

Mi is a (tudományos) bioenergetika?

Manapság újságok hirdetéseiben, tv- és rádióműsorokban, szórólapokon és hirdetményekben gyakran találkozunk praktizáló bioenergetikusokkal. Nem célom minősíteni a „pozitív” energiák felszabadításának, átvitelének gyógyászati értékét, vagy a „negatív” energiák romboló hatását, csupán leszögezem: a bioenergetika kifejezést az 1950-es években vezették be annak a biofizika, a biokémia és a sejtlelettan találkozási pontján kialakult határterületnek az elnevezésére, melynek fő tudományos problémája a következő volt. Milyen mechanizmussal képes a tápanyagok oxidációja vagy a fény elnyelése során felszabaduló energia olyan más, energiaigényes folyamatokat ellátni, mint például az adenozin-trifoszfát (ATP) szintézise vagy ionok sejten belüli koncentrációja? Pontosíthatjuk a kifejezést membrán-bioenergetikára is, de ezzel a hozzáértőknek nem áruunk el újat, a művelt, de nem specialista olvasó számára pedig esetleg csak egy újabb talánnyal szolgálunk. Definiáljuk hát közelebbről a bioenergetika tudományterületét!

A sejtmagos, eukarióta sejtekben a mitokondrium, fotoszintetizáló szervezetekben ezen felül a kloroplasztisz az a sejtsejtszervecske, ahol a külső forrásból származó energia átalakítása folyik olyan kémiai energiává, mely a legtöbb életfolyamat számára elérhető energiaforrást jelent, ez pedig az ATP és az adenozin-difoszfát (ADP) koncentrációjának az egyensúlyi tömegaránytól 10 nagyságrenddel eltérő aránya az ATP javára. Az ATP szintéziséhez vezető folyamatok a fotoszintézis esetében már a fény elnyelésétől kezdve a kloroplasztisz belső membránrendszeréhez, a tilakoidokhoz kötöttek. A mitokondriumokban folyó úgynevezett oxidatív foszforilációnak pedig a végső lépései történnek meg a mitokondrium belső membránjában (a molekuláris oxigén redukciója vízzé és foszfátcsoport kötése az ADP-hez), miután a bonyolultabb tápanyag-molekulák (cukrok, zsírok, fehérjék) lebontása még a sejt vizes fázisában lezajlik. A kétfajta eseményben az a közös, hogy spontán (tehát szabadentalpia felszabadulásával járó) redoxfolyamatok – fehérjék közötti elektrontranszfer reakciók – kapcsolódnak az ATP-szintézis szabadentalpia-igényes, tehát magától végbe nem menő reakciójához.

Mi a szerepe a membránoknak, ezeknek a lipid kettősrétegből és a kettősrétegebe részben vagy teljesen beágyazott fehérjékből álló összetett rendszereknek, melyek zárt zsákocskákat alkotnak, még ha bonyolult redőzetük ezt nem is mindig mutatja nyilvánvalóan? A kérdésre *P. Mitchell* elmélete (kémiai Nobel-díj, 1978) adja meg a választ. Eszerint a membránba ágyazott redox partnerek közötti elektrontranszfer reakciók elő-

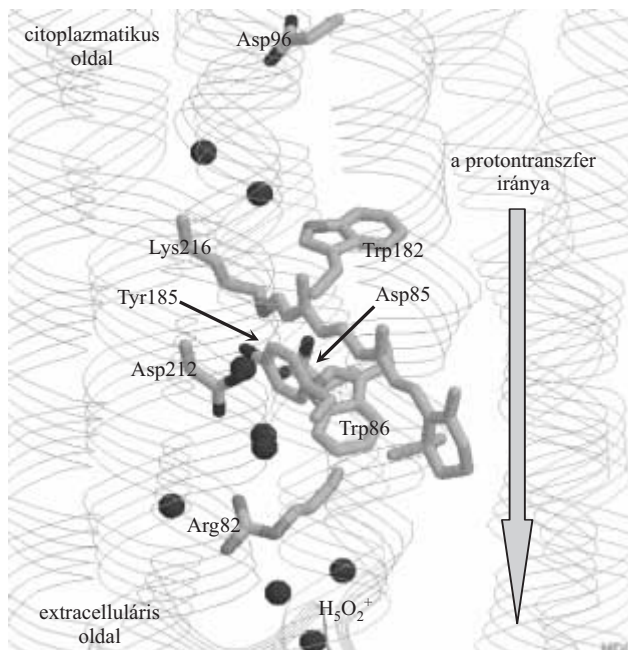
ször a membránra merőleges irányú vektoriális protontranszferet idéznek elő. Ennek eredményeképpen a zárt membrán egyik oldalán (pl. a zsákocska belsejében) felhalmozódnak a protonok, azaz a kémia nyelvén savasodás, pH-csökkenés történik, és a pH-különbség mellett elektromos potenciálkülönbség ($\Delta\psi$) is kialakul a membrán két oldala között. A protongradiens energiaktároló képessége azon múlik, hogy a biológiai membrán képes-e szigetelő módjára ellenállni a (mV-ban kifejezhető) $\Delta p = \Delta\psi - 60 \Delta pH$ feszültségnek, és azt tartósan fenntartani. A kloroplasztisz és a mitokondrium belső membránja akár 200 mV körüli membránpotenciálnak is ellenáll, ami – ha teljes egészében elektromos feszültség formájában van jelen – a membrán 10 nm-nél kisebb vastagságát figyelembe véve 10^5 V/cm nagyságrendű elektromos télerősséget jelent.

