

Az ELI (lehetséges) biológiai alkalmazásai

Garab Győző
gyozo@brc.hu

MTA Szegedi Biológiai Központ

2012. február 4



Köszönetnyilvánítás

Faigel Gyula
Hajdú János
Osvay Károly
Groma Géza
Heiner Zsuzsa

A large, stylized logo consisting of the lowercase letters 'e' and 'i' in white with a thick orange outline. The 'e' is on the left and the 'i' is on the right. The background is a dark red gradient.

Mottó:

„A tudomány [és] a technológia [...] nem old meg minden problémát. De tudomány és technológia nélkül semmiféle problémát nem lehet megoldani.”

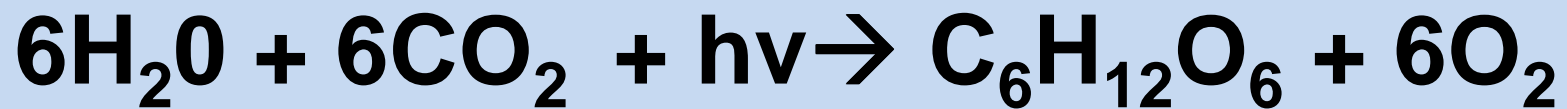
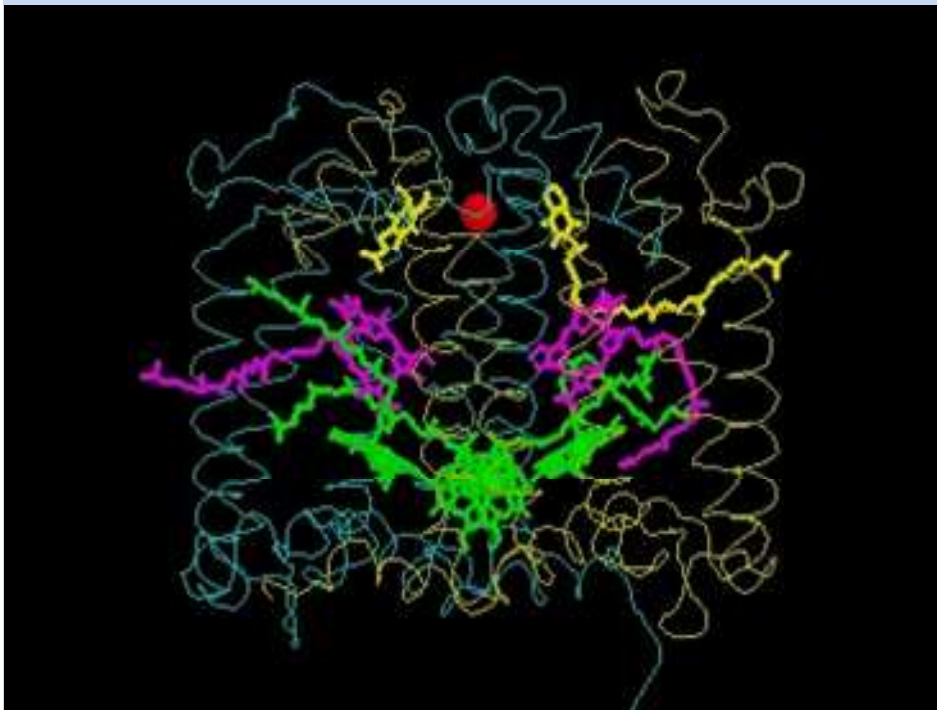
(Teller Ede)

Az előadás váza

- Példák fotoszintézisből: a biológiai ismeretek erős technika-függése; a fizika ,nyitása' az élő anyag kutatása irányában
- A technika állása, nyitott kérdések
- XFEL és ELI ALPS – alkalmazási lehetőségek

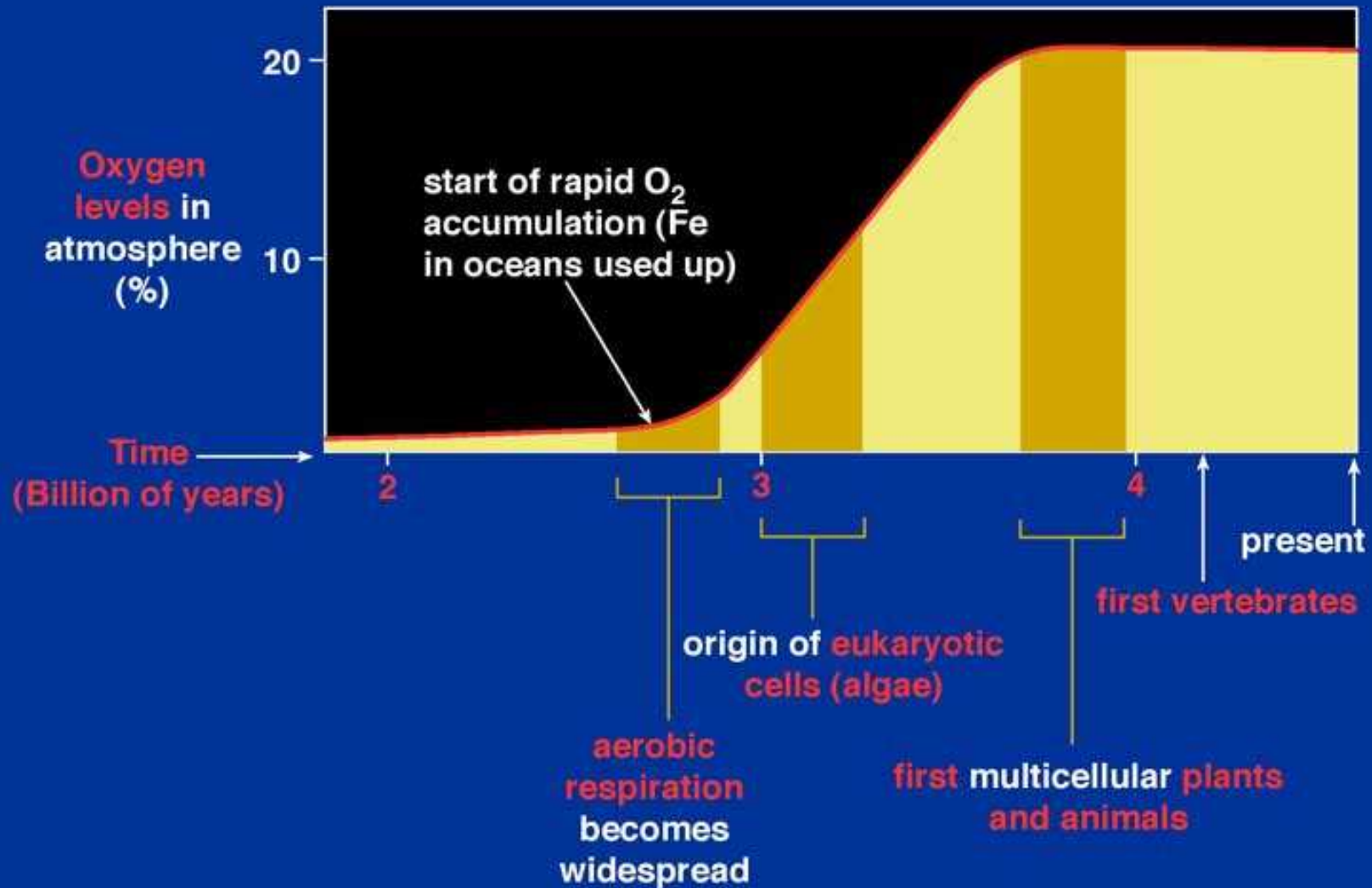
Miért fotoszintézis?

