne fotosünteesilistes membraanides (18). Tänapäeval on see enesestmõistetav, kuid kaks-kolmkümmend aastat tagasi kaugelgtki mitte. Rõhuv enamuse valdkonnas tegutsejaid, aktsepteerides küll võimalikku "makroskoopilist" heterogeensust, eeldas biospektrite domineerivat homogeenset struktuuri. Meie 1990. aastate alguses püstitatud fotosünteesilise valgushaarde teoreetiline mudel, mis arvestab spektrite mittehomogeenset laienemist, on teadaolevate katseandmetega heas kooskõlas (19).

Meie (st füüsikainstituudi biofüüsikute) tollaegsete õnnestumiste aluseks oli uue, kõrgsagedusliku põlvkonna impulsslaserite seostamine pikosekundilist ajalist lahutust võimaldavate valgusdetektoritega, mille nimi kohmakas otsetõlkes vene keelest on elektron-optiline muundur (inglise k *streak camera*). Kuuldavasti olid viimased välja arendatud kaitseotstarbelisteks uuringuteks, mistõttu juurdepääs neile oli üsna piiratud. Karl Rebase heade Moskva sidemetega see siiski õnnestus. Asja uudsus seisnes selles, et meil läks korda detektor käivitada sünkroonis ligi 80 miljonit korda sekundis valgusimpulsse genereeriva laseriga. See nn sünkroonskaneerimise režiim võimaldas kuni miljonikordset impulsis bioobjektile langeva valgusenergia vähendamist paaris peaaegu samaväärse mõõtetundlikkuse suurendamisega. Nende ja piirnevate uuringute käigus loodi ühtlasi täiesti uus ülikiire laserspektroskoopia suund – pikosekundiline spektrokronograafia (20), mis võimaldab üheaegseid spektraalseid ja kineetilisi mõõtmisi teoreetilise, sagedus-aeg pöördseosega määratud, piirlahutuse lähedal. Meetodi teoreetilised alused ja praktilised võimalused võttis allakirjutanu kokku oma doktoritöös (21). Edaspidi edenes sama lähenemine femtosekundilisse ajadiapasooni (22). Unikaalsele laboratoorsele mõõtekompleksile (Joon. 3) omistati

1983. aastal ka NSVL autoritunnistus (23). Füüsikalistelt printsiipidelt sarnast seadet müüb juba paarkümmend aastat edukalt Jaapani firma “Hamamatsu”.

Igapäevatööski tuleb ette koomilisi episoode. Teatavasti asus nõukaajal Tartu külje all tähtis militaarlennuväli. Kohe peale meie süsteemi esimesi katsetusi ilmusid füüsikainstituuti sünged, vaid vene keelt rääkivad mehed, kes esitasid imelikke küsimusi. Osutus, et meie elektron-optilise muunduri 80 MHz sagedusega elektriliselt võimas laotussignaal häiris kuidagi lennuvälja radareid. Teada saades, milles asi nad lahkusid ja meie saime rahulikult oma tööd jätkata.

Eelmise sajandi viimase dekaadi keskel tekkisid uued huvitavad väljakutsed, mis olid seotud oluliste antennikomplekside aatomstruktuuri väljaselgitamisega (vt Joon. 4). Kombinatsioonis ainumolekulide spektroskoopiaga võimaldas see esmakordselt antenniergastuste kvantomaduste üksikasjalikku uurimist.



Joonis 4. Purpurbakterite fotosünteetilise membraani ja membraansete pigment-valgukomplekside (RC, LH1 ja LH2) struktuur. B800 (tähistatud rohelisega), B850 ja B875 (tumepunasega) vastavad bakteriklorofüllü molekulede/molekulide kogumeile, mis neelavad 800 nm, 850 nm ja 875 nm valgust. LH2 kompleks on membraani suhtes kujutatud külgsuunas, RC-LH1 kompleks aga pealtsuunas.