Az ATP-szintetáz fehérje, ez a lenyűgözően szellemes molekuláris gép, a protongradiensben rejlő energiát először mechanikai munkává alakítja, miközben az egyik oldalon felhalmozott protonokat „átzilipeli” a másik oldalra. A membránhoz kötött egyik fehérjealegységének, mint „bütykös tengelynek” a forgómozgása a fehérje távolabbi pontján pedig olyan mechanikai feszültségeket és alakváltozásokat okoz, melyek a felvett ADP- és foszfátmolekulák között létrehozzák a kémiai kötést. (A szerkezet és a működési mechanizmus kapcsolatának feltárásáért *P.D. Boyer, J.C. Skou* és *J.E. Walker* 1997-ben kémiai Nobel-díjat kapott.) A bioenergetika az elektrontranszfer – protontranszfer – ATP-szintézis folyamat részleteivel, a benne szerepet játszó molekulák (fehérjék, festékek, mobilis elektronszállítók stb.) szerkezetével és működésével foglalkozik, és minden olyan jelenséggel vagy molekulával, melynek hasonlóságok, analógiák alapján a fent vázolt alapvető energiaátalakító út megismerésében szerepe lehet [1]. Az utóbbi időben egyre nagyobb a bioenergetika orvosi jelentősége is, noha természetesen nem a fent már említett értelemben. Kiderült ugyanis, hogy számos betegségnek olyan genetikai oka van, mely a mitokondriális energiaátalakítás fehérjeinek valamilyen hibájához vezet, és ezért a sejt energiaháztartása felborul, vagy az elektrontranszfer hibás működése miatt veszélyes reaktív oxigéngyökök keletkeznek.

Kinetikus spektroszkópia a bioenergetika szolgálatában

A fehérjék az őket alkotó polipeptid és aminosav oldal-láncok tulajdonságai alapján egyrészt az ultraibolya tartományban nyelnek el fényt, másrészt molekuláris rezgéseiknek megfelelően az infravörösben. Néhány kivételtől eltekintve tehát színtelenek. Ilyen kivételek a természet

Az szerző munkáját az OTKA (T034745) támogatta.

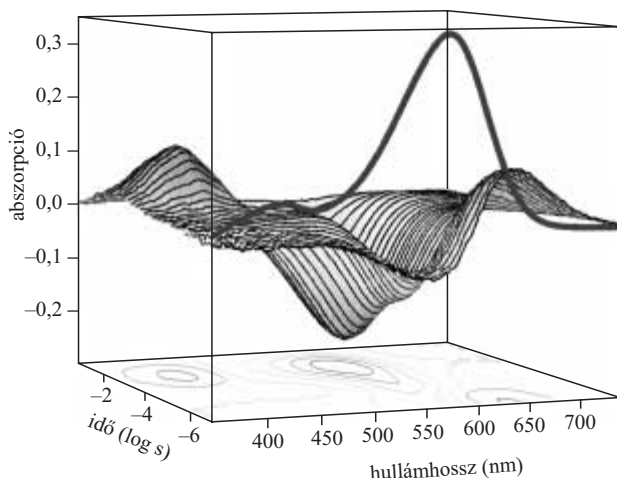


1. ábra. A retinál kromoför- és fehérjekörnyezete bakteriorodopszinban, röntgenkristallográfiás adatok alapján (felbontás: 1,47 Å, pdb kód: 1M0L, [3]). Kiemeltük az opszineltolódáshoz hozzájáruló töltött és gyűrűs aminosavakat, valamint a protontranszferben szerepet játszó aminosavakat és vízmolekula-klasztert. A kis gömbök a kötött vízmolekulák oxigénatomjait jelölik. A polipeptidlánc szerkezetét a halvány szalag mutatja.

által fényelnyelésre kifejlesztett fotoszintetikus és fényérzékeny fehérje-festékkomplexek (klorofilltartalmú fehérjék, retinálfehérjék vagy rodopszinok) és egyes redoxfehérjék (pl. citokromok), melyek az elektrontranszfer reakciót fémtartalmú kofaktorok segítségével végzik, és ezek – mellékesen – a látható spektrumtartományban abszorbeálódnak.

A rodopszincsalád tagjait a természet több célra is kifejlesztette. A látóbíborban működő rodopszin az elnyelt fény hatására olyan biokémiai reakciósorozatot indít el, melynek végeredménye a látóidegen végigfutó idegimpulzus. Létezik azonban egy másik, és egyre népeesebb

2. ábra. A bakteriorodopszin abszorpciós spektruma (az előtérben), valamint optikai sokcsatornás analízattal készített differenciaspektrumok sorozata. A lézermimpulzus után eltelt idő logaritmikus időskálán egyenletesen nő 100 ns-től 150 ms-ig.



ága a rodopszinok családjának, melynek első és legjobban ismert tagja a *Halobacterium salinarum* sótűrő archaebaktérium sejtmembránjában bő 30 éve megtalált bakteriorodopszin (BR). Ez a 7 transzmembrán alfa-hélixet tartalmazó és mind-transz retinált kovalensen kötött fehérje 570 nm-es fény elnyelése után egymaga képes protonokat „pumpálni” a sejt belsejéből a külső térbe, akár néhány száz mV membránpotenciál ellenében is. A kialakult proton-elektrokémiai gradiens itt is ATP-szintézisre ad lehetőséget, valamint egyéb élettani folyamatokra, mint például a sejt ostorait forgató motor meghajtására, azaz a sejt térbeli mozgására.