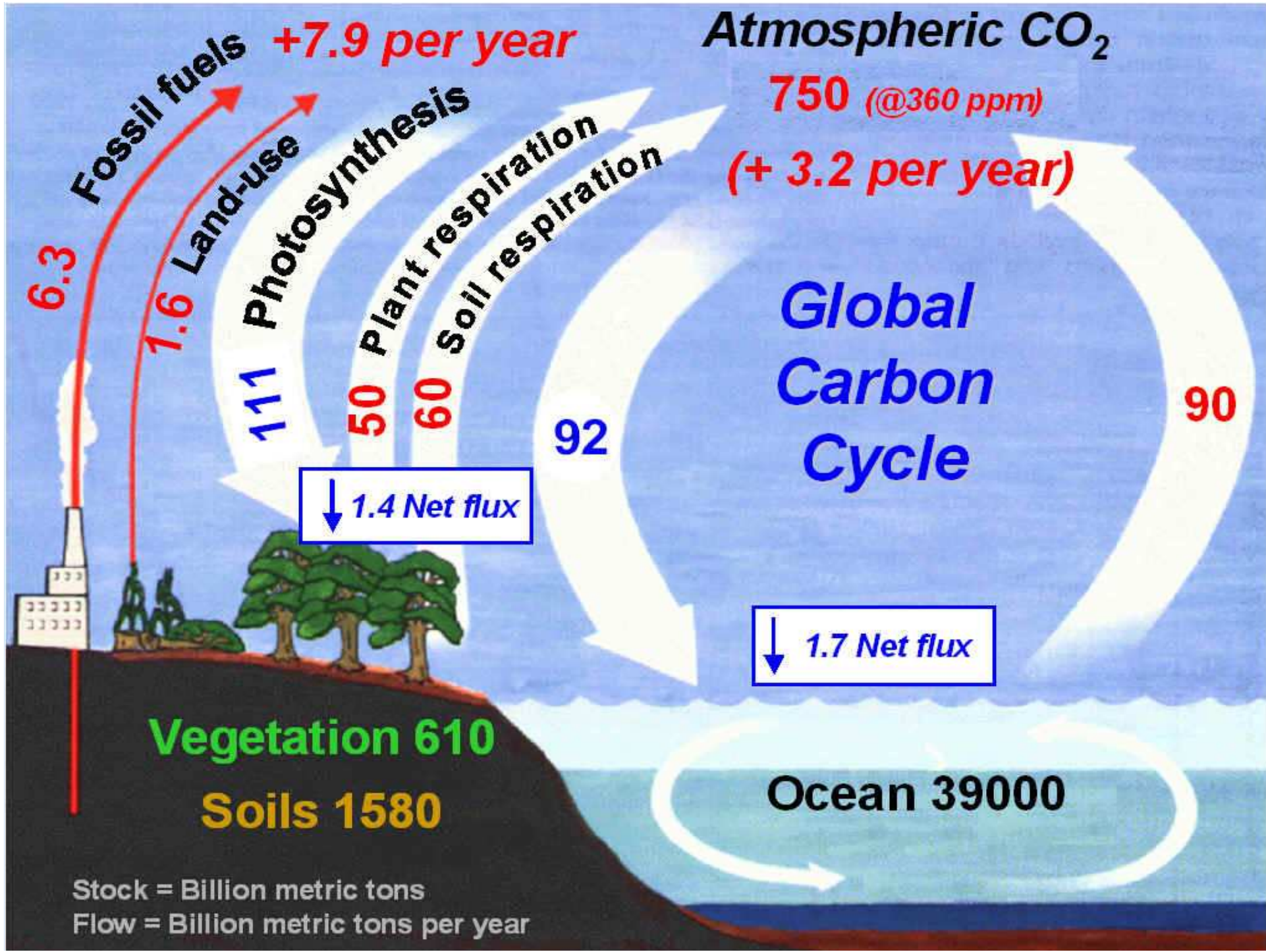
Molekuláris mechanizmusok– Globális hatások