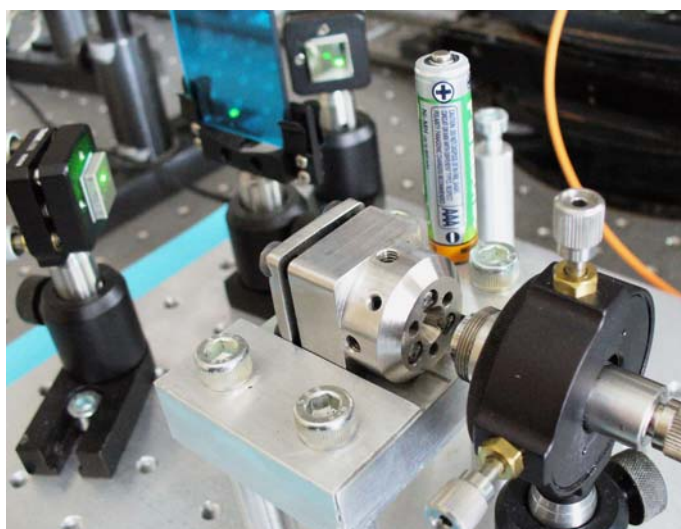
Erialakirjanduses käibis tollal fotosünteetilise fotoergastuste olemuse kohta kaks vastandlikku seisukohta. Esimese vaate järgi koosneb antenn üksikutest klorofüllü molekulidest, kus lokaliseeritud ergastatus Försteri mehhanismi abil molekulilt molekulile liikudes viimaks tsentriklorofüllüle jõuab. Alternatiivse lähenemise kohaselt on antenn omavahel tugevas interaktsioonis olevate molekulide kogum, kus ergastus on eksiton, mis levib koherentselt membraanis. Meie arusaam, mis on kõige ulatuslikumalt kajastatud hiljutises ülevaateartiklis (24), erineb neist mõlemaist.

Tugeva elektron-võnke vastastikmõju tõttu omandavad kromoproteiinide fotoergastused iseäraliku vahepealne, nn eksiton-polaron iseloomu. Eksiton-polaron mehhanismi tähendus kogu fotosünteesi esmaste protsesside ahelale ootab alles põhjalikku uurimist.

Elu, ja bioloogia kui elusainet uuriva teaduse, olemust pole puhtalt klassikalise füüsika mudelitega õnnestunud rahuldavalt seletada. Ja kuigi on tegemist üldise seaduspärasusega - kõrgemal organisatsioonilisel tasandil ilmnevad kvalitatiivselt uued omadused (inglise k *emerging properties*), mida pole võimalik madalama taseme seaduspärasustest otse tuletada – on erialakirjanduses püstitatud põhimõtteline küsimus: Kas elu seadused, kui need peaks kunagi leitama, tulenevad klassikalisest või kvantfüüsikast? Diskreetsete kvantseisundite üks “näpujälgi” on nende püsivad faasisuhted (koherents). Juba mõni aasta kütab kirgi fotosünteesiliste rohebakterite FMO antennis 77 K juures leitud ja mõnisada femtosekundit vältav kvantseisundite koherents, mis seal väidetavalt energiaülekannet suunab. Hiljuti õnnestus meil demonstreerida (25) statsionaarsete (st ajas püsivate) kvantseisundite (eksitonide) olemasolu purpurbakterite antennides ja nende omavahelist koherentsi isegi funktsionaalsetel temperatuuridel. Vara on veel rääkida selle leiu tähtsusest üldnimetatud laias kontekstis, kuid selge vihje kollektiivsete elektronseisundite osalusele fotosünteesilises valgushaardeprotsessis on see küll.

Klorofüll kõva truki all

In vivo olukorras on teadlasel üpris vähe võimalusi mõjutamaks klorofüllilisi omadusi ja tema interaktsioone ümbritseva keskkonnaga, sh teiste endasarnaste molekulidega. Üks variant, mida tihti rakendatakse, on temperatuuri timmimine.



Joonis 5. Teemantallasitel põhinev kõrgrõhurakk (keskel). Madalaid temperatuure võimaldavast krüostaadist vabastatud raku mõõtmetest annab ettekujutuse võrdluseks kõrvutatud AAA patarei. (H. Salujärve foto.)

pikosekundilisele esmase laengu eraldamise kiirusele reaktsioonitsentris (29). Rõhu efektid on tihti pöörduvad, st rõhu langetamisel taastub eelnev olukord. See lubab nt valkude vesiniksidemete tugevust mõõta, mis muidu on üsna keeruline ülesanne.

