

Biofüüsika – varjust valguse kätte

Arvi Freiberg

Avatud Eesti tööjõuturg seab kõrgharidusele täiendavaid tingimusi. Äge konkurents ja infoühiskonnale iseloomulik üha kiirenev arengutempo nõuab kõrgkoolilõpetajatelt suurt kohanemis- ja läbilöögivõimet. Parimad eeldused selleks on inimestel, kellel on kvaliteetne ja **laiapõhjaline** haridus. Kitsa ala spetsialistide aeg hakkab ümber saama. Vajadusel saadakse spetsialistiks vahetu töö ja täiendõppe läbi. Lisaks interdistsiplinaarsusele iseloomustavad lähiaegade haridust selge vahe kadumine baas- ja rakendusteaduste vahel. Samas on kõrgkoolide olemasolevad õppekavad tugevalt erialakesksed, meetoodiliselt jäigad ega vasta eelpooltoodud ootustele. Jätkuv kutseline tegevus reeglina vaid kinnistab varem ülikoolis väljakujunenud eraldatust.

Tänase teaduse suurimaid väljakutseid on bioloogilistest protsessidest arusaamine füüsika ja keemia alusprintsipiidest lähtudes. See nõuab nende teadusharude sünergeetilist sildamist. Koosluse tekitamist, mis oleks suurem oma osade summast. Siinkirjutaja ettekujutluses võiks see olla bioloogilise füüsika kui teadusharu peamine eesmärk. Samas vajab niivõrd laiahaardelise ülesandega edukalt toimetulemine uut põlvkonda õpetlasi, kes orienteeruksid võrdelt hästi nii füüsika, keemia kui ka bioloogia põhialustes ning oleksid võimelised rakendama ja vajadusel integreerima kõikides nimetatud teadustes välja töötatud uurimismeetodeid.

Biofüüsika - mis see on

Nagu paljud siduserialad ei lase biofüüsika (e bioloogiline füüsika) ennast kergelt määratleda. Isegi küsimusele - kas biofüüsika kuulub bioloogia või füüsika alla? - on raske üheselt vastata. Tihti saab siin määravaks vastaja maitse. Eesti Teadusfond on biofüüsikat määratlenud kui täppisteadust. Küllap peegeldab see enamiku Eesti biofüüsikute täppisteaduslikku tausta.

Biofüüsika tekkis vajadusest ühendada erinevate teadusharude jõud eluslooduse mõistmiseks. Ammustel aegadel oli teadus üks. Valgustusajast alates hakkas ta aga üha enam valdkondadeks hargnema. See iseenesest vajalik suundumus, mis võimaldas teaduse sügavuti arengut, ammendas ennast olulisel määral juba eelmise sajandi esimesel poolel. Killustumine oli jõudnud nii kaugemale, et erinevate erialade spetsialistid üksteisest ilma "tõlgi" abita vaid vaevu aru said. Aga aru saada oli vaja. Olnuks ju lihtsalt rumal naaberteadustes kogutud rikkalikku teadmistepagasit kasutamata jätta. Nii tekkis ridamisi teadusharusid ühendavaid erialasid: nt küberneetika matemaatika ja inseneriteaduste vallas, sotsioökonomika sotsioloogia ja majandusteaduste vahel ning biofüüsika bioloogia ja füüsika siirdealal. Reeglina kasvavad sellised siduserialad üsna kiiresti vahendaja rollist välja hakates iseseisvudes kandma baaserialasid üldistavat missiooni. Selles mõttes on nad valdkondade ülesed, uut teavet loovad õpetused. Erandiks pole ka biofüüsika, mis rakendab füüsikalistest teadustest tuntud kvantitatiivseid meetodeid bioloogilisest ainest arusaamisel molekulaarsel, raku ja tervete organismide tasandil.

Millal biofüüsika tekkis? Füüsiku taustaga inimesed kalduvad arvama, et biofüüsika sai alguse Erwin Schrödingeri (1887-1961) 1944. aastal avaldatud raamatukesest "Mis on elu?" [1]. Selles paljudesse keeltesse tõlgitud üllitises jõuab kvantmehaanika rajaja

järeldusele, et kõiki elusorganismides aset leidvaid protsesse on vähemalt põhimõtteliselt võimalik kirjeldada füüsikast ja keemiast tuntud seaduspärasustega. Teistel on aga põhjust uskuda biofüüsika palju varasemat sündi. Kas mitte kvantelektrodünaamika looja Paul Dirac (1902-1984) ei kuulutanud juba 1931. aastal elu küsimuse üheks kõige põletavamaks lahendust ootavaks **teoreetilise füüsika** (siinkirjutaja rõhuasetus) probleemiks (vt Proc. R. Soc. London, Ser. A133 (1931) 60)? Biofüüsikale alusepanijate hulka annab lugeda nii Itaalia arsti ja bioelektri avastajat Luigi Galvanit (1737-1798) kui ka tema Saksa kolleegi Julius von Mayerit (1814-1878) ja Hermann von Helmholtzi (1821-1894), kes koos füüsik James Jouliga (1818-1889) Inglismaalt jagavad energia jäävuse seaduse avastamise au. Veidi hilisemast ajast võib nimetada juba tervet plejaadi biofüüsika hälli juures seisnud kuulsaid õpetlasi eesotsas kahekordse USA-st pärit nobelisti Linus Paulingiga (1901-1994).