A rodopszinok kromofórja, a retináldatban a közeli ultraibolya tartományban nyel el, a retinálfehérjék abszorpciós maximuma viszont 400 és 600 nm között változik. A retinál a fényelnyelést megelőző nyugalmi állapotban protonált, azaz pozitívan töltött Schiff-bázissal ($C_{15} = N_{Lys}$ kötés) kapcsolódik egy lizin oldalláncához, bakteriorodopszin esetében a 216. aminosavhoz, és a fehérje belsejében kialakuló üreget foglalja el. Az abszorpciós sáv hangolását a fehérjekörnyezet végzi, ezért beszélünk opszineltolódásról (retinálfehérje = retinál + opszin). Az 1. ábrán, ahol a retinál és fehérjekörnyezete látható bakteriorodopszinban, megfigyelhetők a szín kialakításában elsősorban szerepet játszó szerkezeti elemek: a protonált Schiff-bázis töltését kompenzáló két negatív (Asp85¹ és Asp212) és egy pozitív (Arg82) töltésű aminosav, az ezeket hidrogénhid-kötésekkel összekapcsoló kötött vízmolekulák, és a retinálhoz közel lévő három aromás aminosav, melyek polarizálhatósága a retinál elektronikusan gerjesztett állapotát stabilizálja [2].

Fényelnyelés után a retinál gerjesztett állapotában a $C_{13} = C_{14}$ kettős kötés mentén izomerizálódik, mielőtt visszatér az elektronikus alapállapotba. Ezután metastabil intermedierek sora követi egymást (K, L, M, N és O állapotok), majd visszaalakul a kiinduló BR-állapot. Az úgynevezett fotociklus intermediereiben a retinál és a fehérje szerkezete fokozatosan módosul, ezek a változások egy proton sejtön kívüli leadását és egy másiknak a sejt belsejéből (a citoplazmából) történő felvételét eredményezik, és a retinál konformációjának, valamint az opszineltolódásnak a változása a molekula színének a változásával jár. A fotociklus lépései a ps-os tartománytól a ms-os tartományig terjednek, a spektrális eltolódások tehát jó időfelbontású, látható tartománybeli kinetikus abszorpciós spektrofotometriával követhetők. A makroszkopikus mintában az egyes molekulák fotociklusának szinkronizált elindításáról egy impulzuslézer gondoskodik. Ezután különböző időkésleltetéssel pillanatfelvételek készíthetők a minta abszorpciós spektrumáról, egy kapuzott fotodiódásor érzékelő – úgynevezett optikai sokcsatornás analízator – segítségével. A 2. ábrán látható egy ilyen mérés eredménye: időben felbontott differenciaspektrumok összessége, valamint a kiinduló BR-állapot abszorpciós spektruma.

¹ A szakirodalomban szokásos jelölésnek megfelelően: Asp85: a szekvencia 85. pozícióját elfoglaló aszparaginsav, Lys: lizin, Arg: arginin, Tyr: tirozin, Trp: triptofán, valamint SB: Schiff-bázis.

Mátrixalgebra a spektroszkópia szolgálatában

Az időben egymás után következő differenciaspektrumokat oszlopvektorokként egy mátrixba rendezhetjük (mind a hullámhossz-, mind az időskálán diszkrét mintavételezés történik). A Beer–Lambert-törvény értelmében ez a mátrix felírható az egyes intermedierek (differencia)spektrumai és időfüggő koncentrációi szorzataként:

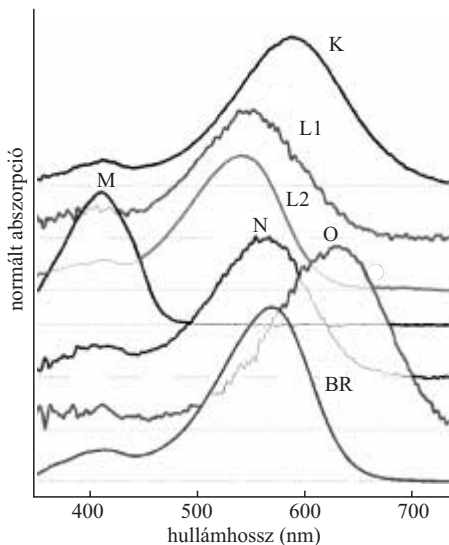
$$\mathbf{D} = \boldsymbol{\varepsilon} \mathbf{c}^T = \sum_{j=1}^k |\boldsymbol{\varepsilon}_j\rangle \langle \mathbf{c}_j|, \quad (1)$$

ahol k az intermedierek száma. A fotociklus ismerete azt jelentené, hogy ki tudjuk számolni az intermedierek koncentrációinak kinetikáját, azaz a \mathbf{c} mátrixot, erre megfelelő fotociklus-sémát tudunk illeszteni, és ezzel meg tudjuk határozni az egyes reakciók – molekuláris lépések – sebességi állandóit. Ha ezt a programot sikerül széles hőmérsékleti tartományban és szubsztrátkoncentráció (azaz pH-) tartományban elvégezni, akkor remény van arra, hogy a bakteriorodopszin mint protonpumpáló fehérje működésének teljes termodinamikai leírását el tudjuk végezni [4, 5].