Alternatiivsel valikul rõhku muuta peatutakse millegipärast märksa harvemini. Me olime esimesed, kes seda meetodit fotosünteesiliste antennide uurimisel rakendasid (26). Meie tehnika (Joon. 5) võimaldab kuni 70 kbar rõhkusid temperatuuride vahemikus 10 – 300 K. Tuleb välja, et kõrge hüdrostaatilise rõhu all saab klorofülle siduvaid keemilisi sidemeid nii tekitada (27) kui ka lõhkuda (28). Oleme jälginud olulist rõhu mõju elektronergastuste siirdekiirusele ja elueale fotosünteesilises membraanis ning isegi

Valkude, eriti membraanvalkude, stabiilsuse uurimist on viimasel ajal tähtsustatud seoses mitmesuguste praktiliste väljunditega biomeditsiinis.

Lõpetuseks

Antud lühiülevaate läbivaks teemaks on fotosüntees. Fotosüntees on üks neist mõistetest, mis on suurem kui ta ise. Täpselt nagu Joosep Tootsi maakera, mille sees pidi veel üks, suurem, maakera olema. Samas tutvuvad lapsed selle mõistega juba põhikoolis ja iga täiskasvanu arvab, et ta teab, millega on tegu.

Puud ja taimed on rohelised, sest nad sisaldavad värvaineid, eelkõige klorofüll. Nimi "klorofüll" tähistabki kreeka keelest rohelist lehte. Klorofüll isoleeriti esmakordselt juba 1817. aastal Prantsuse keemikute Joseph Caventou (1795-1877) ja Pierre Pelletier (1788-1842) poolt. Ka nimetus "fotosüntees" seletab üsna täpselt, millega on tegemist. "Foto" viitab sellele, et see protsess on seotud valgusega ja "süntees" tähendab millegi valmistamist. Kokku siis: "valguse abil valmistama". Valmistamise tulemuseks on meie kõigi põhilised toitained – süsivesikud, valgud, rasvad. Fotosüntees on seega taimede, vetikate ja mõnede bakterite valgustneelavates osades toimuv toitainete sünteesiprotsess. Kogu elu alus Maal, sest ilma toitainetes salvestunud energiata poleks elu. Tänapäevase teaduse andmetel 2,2-2,4 miljardit aastat vana fotosüntees avastati enam kui 230 aastat tagasi. Sellega sai hakkama keerulise nimega Hollandi bioloog ja keemik Jan Ingen-Housz (1730-1799). Füüsikutele pakub vast huvi, et sama mees avastas ka Browni liikumise – tervelt 42 aastat enne meest, kelle nime all seda nähtust tänapäeval teatakse. Fotosünteesi summaarne keemiline võrrand on petlikult lihtne. Selle vasakul poolel on süsihappegaas ning vesi, paremal aga glükoos ja hapnik. Valgust on tarvis, et reaktsiooni paremale kallutada. Mis vahepeal toimub, on siiani intensiivse uurimise all. Üldiselt arvatakse, et loomad fotosünteesi ei harrasta. See seisukoht on nüüdseks aegunud (30). Selgnäsalane *Elysia chlorotica* on kuidagi siiski õppinud klorofüllit ise valmistama.

Erialati tarastatud maailmas tõusetub tihti küsimus, kelle uurimisobjekt see fotosüntees ikkagi on? Mul on häid kolleege, kes väidavad, et fotosüntees on bioloogiline protsess, järelikult on tegemist bioloogiaga. Minu hinnangul pole sellele küsimusele võimalik üheselt vastata. Küsimus on ebakorrektselt püstitatud, sest vastus sõltub sellest, millist probleemi aspekti parajasti kaalutakse. Ühtset fotosünteesiprotsessi saab teatud lähenduses mitmeks suhteliselt sõltumatuks alamprotsessiks jagada. Tartuski on 5-6 uurimisgruppi, kes fotosünteesile erinevate nurkade alt lähenevad. Fotosüntees on seega vaimustav näide interdistsiplinaarsest teadusest, pakkudes häid võimalusi nii bioloogidele, keemikutele, füüsikutele, ökoloogidele kui ka agronomidele. Viimasel ajal on kampa löönud ka insenerid ning tehnoloogid, kes fotosünteesi mitmesugustes rakendustes järele aimata püüavad. Hõlmates nii füüsikalisi kui ka bioloogilisi aspekte, on fotosüntees perfektne uurimisobjekt biofüüsikute jaoks. Nii ongi ta minu jaoks eelkõige biofüüsika.