Biofüüsika Eestis

Biofüüsikast Eestis ennesõjaaegsel perioodil pole midagi teada. Nõukogude ajal sai lähiümbruses biofüüsikat õppida vaid Moskvas ja Leningradis, mida üksikud Eestist pärit noored ka kasutasid. Sinna nad kahjuks enamasti oma karjääri jätkama jäidki. Pakutavad tingimused olid suurtes keskuses lihtsalt avaramad. Sellele vaatamata, tõenäoliselt ka nende keskuses töötajate kaudu loodud kontaktide najal, edenes biofüüsikaline mõte tasapidi Eestiski (vt E. Lippmaa ja A. Aaviksaare artikleid kogumikus [2]). Ajastule kohaselt kandsid selles liidrirolli Teaduste Akadeemia instituudid (Eksperimentaalbioloogia Instituut, Füüsika Instituut, Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituut, Zooloogia ja Botaanika Instituut). Tegemist oli siiski üksikute entusiastidega, kes enamasti olid iseõppijad. Mingit suunatud teaduspoliitikat selle taga polnud. Asjaolu, et entusiastide leidus üheaegselt mitmes instituudis, on seletatav teaduse sisemiste arengureeglitega, “aja nõude” tunnetamisega. Akadeemiliste instituutide reorganiseerimise tulemusel on vastav uurimistöö tänapäeval Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudi kõrval koondunud suurematesse ülikoolidesse (Tartu Ülikool, Tallinna Tehnikaülikool, Maaülikool).

Käesoleva kirjatüki eesmärk on mõne iseloomuliku näite varal tutvustada biofüüsikalise mõtte arengut Eestis eelmise sajandi lõpukümnendil ning selle sajandi alguses. Ülalkirjeldatud eriala piiride hägususe tõttu ei võtnud siinkirjutaja enda peale riski hakata määrama kes on biofüüsik ja kes mitte. Jätsin selle teadlaste endi otsustada võttes aluseks Eesti Teadusfondi poolt eriala 1.5 (biofüüsika) raames eraldatud uurimistoetused. Alates 1993. aastast on kolmeteistkümnemele taotlejale (J. Engelbrecht, A. Freiberg, A. Laisk, G. Liidja, K. Muring, V. Saks, J. Salm, I. Sevtšuk, P. Sikk, A. Suisalu, A. Sõber, R. Tammelo, K. Vanatalu) välja antud 23 granti. Neis osalejaid kokku lugedes võib aktiivselt uurimistööga tegelevate Eesti biofüüsikute arvuks hinnata 40-45 inimest. Seda on selgelt vähe arvestades möödunud sajandi lõpukümnenditel alanud bioloogia tormilist arengut, mis ei näita mingeid vaibumismärke, ning baaserialade (st füüsika ja bioloogia) rahvusvaheliselt arvestatavat taset Eestis. Aga nüüd lubatud näidete juurde.

Fotosünteesilise valgushaarde polaronmehhanism

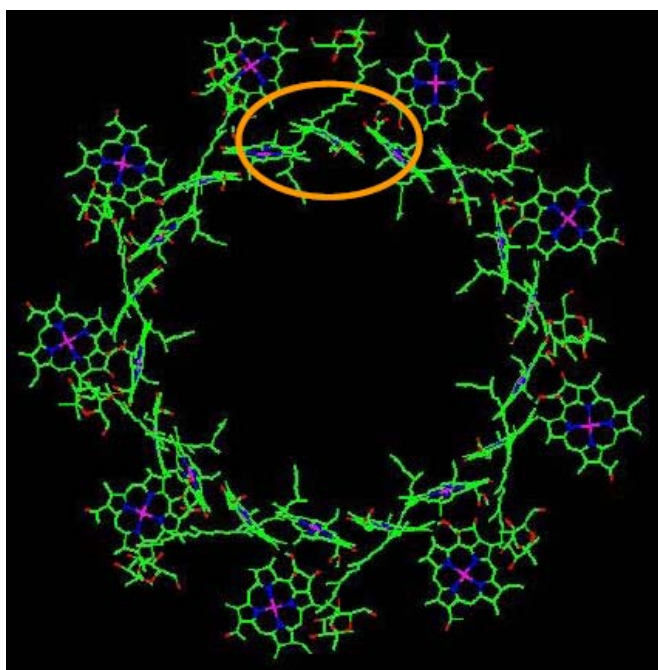
Biosfäär eksisteerib tänu Päikeselt saadavale energiale. Keerulist protsessidejada, mille abil seda energiat ammutatakse, nimetatakse teatavasti fotosünteesiks. Tinglikult võib seega väita, et bioloogia algab valguse neeldumisega fotosünteesilises membraanis. Täpsemini neelatakse footon klorofüllil või karotenoidi molekulide poolt, mis paiknevad spetsialiseeritud membraanisestest valgukompleksides, nn antennides,

nagu rosinad pirukas. Esmaste fotoprotsesside imetlusväärset kõrge kvantsaagis on samuti hästi teada. Laias spektrivahemikus neelatud valgusenergia liigub minimaalsete kadudega nn tsentriklorofüllidele, põhjustades nende oksüdatsiooni.