A baj csak az, hogy az (1) egyenletben az intermedierek spektrumát sem ismerjük. Ennek két oka van. Egyrészt a spektrumok erősen átfednek egymással, és egyébként is meglehetősen részletszegények, másrészt az intermedierek kinetikailag is átfednek, azaz bármikor is „nézünk rá” a mintára a gerjesztés után, mindig több intermedier ismeretlen arányú keverékét fogjuk látni. Még abban sem lehetünk biztosak, hogy mennyi az intermedierek teljes száma.

Ha abszolút biztos megoldásban nem is, jó közelítő megoldásban azért reménykedhetünk [6]. A mátrixalgebrából ismert szingulárisérték-felbontás segítségével megbecsülhetjük a spektrálisan különböző intermedierek számát, és kapunk egy ortonormált bázisspektrumkészletet (\mathbf{U}), továbbá egy ennek megfelelő ortonormált

3. *ábra*. A bakteriorodopszin abszorpciós spektruma és a kinetikus sokcsatornás spektroszkópiai adatok kemometriai kiértékelésével kapott intermedier-spektrumok.



kinetikai bázist (\mathbf{V}). Az utóbbit – pontosabban az $\mathbf{S}\mathbf{V}^T$ szorzatot – a kemometriában kombinációs együtthatóknak nevezik:

$$\mathbf{D} \equiv \mathbf{U}\mathbf{S}\mathbf{V}^T. \quad (2)$$

Tekintve, hogy a \mathbf{D} mátrix minden oszlopa, azaz minden mért differenciaspektrum kikeverhető az \mathbf{U} bázisvektoraiból, arra törekszünk, hogy az ismeretlen „tisztá” intermedier-spektrumokat is ebből a bázisból keverjük ki. Az eljárás, melyet emiatt angolul *self-modeling*-nek neveznek, matematikai értelemben nem szükségképpen kell, hogy eredményre vezessen, de a tapasztalat szerint a bakteriorodopszin fotociklusa esetében eredményes. A keresést egy, az \mathbf{U} dimenziójánál eggyel kisebb dimenziójú, úgynevezett sztöchiometriai hipersíkon végezzük, kihasználva azt a megszorítást, hogy az intermedierek koncentrációja összegének meg kell egyeznie a kiinduláskor gerjesztett molekulák koncentrációjával:

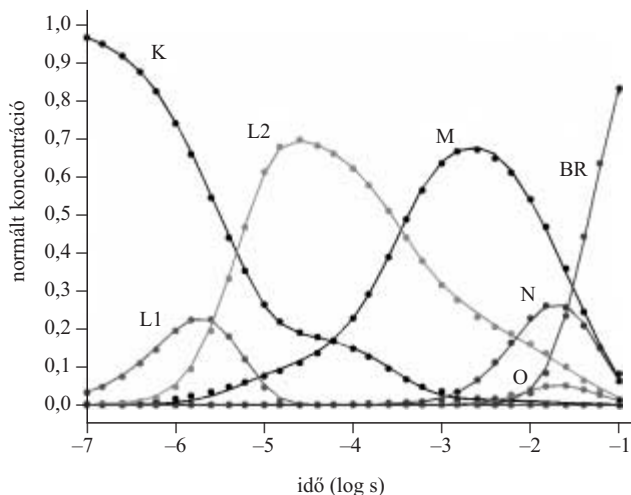
$$\sum_{j=1}^k |\mathbf{c}_j\rangle = |\text{konstans}\rangle, \text{ ahonnan } \sum_{j=1}^k |\mathbf{V}_j\rangle \mathbf{R}_j = |1\rangle \quad (3)$$

és a hipersíkot definiáló \mathbf{R} vektor legkisebb négyzetes illesztésből meghatározható.

További segítséget nyújt a keresésben egy sor, a retinálfehérjék spektrumára nézve megkövetelhető feltétel, melyek közül a legegyszerűbbek a nemnegatív abszorpció és az egyetlen, széles abszorpciós sáv kívánalma. Az eljárás eredményeképpen a 3. *ábrán* látható spektrumokat kapjuk a 2. *ábra* adatainak kiértékeléséből [7]. Mint az régóta ismert, az M intermedier spektrumának erős kékeltolődését az okozza, hogy ekkor a Schiff-bázis leadja a protonját a szomszédos Asp85 aminosavnak, ami a protonpumpa első lépését jelenti. A többi intermedierben a Schiff-bázis protonált, és a kisebb eltolódásokat a retinál változó konformációja, valamint a működés közben változó fehérjekörnyezet (töltéseloszlás, polarizálhatóság, hidrogénhidak) okozza.