Fotoszintézis: az élet energetikai alapja, O₂ dús légkör

EVOLUTION AND OXYGEN LEVELS





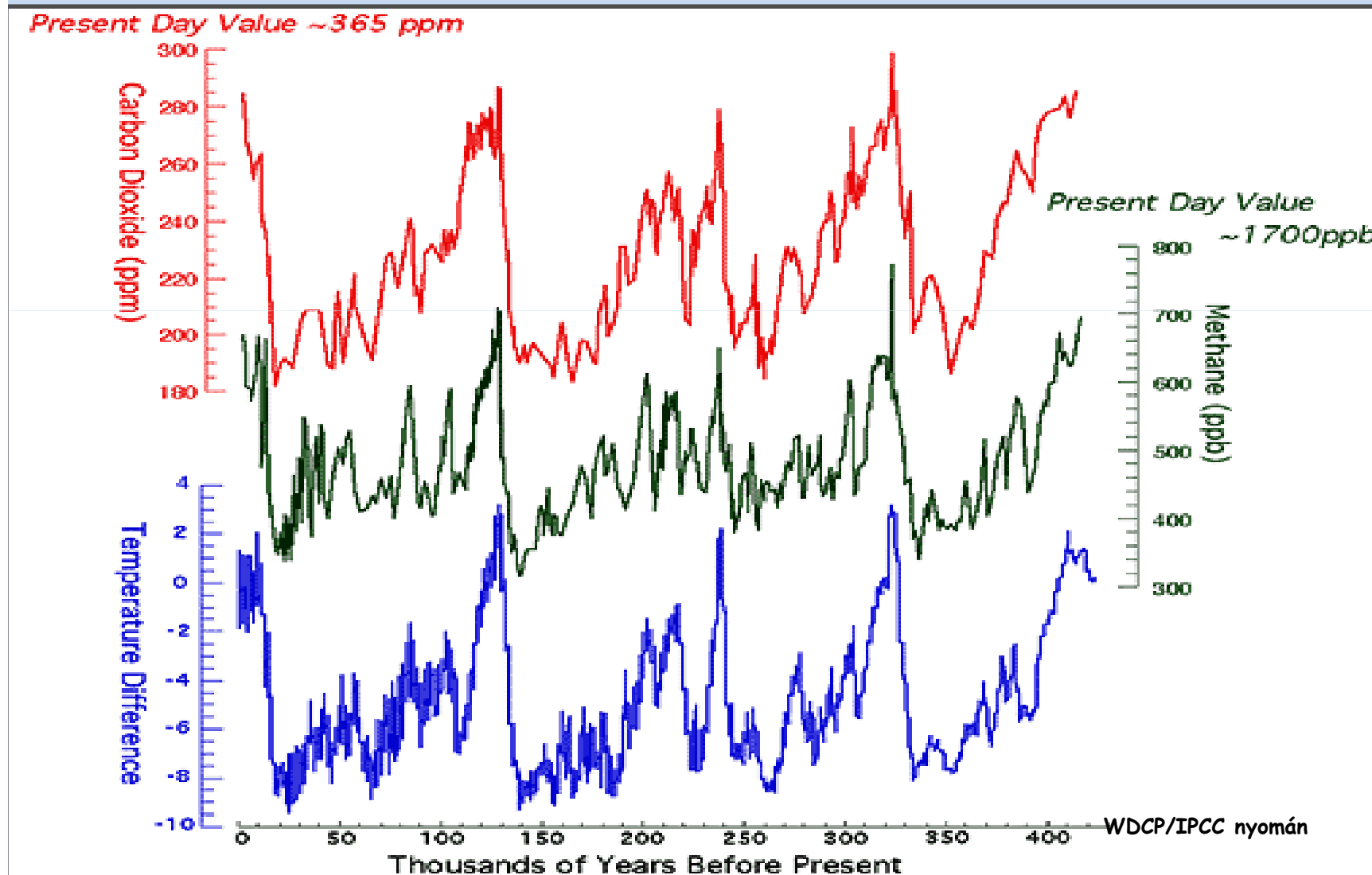


1970-es kép: egy átlag amerikai család az egy év alatt felhasznált olajmennyiséggel. Mostanra a fogyasztás 40%-kal magasabb.

A 'Vostok Ice Core'