Teadust ei tehta elevantiluust tornis istudes. Käsitatud neljakümneaastasessse ajajärku jäid revolutsioonilised sündmused meie rahva ja riigi elus, milles ka füüsikainstituudi teadurid aktiivselt osalesid. Aga jäägu sotsiaalsete protsesside peegeldamine siiski vastava ala eriteadlaste hooleks.

Tänuavaldus. Käesoleva aasta 26. detsembril saanuks Rein Avarmaa 70 aastaseks. See artikkel on kantud soovist jäädvustada ja tunnustada varalahkunud kolleegi väljapaistvaid teeneid klorofülliteaduses. Samuti tänan ma kõiki oma kaastöötajaid ning kaasautoreid, keda pole siin ruumipuudusel kahjuks võimalik

ükshaaval ära nimetada. Neid on 40 tööaasta jooksul kogunenud tublisti üle saja inimese.

Kasutatud viited

1. Ilomets, T. 2003 19. detsember 2003. Kromatograafial täitus sada aastat. In Universitas Tartuensis, Tartu.
2. Szabo, A. 1970. Phys. Rev. Lett. 25:924-926.
3. Gorokhovskii, A. A., R. K. Kaarli, and L. A. Rebane. 1974. Hole burning in the contour of a pure electronic line in a Shpol'skii system. JETP Letters 20:216-218.
4. Avarmaa, R. A., and K. K. Rebane. 1985. High-resolution optical spectra of chlorophyll molecules. Spectrochim. Acta A 41:1365.
5. Avarmaa, R. A., and K. K. Rebane. 1988. Zero phonon lines in spectra of chlorophyll-like molecules in solid low-temperature matrixes Uspekhi Fizicheskikh Nauk 154:433-458.
6. Renge, I., K. Mäuring, and R. Avarmaa. 1984. High-resolution optical spectra in vivo: Photoactive protochlorophyllide in etiolated leaves at 5 K. Biochem. Biophys. Acta 766:501-504.
7. Rätsep, M., J. Linnanto, and A. Freiberg. 2009. Mirror symmetry and vibrational structure in optical spectra of chlorophyll a. J. Chem. Phys. 130.
8. Rätsep, M., Z.-L. Cai, J. R. Reimers, and A. Freiberg. 2010. Demonstration and interpretation of significant asymmetry in the low-resolution and high-resolution Qy fluorescence and absorption spectra of bacteriochlorophyll a. J. Chem. Phys. 133.
9. Rätsep, M., and A. Freiberg. 2003. Resonant emission from the B870 exciton state and electron-phonon coupling in the LH2 antenna chromoprotein. Chem. Phys. Lett. 377:371-376.
10. Rätsep, M., M. Pajusalu, and A. Freiberg. 2009. Wavelength-dependent electron-phonon coupling in impurity glasses. Chem. Phys. Lett. 479:140-143.
11. Freiberg, A., K. Timpmann, R. Tamkivi, and R. Avarmaa. 1982. The study of emission kinetics of chloroplast fragments by using a synchronously-pumped dye laser and a spectrochronograph. Proc. Estonian SSR Acad. Sci. 31:200-207.
12. Pettai, H., V. Oja, A. Freiberg, and A. Laisk. 2005. Photosynthetic activity of far-red light in green plants. Biochem. Biophys. Acta 1708:311-321.
13. Borisov, A. 2005. The beginnings of research on biophysics of photosynthesis and initial contributions made by Russian scientists to its development. In Discoveries in Photosynthesis. Govindjee., J. T. Beatty, H. Gest, and J. F. Allen, editors. Springer. 1167-1180.
14. Freiberg, A., V. I. Godik, and K. Timpmann. 1984. Excitation energy transfer in bacterial photosynthesis studied by picosecond laser spectrochronography. In Advances in Photosynthesis Research. C. Sybesma, editor. Nijhoff, Hague, The Netherlands. 45-48.
15. Freiberg, A. 1995. Coupling of antennas to reaction centers. In Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. R. E. Blankenship, M. T. Madigan, and C. E. Bauer, editors. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 385-398.
16. Freiberg, A. 1986. Primary processes of photosynthesis studied by fluorescence spectroscopy methods. Laser Chem. 6:233-252.