Kinetika és működési mechanizmus

A spektrumok ismeretében az intermedierek koncentrációinak időbeli lefutása legkisebb négyzetes illesztéssel kapható az (1) egyenletből (4. *ábra*, szimbólumok). Két szembevető tulajdonság rögtön megállapítható a 4. *ábráról*. Egyrészt jól látszik az intermedierek időbeli átfedése, másrészt az is, hogy bizonyos intermedierek sok nagyságrenden átívelő és „lépcsős” kinetikája csak úgy magyarázható, ha valójában itt spektrálisan megkülönböztethetetlen állapottok koncentrációjának burkológörbét látjuk. Ezért tehát a fotociklust leíró reakció-sémának kinetikai okokból kellően bonyolultnak kell lennie. A tapasztalat szerint nincs is remény arra, hogy teljesen „vakon”, csak matematikai problémának tekintve a feladatot, megtaláljuk a helyes fotociklus sémát. Szerencsére elég sok ismeret halmozódott fel a bakteriorodopszin működéséről az elmúlt évtizedekben ahhoz, hogy megpróbálkozhassunk egy „konszenzus” séma felállításá-



4. ábra. A bakteriorodopszin intermedierjeinek kinetikája 5 °C hőmérsékleten és 6,0 pH-értéken. A szimbólumok az adatmátrixnak a spektrumokkal való illesztéséből meghatározott koncentrációk. A folytonos vonalak a fotociklus séma illesztésének eredményei *Groma Géza* programjának (rate2.1) felhasználásával.

val, és megvizsgáljuk, hogy ez milyen jól illeszti az adatainkat, és hogy az illesztésből kapható reakciósebességeknek van-e, illetve mi a fizikai értelme. A világszerte felhalmozott ismeretanyag részben más típusú kísérletekből származik. Ilyen például a röntgenkristallográfiás szerkezetmeghatározás, a kinetikus infravörös spektroszkópia, a magmágneses rezonancia (NMR) spektroszkópia, a proton vizes fázisbeli megjelenésének és eltűnésének mérése pH-indikátor festékekkel, valamint a töltésmozgást kísérő elektromos jelek közvetlen mérése – ez utóbbi módszer elsősorban *Keszthelyi Lajos, Ormos Pál, Váró György, Dér András, Groma Géza és Tóth-Boconádi Rudolf* munkássága nyomán [8, 9]. Feltételezzük továbbá, hogy a fotociklus reakciói elsőrendűek és reverzibilisek. Ha valamely lépés mégis irreverzibilis, ennek ki kell derülnie abból, hogy az illesztésből kapott sebessége legalább 3–4 nagyságrenddel nagyobb, mint a fordított reakcióé.

Az általunk javasolt fotociklus sémája az 5. ábrán látható azzal az egyszerűsítéssel, hogy eltekintünk egy savas pH-értékeken fellépő elágazástól. Az alábbiakban a fotociklus és a protontranszport egyes molekuláris lépéseit ismertetjük *Lányi János* (Kaliforniai Egyetem, Irvine) modellje alapján [10], és bemutatjuk, hogy ez a modell hogyan tükröződik az 5. ábra sémájában, és az illesztésből milyen sebességi állandók adódnak.

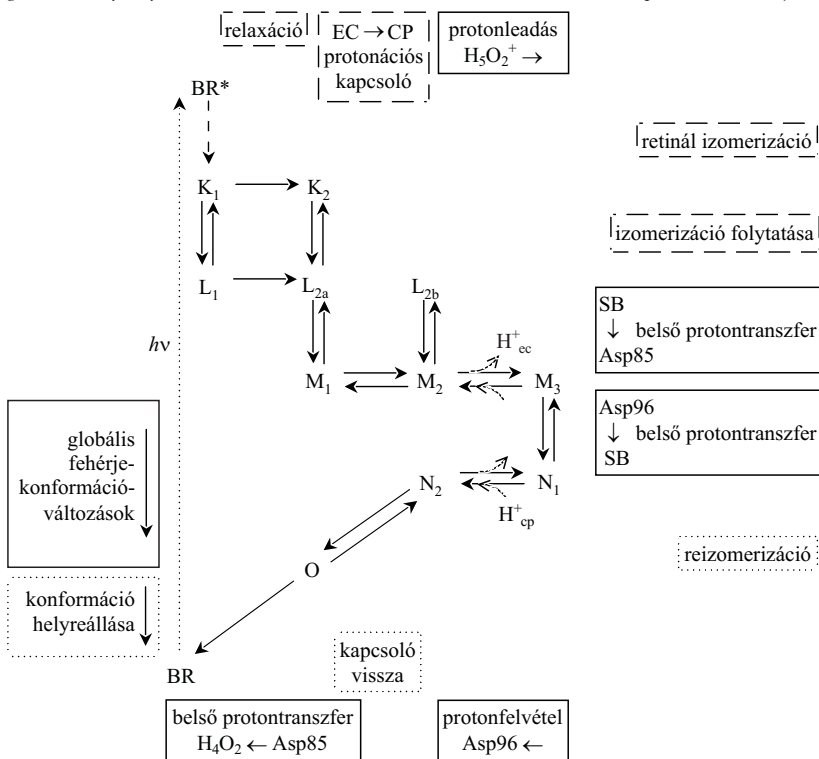
A retinál izomerizációja a $C_{13} = C_{14}$ kettős kötés körül nagyrészt, de nem teljes egészében, a K intermedier ki-

alakulásával megtörténik, ugyanakkor a fehérje üregének alakja még nem alkalmazkodik az új helyzethez. Az ebből adódó feszültségek miatt a retinál több kötési szöge csak később tud relaxálódni. Mivel a korai és későbbi L formák között spektrális különbséget is ki tudunk mutatni, fel kell tételeznünk, hogy a Schiff-bázis és a töltött Asp85 és Asp212 aminosavak között megbomlott kapcsolat helyreállása – ami a $K \rightarrow L$ spektrális átmenetben nyilvánul meg –, valamint a retinál egyéb kötéseinek relaxációja elkülönült folyamatok. Érdekes módon az utóbbiak az illesztésből egyirányúnak adódtak, ami talán nem is meglepő. Ezeknek a folyamatoknak a sebességi állandói a $10^{4,8} - 10^{5,7} \text{ s}^{-1}$ tartományba esnek.