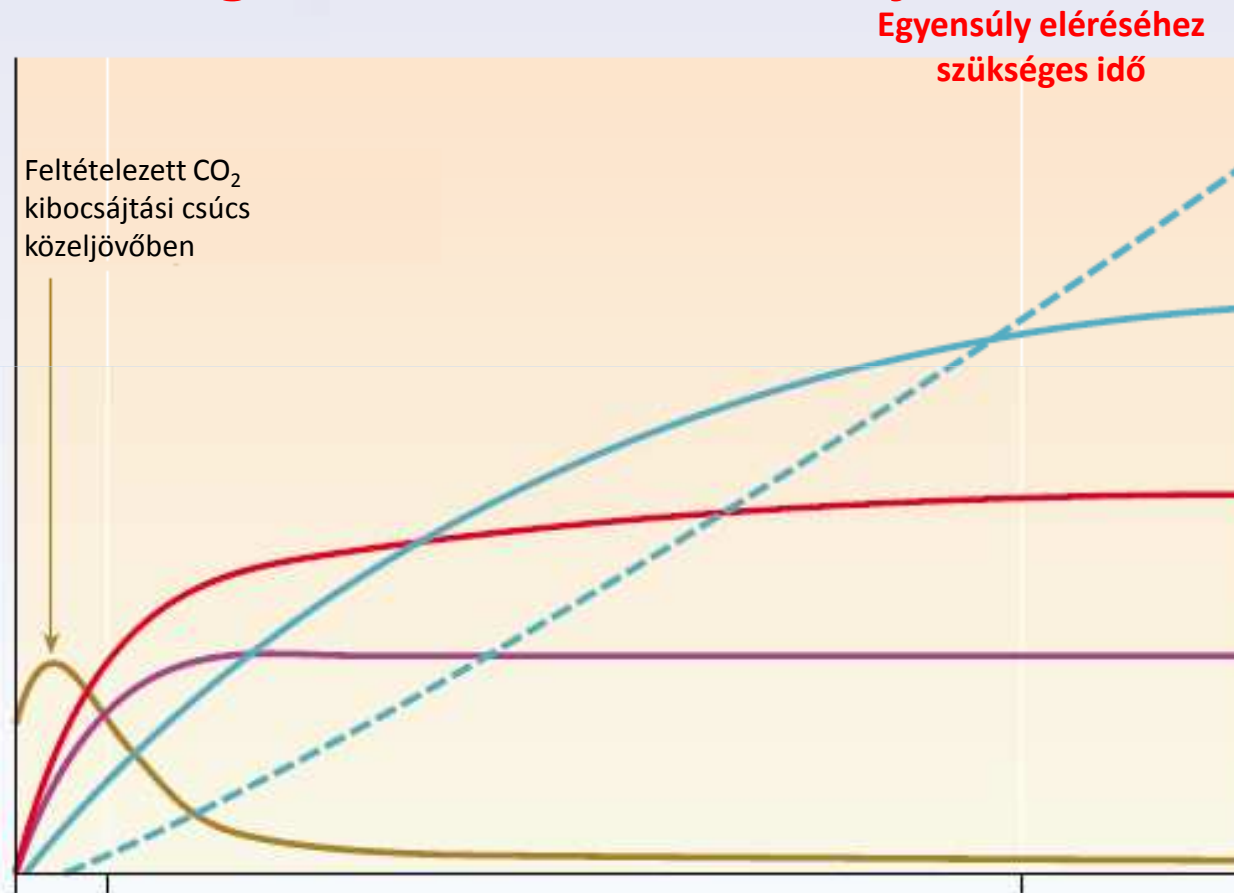
az elmúlt 420 000 év rekordja

2008



Nagyon hosszú időállandók

A CO₂ koncentráció, a hőmérséklet és a tengerszint még sokáig emelkedik a kibocsájtás csökkentése után is!



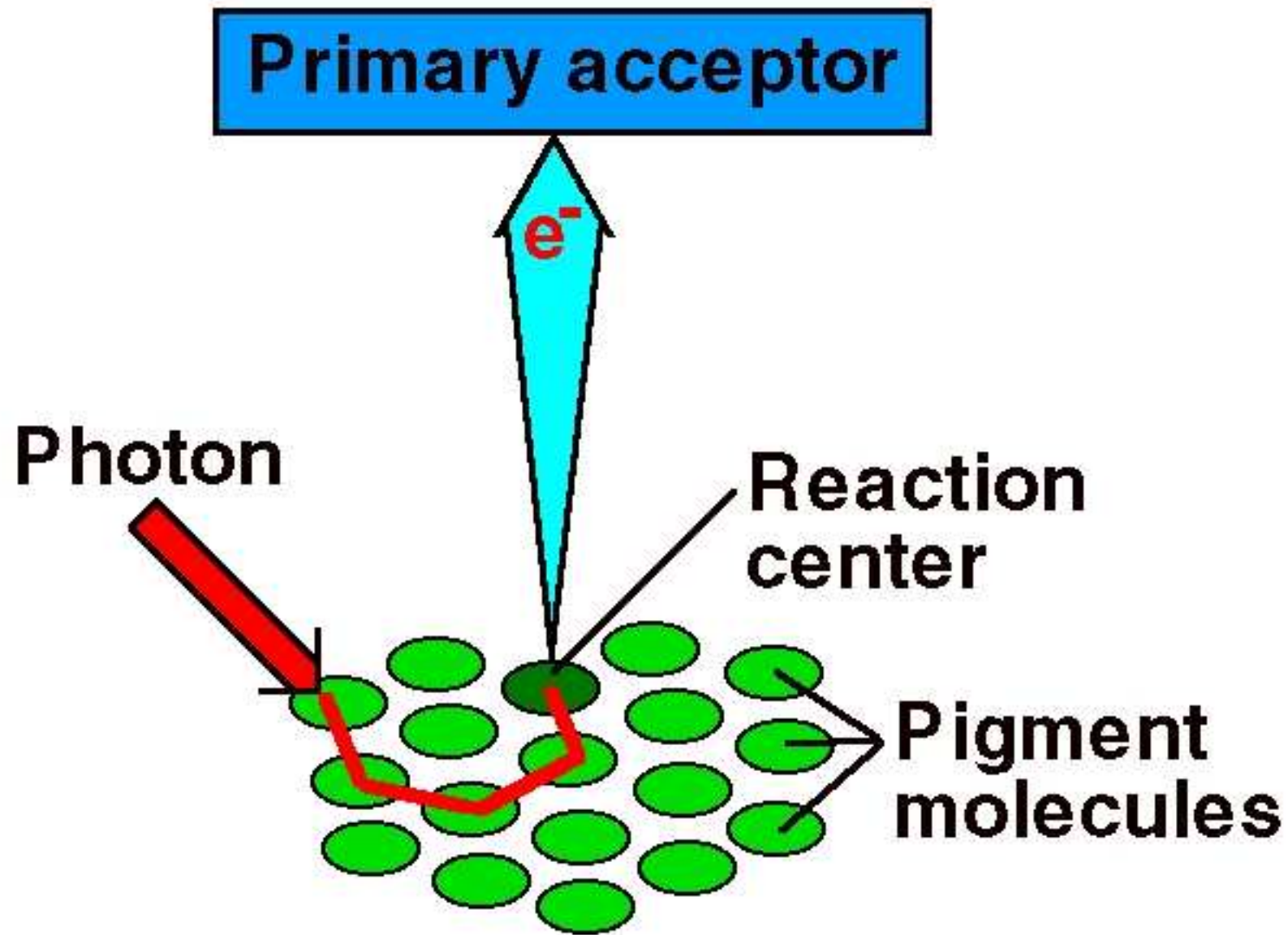
Tengerszint-növekedés a jég olvadása miatt: pár ezer év