Just neid esmaseid fotoergastusi ja nende ülikiiret dünaamikat uuritakse Tartu Ülikooli Füüsika Instituudi biofüüsika laboris (juhataja prof. A. Freiberg). Milline on esmase fotoergastuse iseloom? Kui kiiresti ergastusenergia antennikompleksis maha jahtub ehk relaxseerub? Millise kiirusega levib ergastus fotosünteesilises membraanis ja milline on selle liikumise mehhanism? See on vaid väike valik küsimusi, millele on viimastel aastatel vastust otsitud.

Vastamiseks peab hästi mõistma (sh oskama mõõta) erinevaid protsesse mõjutavaid ja omavahel konkureerivaid vastastikmõjusid. Jämedates joontes on tegemist kahe olulise jõuga: üks mõjub klorofüllimolekulide endi vahel ning teine, klorofüll ja teda ümbritseva valgu vahel. Kummatigi oli teave nende vastastikmõjude kohta veel mõned aastad tagasi üsna puudulik ja vastuoluline. Tänapäevaks on see probleem teatud tüüpi fotosünteesiliste bakterite antennikompleksite näitel lahendatud. Eelkõige Tartus tehtud uuringud [3] selgitasid, et bakterklorofüllid elektronid purpurbakterite antennis interakteeruvad väga tugevasti sotsarklorofüllid elektronidega, kordki jõulisemalt kui elektronid niisuguses tüüpilises molekulaarkristallis nagu antratseen.

Antratseeni fotoergastused on teadagi eksitonid, st üle paljude naabermolekulide levivad (delokaliseerunud) elektronergastused. Kas peaksime antenniergastusi samuti



Joonis 1.

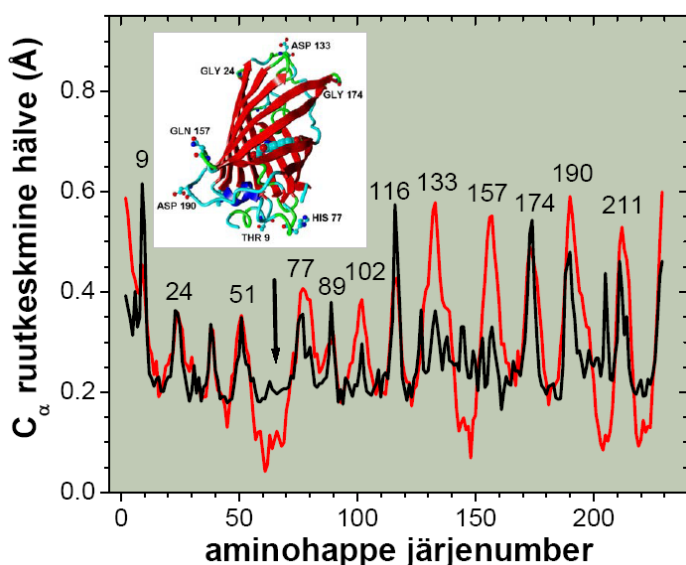
Fotosünteesiliste purpurbakterite perifeerse antennikompleksi struktuur. Bakterklorofüllid molekule kooshoidev valguümbris on ülevaatliskuse huvides eemaldatud. Ovaal kujutab autolokaliseerunud eksitoni ja vastava võreformatsiooni ligikaudset ulatust.

kõige enam kolme molekuli ulatusega potentsiaaliauku (Joon 1). Aega kulub selleks vaid 100-150 fs [5].

eksitonideks pidama? Paljud ongi selle seisukoha omaks võtnud. Tundub siiski, et ennatlikult. Tartu katsed, milles rakendati tundlike, kohapeal välja arendatud selektiivspektroskoopilisi meetodeid, osutasid, et bakterklorofüllid elektronid ei interakteeru tugevasti mitte ainult teiste elektronidega, vaid samuti neid siduvate tuumadega [4]. See nn elektron-foonon vastastikmõju põhjustab peale valguskvandi neeldumist valgustruktuuri lokaalse deformatsiooni, mida võiks jämedalt võrrelda maavärinaga. Teadusargoos väljendudes on tegemist mittelineaarse dünaamilise protsessiga, polaroni moodustumisega, mis päädib eksitoni pitsumisega (autolokalisatsiooniga) kahe,

On põhjust arvata, et äsjakirjeldatud nähtuse puhul pole tegemist pelgalt juhusliku looduse kapriisiga, vaid et seda on tehtud “asja” pärast. Autolokalisatsioon põhjustab eksitoni kiirgusspektri laienemist ning tema spektraalset punanihet, neeldumisspektri suhtes. Mõlemad muutused soodustavad energialevi. Laienenud kiirgusspekter kindlustab parema kattumise naaberkomplekside neeldumisspektritega, kiirendades eksitoni liikumist, samal ajal kui spektri punanihe annab energialevile kindla suuna-otse energaetiliselt allamäge asuva tsentri poole.