Általánosan elfogadott nézet szerint a fehérje a protont több lépésben, részben a lyukvezetésre emlékeztető módon transzportálja. Az első lépés a gerjesztés előtt a Schiff-bázison lévő proton átugrása az akceptor Asp85 oldallánra. Ez, a sémánkban $L_{2a} \rightarrow M_1$ -ként jelölt átmenet egyrészt igen gyors ($10^{8,3} \text{ s}^{-1}$), másrészt nemhogy reverzibilis, de a fordított reakció még gyorsabb. A folyamatot tehát úgy lehet elképzelni, hogy mikor a feltételek kialakultak erre, a proton szinte „rezonál” a két hely között, de egyelőre még jobban érzi magát a Schiff-bázison.

A következő lépés a vektoriális protontranszfer szempontjából döntő jelentőségű. A Schiff-bázisnak deprotonált állapotában (azaz az M_1 állapotban) el kell fordulnia

5. ábra. A bakteriorodopszin fotociklusának sémája és az egyes lépések molekuláris jelentése. A sémát semleges és lúgos pH-ra javasoljuk, utóbbi felel meg a baktérium természetes élőhelyének. Egy sorban található a fő intermedierek spektrálisan azonos alállapotai. Kivételt képez az L intermedier, ahol az L_{2a} és L_{2b} azonos spektrumú, de az L_1 ettől kissé különböző (3. ábra). A magyarázó „dobozok” a velük azonos sorban, illetve oszlopban található nyilakra, azaz eseményekre vonatkoznak. A vastag szaggatott vonallal keretezett lépések a retinára és közvetlen környezetére korlátozódó „lokális” konformációváltozások. A vastag folytonos keret a fehérje távolabbi helyeire is kiterjedő „globális” konformációváltozást jelöl. A protonok mozgását vékony folytonos kerettel láttuk el. A konformáció visszaalakulását pontozott keret jelöli.



az akceptortól a másik, azaz a citoplazmatikus oldalra, hogy az ott protonált állapotban várakozó Asp96 donortól át tudjon ugrani rá a proton. Ha ez nem történne meg, akkor az Asp85 protonálná újra a Schiff-bázist, főleg nagy külső oldali protonnyomás esetén, lerontva ezzel a protonpumpa határfokát, vagy teljesen megakadályozva annak működését.

Az intermedier-koncentrációk illesztéséből kiderült, hogy a Schiff-bázis és az Asp85 közötti kapcsolat nem szakad meg teljesen az extracelluláris \rightarrow citoplazmatikus protonációs kapcsoló lépés után sem, azaz ekkor is van lehetőség arra, hogy az Asp85 visszaadja a protont a Schiff-bázisnak, ami egy újabb, L_{25} -vel jelölt állapot kialakulásához vezet. A kapcsoló után azonban a Schiff-bázis és az Asp85 közötti protoncsere sebességi állandói 2,5–4 nagyságrenddel kisebbek, mint a kapcsoló előtt, ráadásul az egyensúly itt már a deprotonált Schiff-bázis javára tolódik el. A jelentősen lelassult protonátmeneteknek kézenfekvő a fizikai magyarázata: míg a kapcsoló előtt a Schiff-bázist és az Asp85-öt közvetlen, hidrogénkötésekből álló protonvezető csatorna köti össze egy vízmolekula közbeiktatásával, addig a kapcsoló után ilyen csatorna nem látható a röntgenkristallográfiás adatokból.

A fehérje közepén megbomlott töltésegysúly és a vízmolekulákat is magában foglaló hidrogénkötések hálózatának megbomlása azzal jár, hogy az Arg82 oldallánc elfordul az extracelluláris felszín irányába, és ez magával vonja egy proton „kilökését” az ott elhelyezkedő, feltehetőleg két, protonált vízmolekulából álló klaszterből (ún. Zundel-ionból). A sejten kívül megjelenő proton tehát nem azonos a Schiff-bázisról elmozdult protonnal – innen a lyukvezetéssel való hasonlatosság. Ez a lépés már elég lassú (milliszekundumos), a fordítottja szintén, és az ráadásul protonkoncentráció-függő, hiszen proton felvételét jelenti a vizes fázisból. Ismert az is, hogy a protonleadást „megérzi” a Schiff-bázis környezete is, azaz a protonleadó klaszter és az Asp85 protonaffinitása egymáshoz kapcsolt. Ez azt jelenti – mint ahogy az a modellillesztésből kiderült –, hogy a protonleadás után már lassan sem képes az Asp85 visszaadni a saját protonját a Schiff-bázisnak, azaz a protontranszfer vektorialis volta végképp eldőlt. A Schiff-bázis „kénytelen” a másik oldalról, az Asp96 protodonorról pótolni elveszített protonját.

Ez a folyamat ($M_3 \rightarrow N_1$) és fordítottja is meglehetősen lassúnak bizonyult, 10^2 s^{-1} nagyságrendű sebességi állandóval. Ennek két oka is van. Egyrészt a gerjesztés előtt nincs folytonos hidrogénhíd-összeköttetés a Schiff-bázis és az Asp96 között (a távolság kb. 11 Å), ennek tehát előbb ki kell alakulnia, mégpedig belépő vízmolekulák közvetítésével. Másrészt az elektromosan semleges Schiff-bázis–Asp96 párból töltésszétválasztás útján kell ionpárt létrehozni a kis dielektromos állandójú fehérjében, amelynek nagy lehet a potenciálgátja.