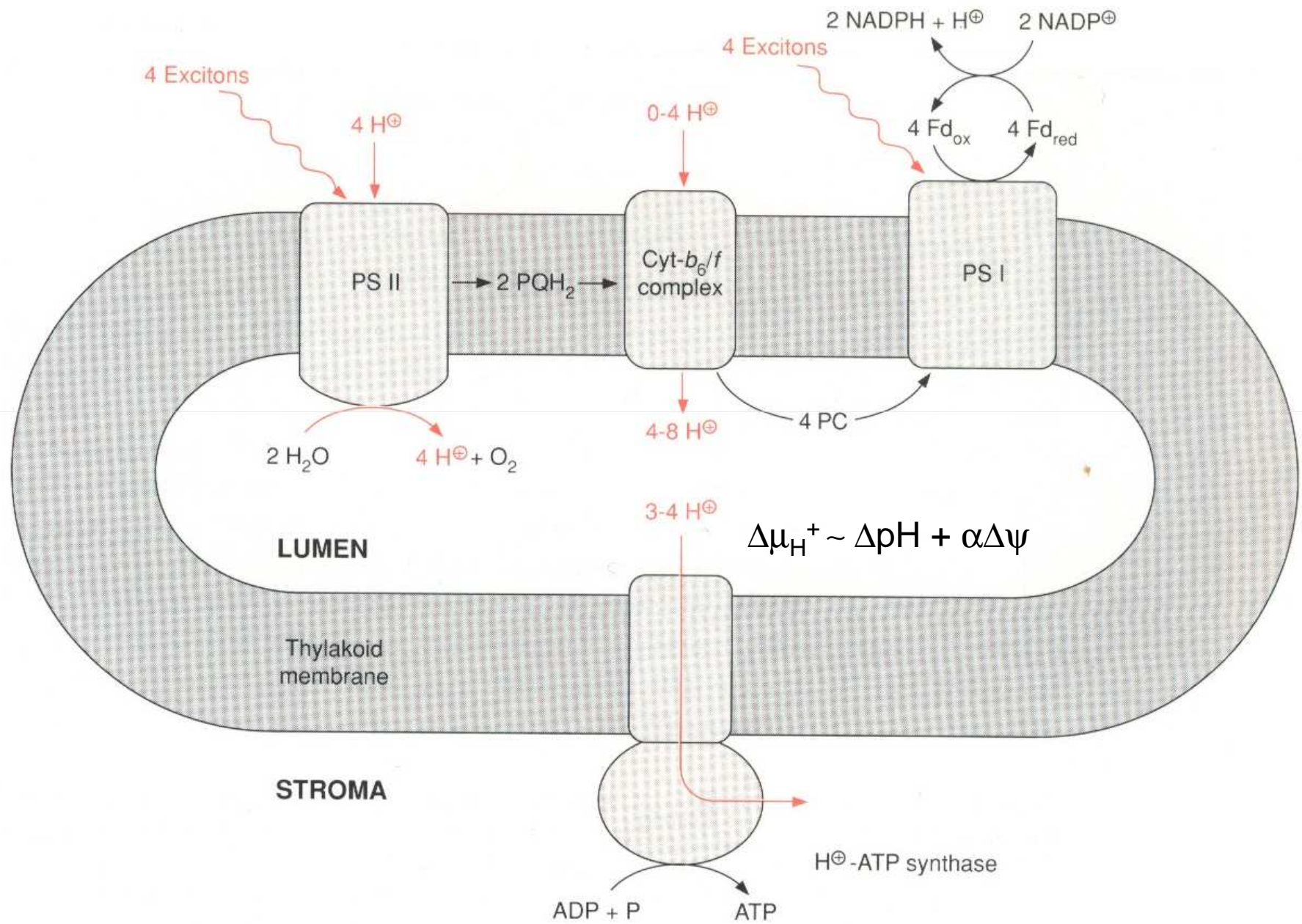
Felmelegedés/hőtágulás miatt tengerszint-növekedés: száztól ezer év