Tagantjärele tark olles võiks ju öelda, et kõik on loomulik ja teisiti see ei saanukski olla. Purpurbakterite antennid moodustavad membraani tasandis kauneid ringe (vt Joon. 1), milles elektronide liikumine on esimeses lähenduses ühedimensionaalne. Teooria järgi aga autolokaliseeruvad ühemõõtmelises süsteemis kõik elektronegrastused igasuguse elektronide ja tuumade interaktsiooni korral. Tegelikkus on muidugi hulga keerulisem. Klorofüllide siirdeenergiad on keskkonnatingimuste varieerumise tõttu hägustunud. See kõikehõlmav spektrite mittehomoogeensus, mille uurimisse on Tartu koolkond samuti märkimisväärselt panustanud, mitte üksnes ei võimalda teooriate otsesõnu rakendamist, vaid põhjustab ka uusi ja ootamatuid füüsikalisi nähtusi. Näiteks deformeerub antennistruktuur kõige hõlpsamini seal, kus asuvad kõige madalama siirdeenergiaga klorofüllid. Ühtlasi jõuti nende uuringute käigus jälile juba aastakümneid diskuteeritud fotosünteesiliste pigmentide spektrite peentimmimise molekulaarsetele mehhanismidele. Ruuminappus ei võimalda neil töödel siin pikemalt peatuda. Lõpetuseks tasuks siiski nimetada, et polaronilaadseid ergastusi on samuti leitud taimede antennides [6].



Joonis 2. GFP peahela C_{α} aatomite ruutkeskmised hälbed. Musta joonega tähistatud hälbed on arvutatud võnkeülesande lahendamisel leitud normaalmodidest, punase joonega on aga näidatud eksperimentaalsetest temperatuurifaktoritest saadud väärtused (proteiini andmepanga röntgenstruktuurianalüüsi fail 1GFL.pdb). Nool osutab GFP silindrikujulise struktuuri keskmisele rohelist fluorestseeruva kromofoori hõlbele. Suurima amplituudiga fluktuatsioonide aminohapete nimed on toodud abipildil.

Valkude struktuur ja dünaamika: *In vitro* versus *in silico* eksperiment

Rohelist fluorestseeruv valk (GFP, vt Joon. 2) ja tema erivärvilised muteeritud derivaadid - kollane, kuldne või sinine - on markeritena leidnud laialdast rakendamist raku- ja molekulaarbioloogias. Sobivald valitud fluorestseeruvate valgumolekulide vahel toimuv resonantne energiaülekanne võimaldab kauguste täppismääramist nanomeeterskaalal. Tartu Ülikooli füüsikainstituudi laserspektroskoopia laboris (dr. K. Mauring) aga leiti, et looduslikult valku kätkevad kromofoor, mis annabki

neile omaduse silmaga nähtavalt fluorestseeruda, osutub ühtlasi informatiivseks sondiks teda ümbritseva valgukeskkonna omadustest teavitamisel.

Uurides temperatuuri ja rõhu mõju valgu fluorestsentsi intensiivsusele ning ergastatud seisundi elueale tuvastati siniselt fluorestseeruva valgu BFP kaks erinevat konformatsiooni, mida eristab vesiniksideme olemasolu või puudumine kromofoori ja ümbritsevate aminohapete vahel [7]. Temperatuuri alandamisel või rõhu tõstmisel vesiniksidemega konformatsioonide osakaal kasvab, millega ühtlasi kaasneb fluorestsentsi intensiivsuse ning keskmise eluea kasv.

Küsimusele, miks vesiniksidemeta kromofoor on mittefluorestseeruv, annab vastuse otsene kvantkeemiline arvutus. Osutub, et kromofoor satub valguskvandi neelamise tagajärjel väga ebastabiilsesse ergastatud seisundisse, kus elektrontiheduse ümberjaotumisest tekkinud jõud püüavad kromofoori deformeerida. Sellega kaasneb ergastatud ja põhiseisundi energiapiindade lähenemine või isegi lõikumine, mis põhjustabki fluorestsentsi kustutamist. Vesiniksidemega jäigastatud kromofoori väändedeformatsioon on aga takistatud kõrge energiabarjääriga, mistõttu molekul kiirgab hästi. Seda fluorestsentsi sõltuvust temperatuurist ja rõhust saab muuhulgas rakendada vastavates mõõteandurites.

Fluorestseeruvate ja „pimedate“ molekulide tasakaalu kontrollib vaba energia. Entroopia ja entalpia vahekorra mõistmiseks selles arvutati valgumolekuli normaalvõnkumiste spekter, mis katab laia energiapiirkonna 6 kuni 3750 cm^{-1} [8]. Võnkumistes osalevate aatomite ruutkeskmised hälbed on näidatud Joon. 2. Analüüs näitab, et temperatuuridel alla 250 K määrab tasakaalu põhiliselt entalpia, kõrgemal temperatuuril aga entroopia.