A következő lépésben az Asp96 a belső vizes fázisból pótolja elvesztett protonját. A folyamat meglehetősen gyorsnak adódott (μs -os tartomány), és nyilván pH-függő. Röntgenkristallográfiás és egyéb (pl. elektronspin-rezonancia) módszerekkel egyértelműen kimutatható volt, hogy a fotociklusnak ebben a stádiumában a fehérje

retináltól távolabbi részein is konformációváltozások történnek, elsősorban a hélixek tengelyének kis elfordulásai, aminek az eredményeképpen a fehérje belsejébe vízmolekulák tudnak belépni, ezzel elősegítve a proton felvételét. A retinál fotoizomerizációjával létrejött lokális konformációváltozás ekkorra tehát – ha nem is nagy, de globális konformációváltozást eredményez, azaz a kezdetben kis térfogatra korlátozódó többletenergia „szétterül” a fehérje teljes térfogatára.

A fotociklus végén helyre kell állítani a fehérje és a retinál szerkezetét, valamint a töltéeloszlást. A retinál reizomerizációja az $N_2 \rightarrow O$ lépéshez köthető. A töltésegysúly helyreállításához még egy belső protontranszfer-lépés szükséges: az Asp85-ről a protonkibocsátó vízmolekula-klaszterre. Egyelőre nem tudjuk megmondani, hogy a fehérje konformációjának végső visszarendeződése egybeesik-e ezzel a lépéssel, vagy esetleg tőle független. Mint az a 4. ábrán látható, az O intermedier általában nagyon kis mennyiségben halmozódik fel, és ezért a kinetikájából igen nehéz pontos következtetéseket levonni. Az viszont nagy biztonsággal állítható, hogy az utolsó lépés egyirányú, mert ellenkező esetben a fotociklus végén a kiinduló állapot és az intermedierek valamilyen keverékét kapnánk meg.

Kitekintés

A bakteriorodopszin működését nagy vonalakban már értjük, noha részletkérdésekben és a pontos, kvantitatív termodinamikai leírásban még van tennivaló. Azaz tudjuk, hogy mi történik, de nem tudjuk elég pontosan, hogy hogyan és miért. Ez ügyben a kísérleti vizsgálatok mellett egyre fontosabbá válnak a molekuladinamikai, kvantumkémiái, illetve a kettőt kombináló hibrid számítások. A programok és a processzorok rohamos fejlődésével ma már lehetőség van a fotociklus egyes lépéseinek a modellezésére is.

A bakteriorodopszin a fény által hajtott protonpumpa iskolapéldája, és a maga viszonylagos egyszerűségében mind a működését, mind pedig a kezelését, stabilitását illetően nagyon sok mindenre megtanított bennünket a fehérjék szerkezetére, működésére, az iontranszport mechanizmusára vonatkozóan. Az élet azonban, mint általában, sokkal bonyolultabb. A fotoszintézisben és az oxidatív foszforilációban szerepet játszó fehérjekomplexek nem egy – például fényel kiváltott – közvetlen konformációváltozást, hanem redox reakciókat kapcsolnak össze a protontranszporttal. A mechanizmus tehát részben hasonló (lehet), részben azonban biztosan nagyon különböző attól, amit a bakteriorodopszintól megtanultunk. A legtöbbet a mitokondriális elektrontranszfer utolsó (negyedik) komplexének, a citokróm c oxidáznak a működéséről tudunk. Ez a legalább 3 alegység, a bakteriorodopszinnál jóval nagyobb fehérje négy, egymás után megkötött citokróm c fehérjétől kap 1–1 elektront, ezeket két kofaktoron át eljuttatja a belsejében lévő aktív (katalitikus) helyre, ahol egy megkötött oxigénmolekulát a vizes fázisból felvett 4 proton segítségével két vízmolekulává redukál. A redox reakcióban

felszabaduló energiát a fehérje arra használja fel, hogy minden belépő elektronra 1–1 protont pumpál át a membrán belső oldaláról a külsőre. Úgy is felfoghatjuk, hogy minden felvett elektronra egy a bakteriorodopszin működéséhez hasonló protontranszport-ciklus játszódik le, de nem lehetünk biztosak afelől, hogy ez mindig egyformán, vagy esetleg minden elektronra máshogyan történik. A protonok felvételének és leadásának útvonaláról már vannak ismeretek, de a molekuláris részletekről még nagyon keveset tudni. Ha ehhez még hozzávesszük, hogy a mitokondriumban a másik három komplexből kétfő szintén protonpumpaként működik, nem lehet kétségünk afelől, hogy még jó ideig lesz mivel foglalkozniuk a – valódi – bioenergetikusoknak.