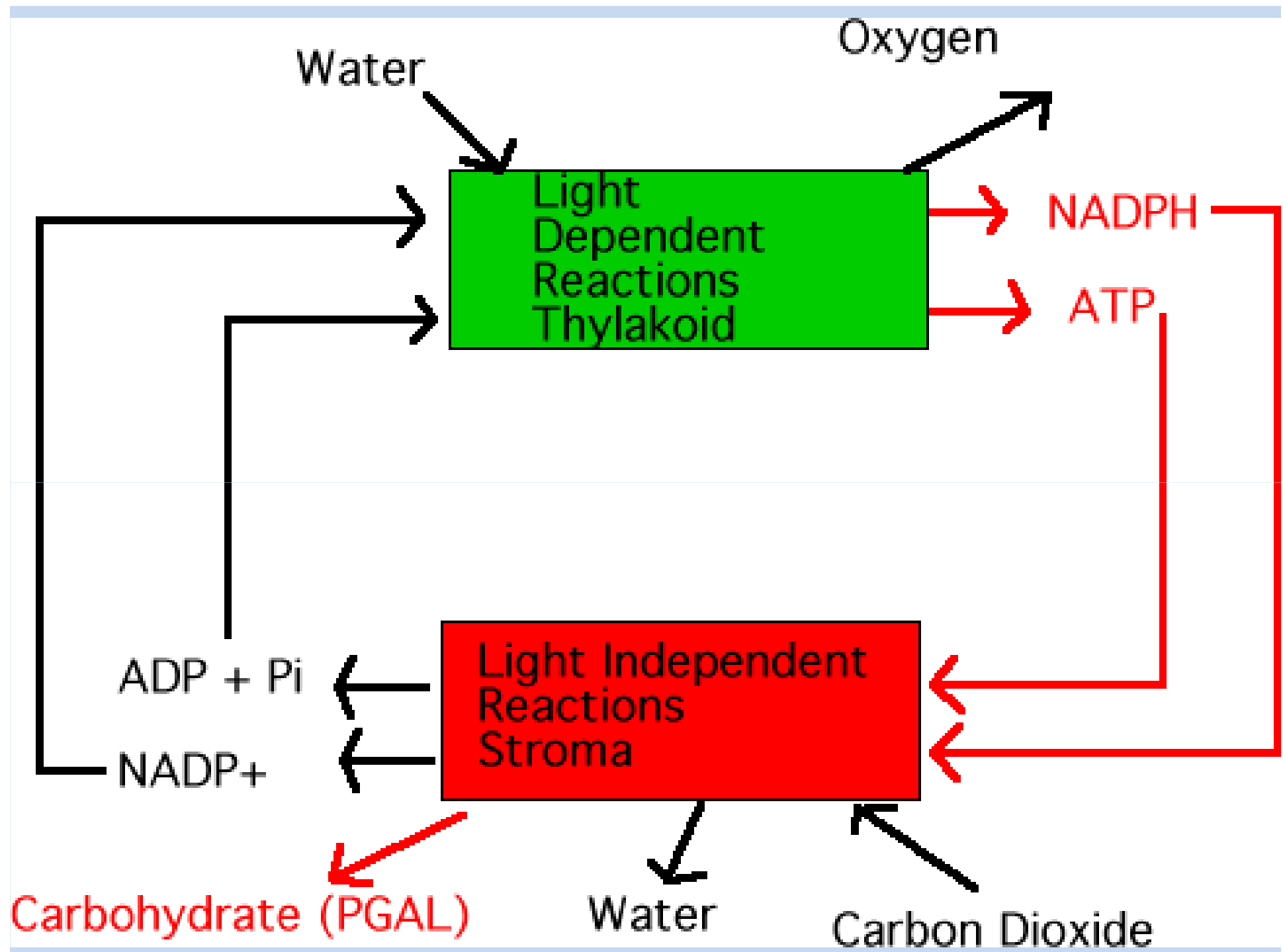
Hőmérséklet-stabilizálódás: pár száz év

CO₂ mennyiség stabilizálódása: 100-300 év

[Intergovernmental Panel on Climate Change](#)