17. Freiberg, A., V. I. Godik, and K. Timpmann. 1987. Spectral dependence of the fluorescence lifetime of *Rhodospirillum rubrum*. Evidence for inhomogeneity of B880 absorption band. In *Progress in Photosynthesis Research*. J. Biggins, editor. Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands. 45-48.
18. Freiberg, A., V. I. Godik, T. Pullerits, and K. E. Timpmann. 1988. Directed picosecond excitation transport in purple photosynthetic bacteria. *Chem. Phys.* 128:227-235.
19. Pullerits, T., K. J. Visscher, S. Hees, V. Sundstroem, A. Freiberg, K. Timpmann, and R. van Grondelle. 1994. Energy transfer in the inhomogeneously broadened core antenna of purple bacteria: a simultaneous fit of low-intensity picosecond absorption and fluorescence kinetics. *Biophys. J.* 66:236-248.
20. Freiberg, A., and P. Saari. 1983. Picosecond spectrochronography. *IEEE J. Quantum Electron.* QE-19:622-630.
21. Freiberg, A. 1986. Picosecond spectrochronography and ultrafast relaxation processes in condensed molecular media. D.Sc. Thesis. Institute of Physics, Latvian SSR Acad. Sci., Salaspils. 1-298, in Russian.
22. Freiberg, A., K. Timpmann, S. Lin, and N. W. Woodbury. 1998. Exciton relaxation and transfer in the LH2 antenna network of photosynthetic bacteria. *J. Phys. Chem. B* 102:10974-10982.
23. Aaviksoo, J., P. Saari, and A. Freiberg. 1983. Electron-optical spectrochronograph with time resolution in the picosecond range. In BI No44, USSR.
24. Freiberg, A., and G. Trinkunas. 2009. Unraveling the hidden nature of antenna excitations. In *Photosynthesis in Silico. Understanding Complexity From Molecules to Ecosystems*. A. Laik, Nedbal, L., Govindjee, editor. Springer, Heidelberg. 55-82.
25. Pajusalu, M., M. Rätsep, G. Trinkunas, and A. Freiberg. 2011. Davydov splitting of excitons in cyclic bacteriochlorophyll a nanoaggregates of bacterial light-harvesting complexes between 4.5 and 263 K. *ChemPhysChem*, accepted for publication.
26. Freiberg, A., A. Ellervee, P. Kukk, A. Laisaar, M. Tars, and K. Timpmann. 1993. Pressure effects on spectra of photosynthetic light-harvesting pigment-protein complexes. *Chem. Phys. Lett.* 214:10-16.
27. Ellervee, A., and A. Freiberg. 2008. Formation of bacteriochlorophyll a coordination states under external high-pressure. *Chem. Phys. Lett.* 450:386-390.
28. Kangur, L., K. Leiger, and A. Freiberg. 2008. Evidence for high-pressure-induced rupture of hydrogen bonds in LH2 photosynthetic antenna pigment-protein complexes. *J. Physics: Conf. Series* 121:112004.
29. Timpmann, K., A. Ellervee, A. Laisaar, M. R. Jones, and A. Freiberg. 1998. High pressure-induced acceleration of primary photochemistry in membrane-bound wild type and mutant bacterial reaction centers. In *Ultrafast Processes in Spectroscopy*. R. Kaarli, A. Freiberg, and P. Saari, editors. University of Tartu, Tartu. 236-247.
30. Pierce, S. K., N. E. Curtis, and J. A. Schwartz. 2009. Chlorophyll a synthesis by an animal using transferred algal nuclear genes. *Symbiosis* 49:121-131.