Energeetilised ühikud lihasrakkudes

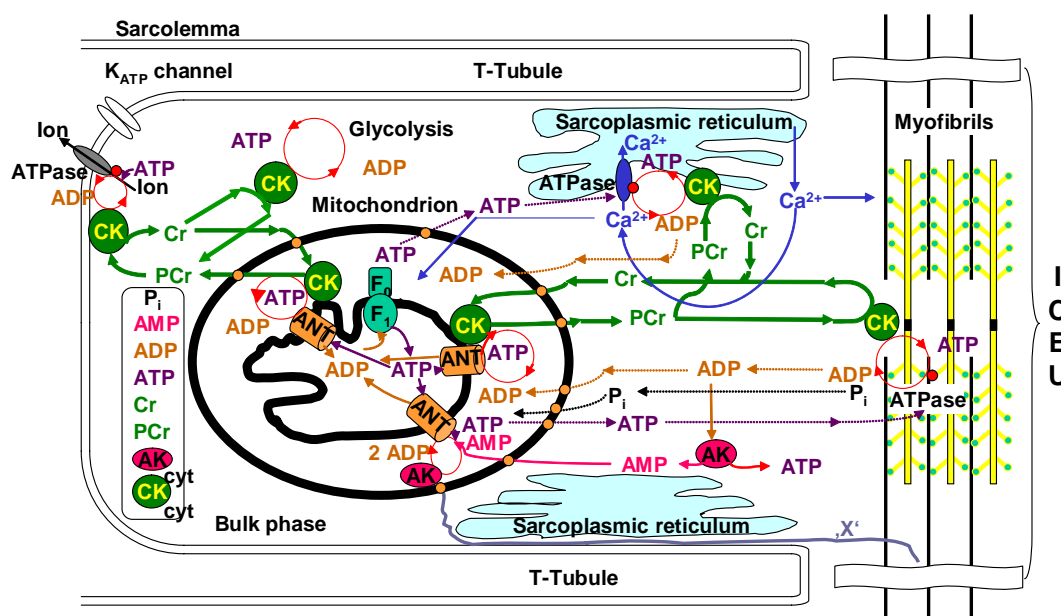
Kaasaegne arusaam raku metabolismist e ainevahetusest põhineb ensüümide mikrokompartmentsatsioonil e mikrotarastamisel ja metaboliitide kanaliseerimisel. Rakku ei vaadelda enam homogeensena, vaid arvestatakse, et ensüümreaktsioonid toimuvad neid vahetult ümbritsevates struktuurides. Rakus võib eristada makrotarastatud piirkondi – nende mõõdud on molekulaarsest dimensioonist palju suuremad – ja mikrotarandeid, mille mõõdud lähenevad metaboliitide molekulide mõõtudele. Mikrotarastamist mõistetakse mõnikord metaboliitide kanalisatsiooni sünonüümina, arvestades et metaboliitide molekulid võivad vahetult liikuda ensüümilt ensüümile, ilma et nad seguneksid raku üldises või isegi makrotarastatud ruumalas. Mikrotarastamine ja sellega seotud metaboliitide kanaliseerimine põhjustavad nn funktsionaalse paardumise, st mingi metaboolse raja lõpus asuvad reaktsioonid toimuvad palju varem ja kiiremini, kui võiks oletada rajas osalevate ensüümide ja metaboliitide hulgast lähtuvalt. Paljude kanaliseeritud metabolismiradade kooseksisteerimine ongi raku kõrgesti organiseeritud metaboolne süsteem – elu keemia. Nende protsesside olemuse ja regulatsiooni sügav kvantitatiivne mõistmine on raku biofüüsika eesmärk.

Üks niisugune on lihastes ja ajurakkudes toimiv energia ülekande süsteem, mille uurimises osalevad bioenergeetika laboratoorium Keemilise ja Bioloogilise Füüsika Instituudis akad. V. Saksa juhtimisel, patofüsioloogia õppetool Tartu Ülikoolis (prof. E. Seppet), mehaanika ja rakendusmatemaatika osakond Küberneetika Instituudis (akad. J. Engelbrecht) ja Tallinna Tehnikaülikooli biotehnoloogia õppetool (prof. R. Vilu). Konfokaal- ja elektronmikroskoopia osutavad, et nt lihasrakkudes on kõrgesti organiseeritud makromolekulaarsed struktuurid, mis seovad mitokondreid (kui

energeetiliste metaboliitide algallikaid) ja lihaste kontraktiivseid valke (kui energeetiliste metaboliitide lõpptarbijaid) selliselt, et kindlustada energia võimalikult kiire liikumise mitokondritest lihaskiududeni.