Irodalom

1. P. MARÓTI, G. LACZKÓ: *Bevezetés a biofizikába* – JATE Press, 2001.
2. H. HOUJOU, Y. INOUE, M. SAKURAI – J. Phys. Chem. B 105 (2001) 867–879
3. B. SCHOBERT, J. CUPP-VICKERY, V. HORNAK, S. SMITH, J.K. LANYI – J. Mol. Biol. 321 (2002) 715–726
4. G. VÁRÓ, J.K. LANYI – Biochemistry 30 (1991) 5016–5022
5. K. LUDMANN, C. GERGELY, G. VÁRÓ – Biophys. J. 75 (1998) 3110–3119
6. L. ZIMÁNYI – J. Phys. Chem. B 108 (2004) 4199–4209
7. L. ZIMÁNYI, J. SALTIEL, L.S. BROWN, J.K. LANYI – J. Am. Chem. Soc., közlésre benyújtva.
8. L. KESZTHELYI, P. ORMOS – FEBS Lett. 109 (1980) 189–194
9. A. DÉR, L. OROSZI, Á. KULCSÁR, L. ZIMÁNYI, R. TÓTH-BOCONÁDI, L. KESZTHELYI, W. STOECKENIUS, P. ORMOS – Proc. Natl. Acad. Sci. USA J. 96 (1999) 2776–2781
10. J.K. LANYI, B. SCHOBERT – Biochemistry 43 (2004) 3–8

SZABÁLYOZOTT MAGFÚZIÓ MÁGNESES ÖSSZETARTÁSSAL II. – EREDMÉNYEK ÉS TERVEK

Zoletnik Sándor

KFKI Részecske és Magfizikai Kutató Intézet,
Magyar EURATOM Fúziós Szövetség

A *Fizikai Szemle* 2005/3 számában áttekintettük a mágneses fúziós kísérletek alapjait és a jelenleg alkalmazott tokamak- és sztellarátor-konfigurációkat. A cikk második részében a modern berendezésekkel elért eredményekről, fúziós technológiáról és a tervezett reaktorparaméterű kísérletről lesz szó.

A tokamakok aranykora

A szovjet tokamak-kísérletek eredményeinek megerősítése után a hetvenes-nyolcvanas években egyre nagyobb és nagyobb tokamakokat terveztek és építettek az egész világon. Az első berendezéseknél a tórusz sugara még csak 30–40 cm volt, ez a nyolcvanas évek közepére 3–4 méterre nőtt. A méretnövekedést az az egyszerű tény indokolja, hogy nagyobb méretű test lassabban hűl, mivel viszonylag kisebb a felülete. Emellett ismert lett az is, hogy a plazma belseje felé haladva a sűrűség és a hőmérséklet nem növekedhet akármilyen gyorsan, egy kritikus meredekség felett instabilitások lépnek fel. Ebből következik, hogy adott sűrűség és hőmérséklet eléréséhez a plazmának egy minimális méretet el kell érnie. Egy reaktorplazmának még azért is több méteresnek kell lennie, mivel a reakcióban keletkező α -részecskék (hélium atommagok) Larmor-pályájának sugara fél méter nagyságrendű. A fúziós égés beindításához az α -részecskéket a mágneses térben kell tartani, így a plazma méretének sokkal nagyobboknak kell lennie a Larmor-pálya sugaránál.

A plazma fűtését az első berendezésekben a plazmaáram Joule-hője oldotta meg (ohmikus fűtés, akárcsak egy rezsóban), de már a kezdetektől nyilvánvaló volt, hogy ezen a módon a magfúzióhoz szükséges hőmérsékletet nem lehet elérni. A plazmaáram értékét ugyanis a kívánt

mágneses konfiguráció meghatározza, az ellenállása azonban a hőmérséklet növekedésével $R \sim T^{-3/2}$ szerint csökken, így a $P = I^2 R$ fűtési teljesítmény is visszaesik. 1 keV (10 millió °C) hőmérséklet könnyen elérhető ohmikus fűtéssel, de a fúzióhoz szükséges 10^8 °C már nem. A magasabb hőmérséklet eléréséhez kiegészítő fűtési eljárásokat dolgoztak ki. Az egyik megoldásban a plazmába 50–100 keV-es semleges atomnyalábot lőnek be. A semleges részecskék a mágneses téren akadálytalanul áthatolnak, de a forró plazma ionizálja az atomokat, és így már a mágneses tér csapdájába esnek. A többi plazmarészecskével ütközve lassan leadják energiájukat és fűtik a plazmát. Más megoldásokban olyan rádióhullámokkal sugározzák be a plazmát, amelynek frekvenciája megegyezik vagy az elektronok, vagy az ionok ciklotronfrekvenciájával, elnyelődnek a plazmában, és így a plazma valamelyik komponensét fűtik. Mivel időközben a berendezések mérete nagyra nőtt, a kiegészítő fűtésektől megkívánt teljesítmény is megawattokra rúg. Itt már nem egyszerű labor-kísérletekről, hanem ipari méretű technológiai kísérletekről van szó! Ezekkel a kiegészítő fűtésekkel a plazma hőmérséklete már elérte a fúzióhoz szükséges értéket.

A legtöbb berendezés csak plazmafizikai kísérleteket szolgál, így hidrogén- vagy deutériumplazmával működik, de a 90-es években először az amerikai TFTR, majd az Európai Unió JET berendezésén rövid időre több MW fúziós teljesítményt értek el deutérium-trícium plazmában. Meg kell jegyezni, hogy a szovjet-orosz kutatások a nyolcvanas évek közepén részben pénzügyi, részben technikai problémák miatt megrekedtek. Az 1985-ben indítani tervezett T-15 tokamak, amelyhez a számítógéprendszerrel a KFKI építette, sohasem indult el. A kutatók felhalmozott tudása viszont a világ különböző kísérleteinél hasznosul.