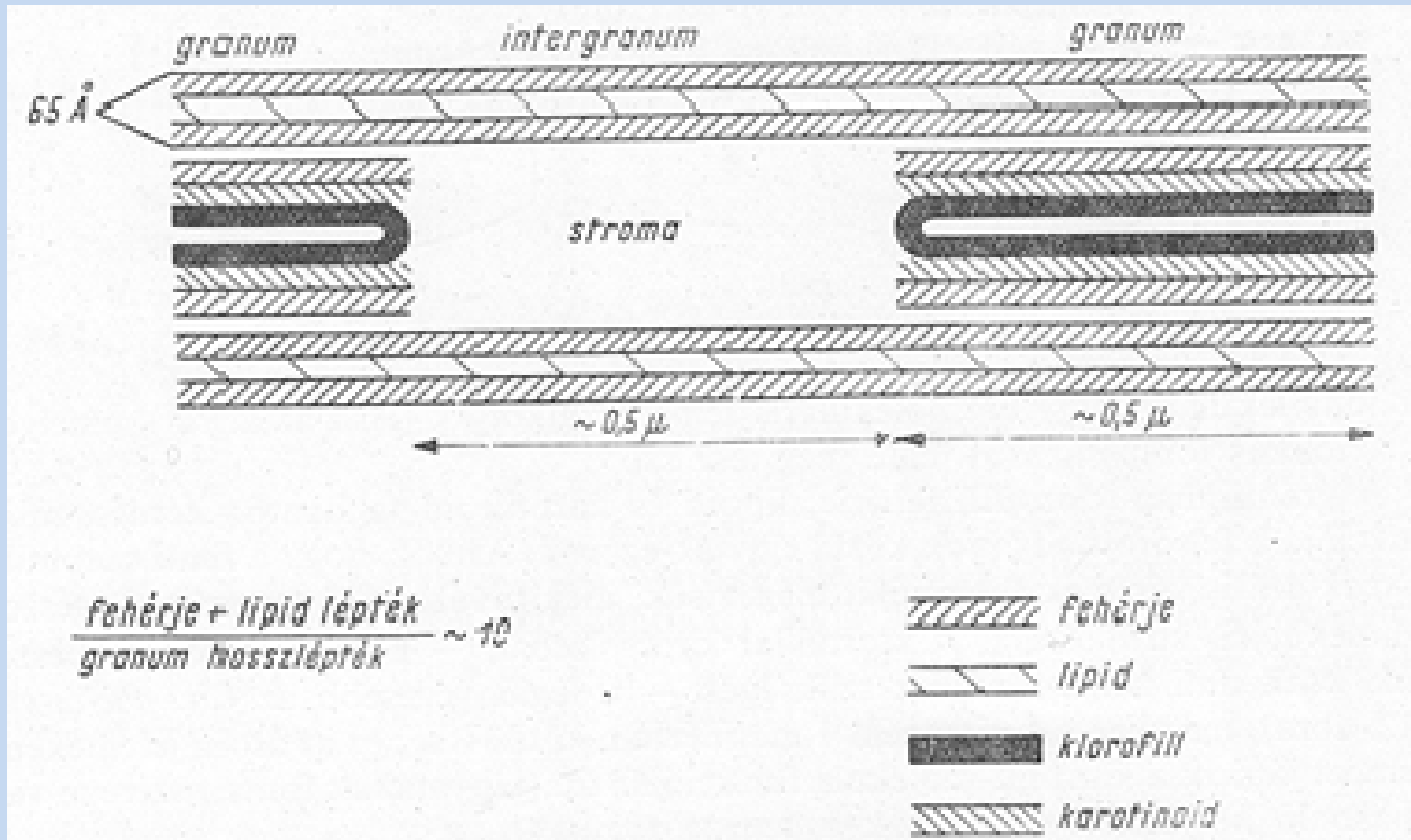




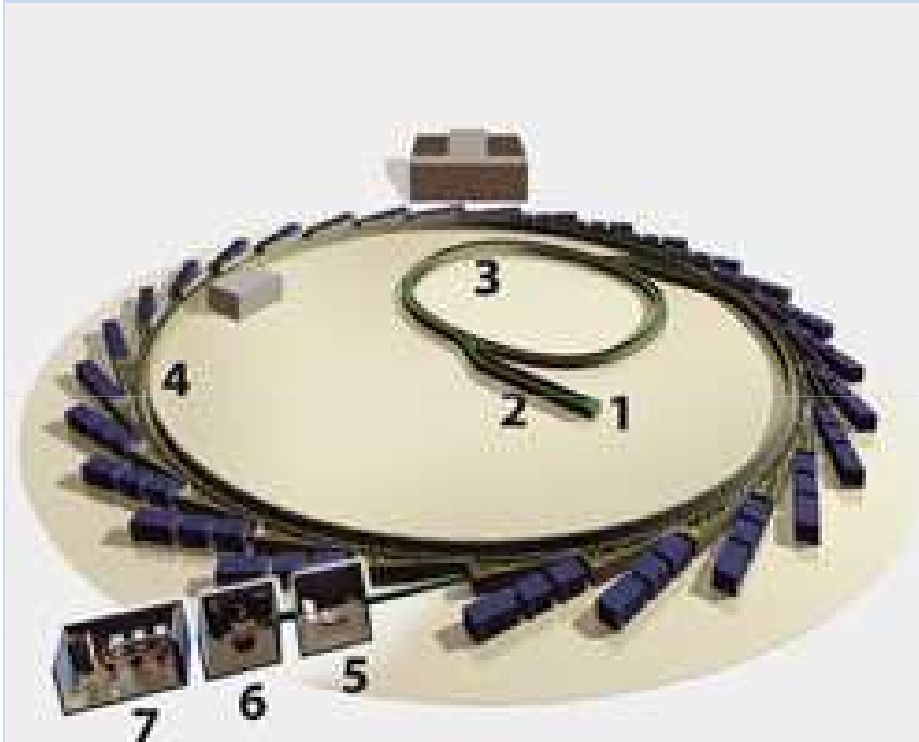
Block diagram of photosynthesis

<u>Photophysics</u> Light absorption energy migration	<u>Photochemistry</u> charge separation redox chain NADPH, ATP, O ₂	<u>Biochemistry</u> CO ₂ 'fixation', Signal transduction Short-term regulation	<u>Physiology</u> synthesis, self-assembly repair transport Regulation	<u>Ontogeny</u> <u>Ecology</u> <u>Evolution</u>
~ 10 ⁻¹⁵ – 10 ⁻⁹ s	~ 10 ⁻¹² – 10 ⁻² s	~ 10 ⁻³ – 10 ³ s	~ 10 ² – 10 ⁶ s	~ 10 ⁵ – 10 ¹⁷ s
complexes	membrane	chloroplast	cell, plant, ecosystem, biosphere	