Südamelihase rakkudes paigutuvad mitokondrid väga regulaarselt, peaaegu kristallisarnaselt. Sellises keskkonnas ei saa ATP kui universaalne energiakandja liikuda vaba difusiooni teel. Tema fosfaatrühmad kantakse rakus edasi teatud struktuurselt paigutatud ensüümide jadade abil (vt Joon. 3). Lihasarakkudes on mitokondrite asukoht fikseeritud tsütoskeleti valkude poolt, nii et need moodustavad kompleksi müofibrillide ja sarkoplasmaatilise retiikulumiga. Sellest struktuurist tingituna on hingamisreaktsioonide kiirus mitokondris vahetult ära määratud ATP tarbimise kiirusega lihaskiududel [9-11].

Intracellular Energy Units (ICEU)



Joonis 3.

Raku energeetiline ühik (*Intracellular Energetic Unit*) – kreatiin- (CK) ja adenülaatkinaaside (AK) seotud struktuur, mis tagab efektiivse energia ülekande mitokondritelt lihaskiududele.

Kui tervikliku sisestruktuuriga, kuid eemaldatud rakumembraaniga lihaskiude püüti stimuleerida välise ADP lisamisega, siis efekt saavutati suhteliselt kõrge ADP kontsentratsiooniga (300 – 400 μM). Kui aga ADP tekitati rakusisesele, siis piisas palju madalamast metaboliidi kontsentratsioonist (40 μM). Need katsed näitasidki, et rakusisene ADP kontsentratsioon ei tasakaalustu lahuses olevaga isegi juhul kui rakumembraan on kunstlikult kõrvaldatud. See saab ainult tähendada, et rakus on ADP ümbritsetud rakusiseste difusioonitaranditega, milleks, nagu selgus, on sarkoplasmaatiline retiikulum, sarkomeerid ja müofibrillid.

Joonis 3 võtab kokku paljude erinevate uuringute tulemusel loodud rakusiseste energeetiliste ühikute kontseptsiooni [9]. Raku tsütoskelett paigaldab mitokondrid ja

sarkoplasmaatilise retiikulumi kindlasse asendisse lihaskiudude suhtes. Sarkoplasmaatilisest retiikulumist vabanenud kaltsium aktiveerib nii mitokondriaalsed dehüdrogenaasid kui ka lihaskiudude kokkutõmbe. Fosfaatühmade kanaliseeritud ülekande toimub mitokondrite, sarkoplasmaatilise retiikulumi ja lihaskiudude ATPaaside vahel kreatiinkinaasi ja müokinaasi vahendusel. Energeetilise metabolismi kiirus on reguleeritud lokaalsete ATP/ADP kontsentratsioonide suhtega müofibrillide mikrodomeenidel ja rakusisestel membraanstruktuuridel.

Fotosünteesi kiirust piiravad tegurid

Jätkame fotosünteesiprotsesside kirjeldust sealt, kus me esimeses näites pooleli jäime. Tsentriklorofüllidele oksüdatsiooni käigus eraldunud elektronid liiguvad vaheandjate abil edasi kohtadesse, kus neid viimaks kasutatakse süsihappegaasi taandamiseks suhkruks. Oksüdeerunud klorofüll aga haarab omakorda elektroni vee molekulidelt, põhjustades viimaste lagunemise ja hapniku eraldumise. Nii muundatakse footoni energia lõpuks kõrgeenergeetiliste molekulide keemiliste sidemetega seotud potentsiaalseks energiaks.

Akadeemik A. Laisa juhtitud Tartu Ülikooli taimefüsioloogia õppetooli fotosünteesi uurimisrühma eesmärk on juba aastaid olnud mõista fotosünteesi summaarset kiirust määravaid ja piiravaid faktoreid. Nende uuringute omapäraks on detailsed kineetilised uuringud elusatel lehtedel, täiendamaks maailmas laialt levinud *in vitro* katseid erinevatel preparaatidel.



Joonis 4.

Raaljuhitav aparaat elusa taimelehe fotosünteesi kineetika uurimiseks. Süsteem kontrollib üheaegselt lehe temperatuuri, pealelangeva valguse intensiivsust ja spektraalkoosseisu ning CO₂, O₂ ja veeauru kontsentratsiooni keskkonnas. Nendel etteantud parameetritel jälgitakse CO₂ neeldumise ning O₂ ja veeauru eraldumise kiirust, klorofüllü fluorestsentsi ning lehe optilist neeldumist.

pikalainelised infrapunase kiirguse kvandid, mille energiast ei peaks klorofüllü ioniseerimiseks piisama, on siiski võimelised seda tegema põhjustades hapniku

Juba 1960-ndate aastate lõpus õnnestus näidata, et fotosünteesi kiirus on seotud süsihappegaasi kontsentratsiooniga lehe rakkudes, mitte välisõhus ning, et fotosünteesis hapnik mitte ainult ei eraldu, vaid ka neeldub konkureerides nii süsihappegaasiga. Veidi hiljem hakati koos süsihappegaasi neeldumisega paralleelselt mõõtma ka lehe klorofüllü fluorestsentsi. See võimaldas eristada elektronide liigutamiseks kasutatavat kasulikku valgusenergiat tema kadudeks minevast osast, mis eraldub lehest kas nähtava fluorestsentsina või nähtamatu soojuskiirgusena. Nende eelnenud uuringute tulemused on kokku võetud monograafias [12].

Viimastel aastatel on koostöös füüsikainstituudiga lisandunud võimalused valgustada lehte laservalgusega, mis on suurendanud mõõtmiste tundlikkust. Ootamatult selgus, et

eraldumist lehest [13]. Siin on oma osa molekulide soojusliikumise energial, mis ergastusenergia puudujääki kompenseerib. Ühtlasi demonstreeriti, et hapniku eraldumise kiirus võib lühiaegselt kuni kümnekordselt ületada tavalist fotosünteesi kiirust vabastades fotosüsteem II igasugustest kahtlustest fotosünteesi kiirust piirava agendina. Nii ongi rühma tähelepanu hetkel koondunud hoopiski fotosüsteem I-le, eriti sellega seotud nn tsüklilisele elektrontranspordile. Seejuures on kahtluse alla seatud üldiselt levinud seisukoht, et tsüklilise elektrontranspordi käigus sünteesitakse ATP [14].

Kõigi nende saavutuste taga on pidev, innovatiivne aparaadiehitus, mille tulemusena on loodud unikaalne kompleks taimelehe fotosünteesi kineetika uurimiseks (Joon. 4) ja millele võrdväärset teistes laborites ei ole. Viimase uudisena on välja töötatud ülitundlik spektrofotomeeter, mis võimaldab uurida fotosüsteemi I doonorklorofüllil P700 oksüdatsiooni ja elektronide liikumise kiirust läbi fotosüsteemi. Aparaaate on jõudumööda ka turustanud, sh USA-s.

Kokkuvõte ja vaade tulevikku

Asjatundlik lugeja kahtlemata märkas, et toodud näidetega on kaetud peaaegu kõik klassikalise biofüüsika alad alates molekulaarsest tasandist ja lõpetades organite ning organismidega. Võib jääda mulje, et Eestis on biofüüsikaga kõik korras. See mulje on kahjuks petlik. Selleks on otsingute front liiga auklik, tegijaid liiga vähe ning viimasedki kahjuks enamikus juba oma parimast loomeast väljas. Kriitilist massi ületava tegijate arvuga võivad kiidelda vaid üksikud laborid. Tagatipuks ei mahu biofüüsika kraadiõppe tasandil endiselt ühegi ülikooli õppekavva. Selle olukorra taustaks on ülikoolide teaduskondadepõhine ülesehitus ja seda toetav rahastamissüsteem, mis ei soosi siduserialasid. Lisaks kurb tõsiasi, et biofüüsikat ei pea päris omaks ei füüsikud ega bioloogid.

Vähesed kahtlevad, et multidistsiplinaarsus on 21. sajandi teaduse võtmesõna [15]. Ülaltoodud raku energetilise ühiku mudel on ere näide sellest, kui kunstlik ja väheviljakas on igasugune teaduse tarastamine. Raku tervikliku kvantitatiivse kirjeldamise eesmärgi nimel on tulemuslikult oma jõud ühendanud nii erinevate valdkondade nagu biofüüsika, molekulaarbioloogia, rakufüsioloogia ja matemaatika mitmete harude esindajad. Tekkinud sünergiast on välja kasvamas uus, tormiliselt arenev, teadusharu nimega molekulaarne süsteemibioloogia (*molecular systems biology*) [16, 17].

On aeg nendele väljakutsele samuti siinmail tegusalt vastata. Eelkõige tuleb kaotada kunstlikud takistused siduserialade teelt. Küünik võiks ju füüsikute tõmmet bioloogia poole üksnes labase pragmatismiga seletada – bioloogia on moes (loe: sinna voolab raha) - järelikult on kasulik sellega tegeleda. See on tarbetu lihtsus. Tegelikult on huvi (ja kasu) vastastikune. Kaasaegne bioloogia ja meditsiin oleksid mõeldamatud ilma moodsate arvutite, aparatuuri ja tehnoloogiateta, mis enamasti kõik pärinevad füüsikalaboritest. Bioloogia on ühtlasi muutumas kirjeldavast teadusest täppisteaduseks. Paradoksaalsel kombel võib see asjaolu bioloogiat füüsikale, kus vastavad meetodid on põhjalikult välja arendatud, hoopis lähendada. Sobiv näide on siin keemia. Veel 19. sajandi alguses seisid keemia ja füüsika täiesti omaette. Mida kvantitatiivsemaks aga keemia muutus, seda enam kokkupuutepunkte ilmnes tal füüsikaga. Tänapäeval peavad paljud keemiat ja füüsikat üksnes ühe ja sama teadusharu erinevateks aspektideks. Raske öelda, kas samamoodi juhtub kunagi bioloogia ja füüsikaga. Praegu aga pakub bioloogia füüsikale eelkõige

ammendamatuult huvitavaid probleeme, millest kõige inspireerivam on muidugi elu olemuse mõistmine.

Biofüüsika pole pelgalt üks järjekordne raskesti omandatav teadusvaldkond, vaid eriala, mis pakub noortele samuti huvitavaid ja mitmekesiseid karjäärivõimalusi. Meie järjest komplitseeritumas maailmas leiavad laia ettevalmistusega biofüüsikud tööd nii uurimislaborites kui meditsiinikeskustes, farmaatsia-, ja biotehnoloogiafirmades, ülikoolidest ja valitsusasutustest rääkimata. Kõikjal, kus ülimalt spetsialiseeritud erialade esindajad hätta jäävad. Arvestades Eesti biofüüsika seniseid suundumusi ning silmas pidades tema potentsiaalsete doonorerialade (bioloogia, füüsika, teoreetiline keemia, küberneetika, arstiteaduse mõned erialad) märkimisväärset kodumaise taset, võiks meil enim arenguruumi olla sellistes uurimissuundades nagu fotosünteesi biofüüsika, biofotoonika, teoreetiline (raali)bioloogia, juhtimis- ja reguleerimisprotsesside biofüüsika, eelpoolrõhutatud süsteemibioloogia ning meditsiinifüüsika. Aga see on tänane vaatepunkt, kust tuleviku põnevad rajad on halvasti nähtavad.

Tänuavaldus. Autor tänab A. Laiska, K. Muringut, V. Saksa ja M. Sulakatkat vastavaid teemasid käsitlevate tekstikatkete ja illustreeriva materjali eest.

Viiteid

1. Schrödinger, E. *What is Life?* Cambridge University Press, 1944.
2. J. Kivi. *Teadus ja tänapäev.* Eesti Raamat, 1979.
3. Timpmann, K., Trinkunas, G., Qian, P., Hunter, C.N., Freiberg, A. Excitons in core LH1 antenna complexes of photosynthetic bacteria: Evidence for strong resonant coupling and off-diagonal disorder. *Chem. Phys. Lett.*, 2005, 414, 359-363.
4. Freiberg, A., Rätsep, M., Timpmann, K., Trinkunas, G., Woodbury, W.N. Self-trapped excitons in LH2 antenna complexes between 5 K and ambient temperature. *J. Phys. Chem. B*, 2003, 10, 11510-11519.
5. Timpmann, K., Katiliene, Z., Woodbury, N.W., Freiberg, A. Exciton self-trapping in one-dimensional photosynthetic antennas. *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105, 12223-12225.
6. Ihalainen, J.A., Rätsep, M., Jensen, P.E., Scheller, H.V., Groce, R., Bassi, R., Korppi-Tommola, J.E.I., Freiberg, A. Red spectral forms of chlorophylls in green plant PSI-A site-selective and high-pressure spectroscopy study. *J. Phys. Chem. B*, 2003, 107, 9086-9093.
7. Muring, K., Deich, J., Rosell, F.I., McAnaney, T.B., Moerner, W.E., Boxer, S.G. Enhancement of the fluorescence of the blue fluorescent proteins by high pressure or low temperature, *J. Phys. Chem. B*, 2005, 109, 12976-12981.
8. Krasnenko, V., Tkaczyk, A.H., Tkaczyk, E.R., Farkas, Ö., Muring, K. Vibrations-determined properties of green fluorescent protein, *Biopolymers*, 2005, 78, 140-146.
9. Saks, V., Kuznetsov, A., Andrienko, T., Usson, Y., Appaix, F., Guerrero, K., Kaambre, T., Sikk, P., Lemba, M., Vendelin, M. Heterogeneity of ADP diffusion and regulation of respiration in cardiac cells. *Biophys. J.*, 2003, 84, 3436-3456.

10. Saks, V.A., Kuznetsov, A.V., Vendelin, M., Guerrero, K., Kay, L., Seppet, E.K. Functional coupling as a basic mechanism of feedback regulation of cardiac energy metabolism. *Mol. Cell. Biochem.*, 2004, 256/257, 185-199.
11. Vendelin, M., Beraud, N., Guerrero, K., Andrienko, T., Kuznetsov, A.V., Olivares, J., Saks, V.A. Mitochondrial regular arrangement in muscle cells: a "crystal-like" pattern. *Am J Physiol Cell Physiol.*, 2005, 288: C757-C767.
12. Laisk, A., Oja, V. Dynamic gas exchange of leaf photosynthesis. Measurement and interpretation, CSIRO, Canberra, 1998.
13. Pettai, H., Oja, V., Freiberg, A., Laisk, A. Photosynthetic activity of far-red light in green plants, *Biochim Biophys. Acta*, 2005, 1708, 311-321.
14. Laisk, A., Eichelmann, H., Oja, V., Peterson, R.B. Control of cytochrome b₆f at low and high light intensity and cyclic electron transport in leaves, *Biochim. Biophys. Acta*, 2005, 1708, 79-90.
15. Greene, M. T. What cannot be said in science? *Nature*, 1997, 388, 619-620.
16. Noble D. Modeling the heart - from genes to cells to the whole organ. *Science*, 2002, 295, 1678- 1682.
17. Kitano H. System biology: a brief overview. *Science*, 2002, 295, 1662- 1664.