Fotoszintézis - 1968

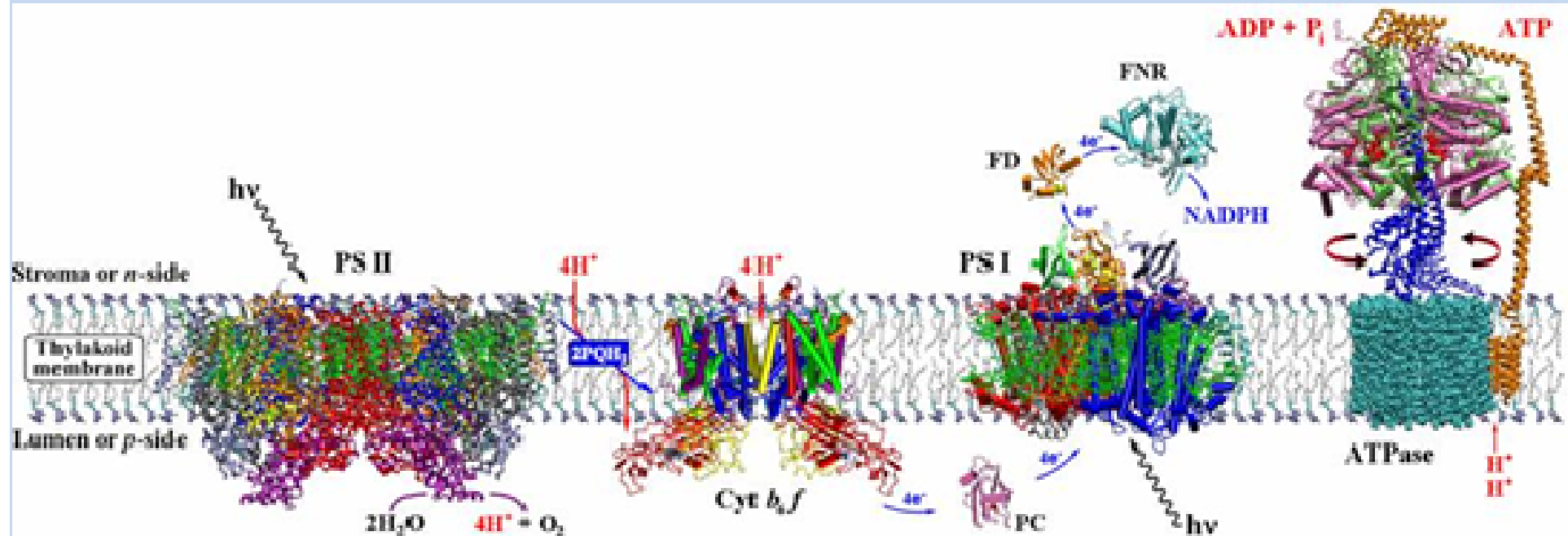


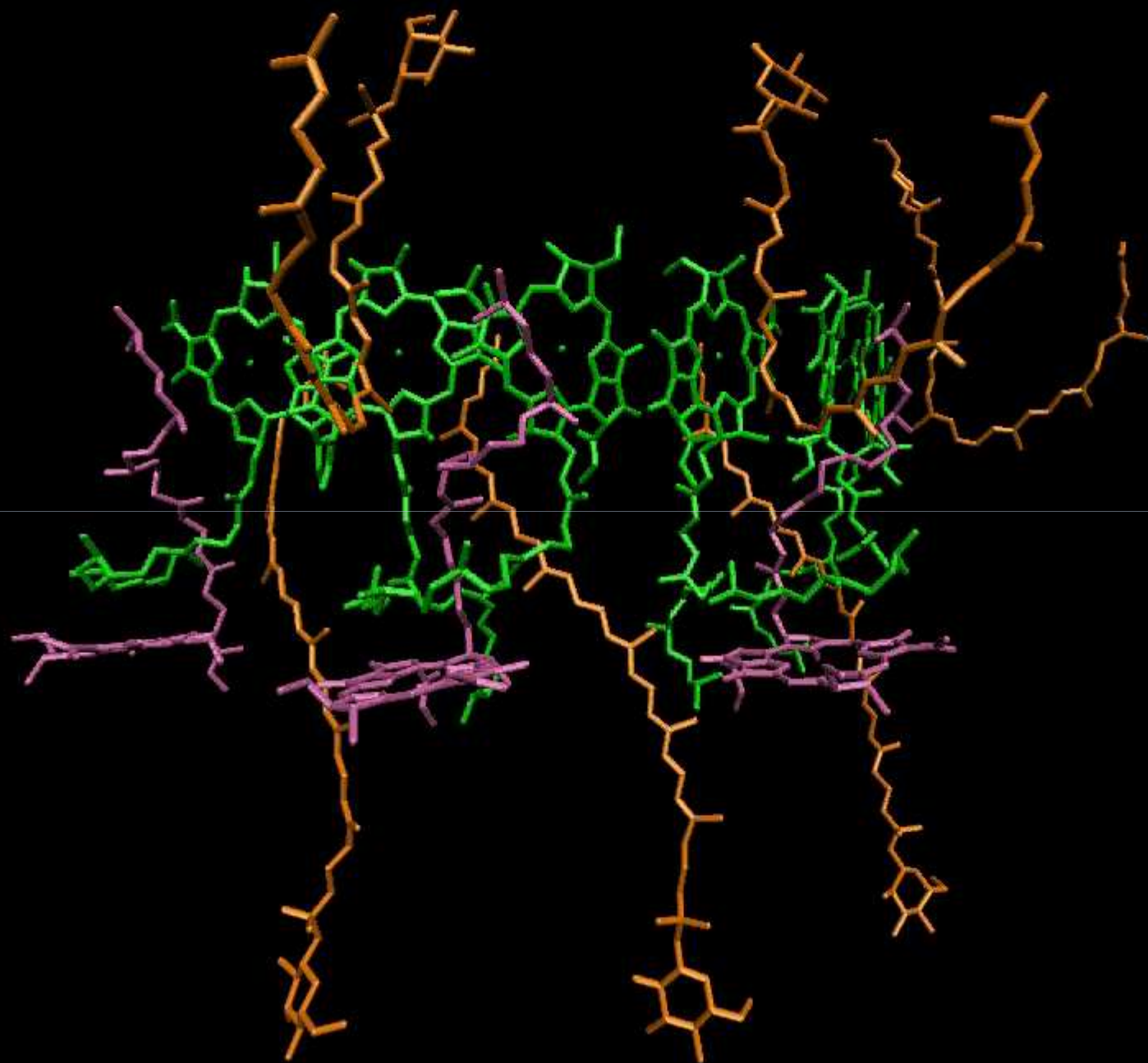
Szinkrotron-sugárzás – szerkezeti biológia (+ spektroszkópia + molekuláris biológia + bioinformatika + biokémia + élettan, ...)



ReCe: Michel, Deisenhofer, Huber

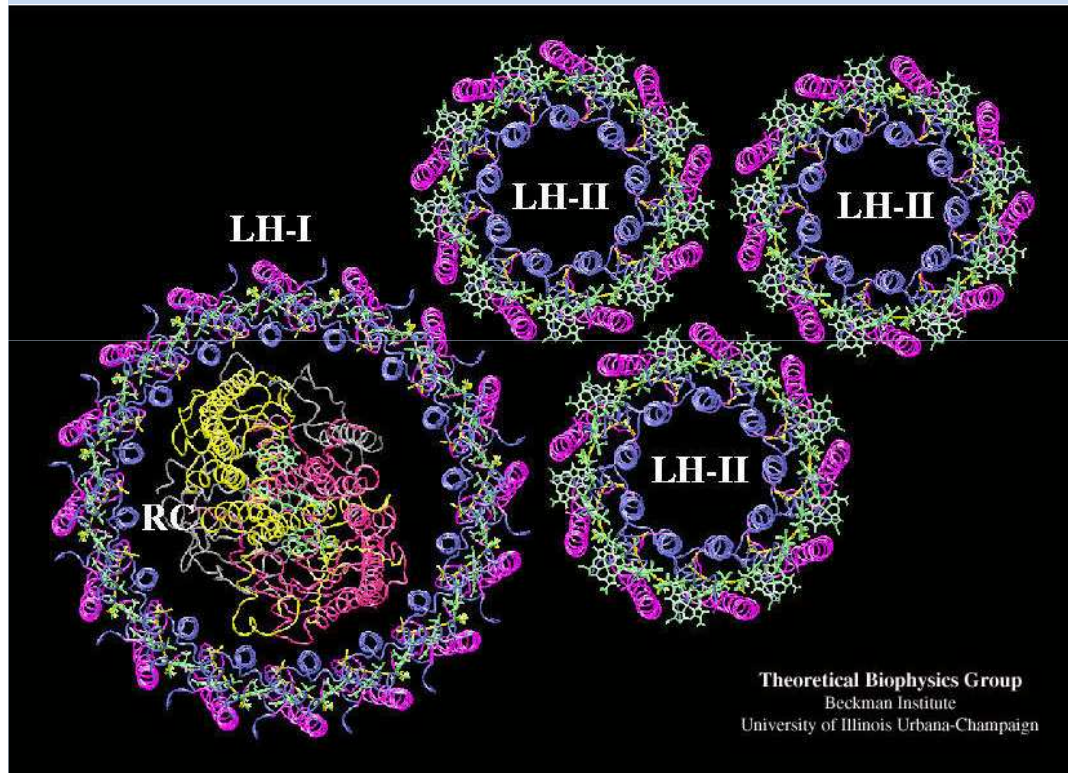
Fotoszintézis ~2000



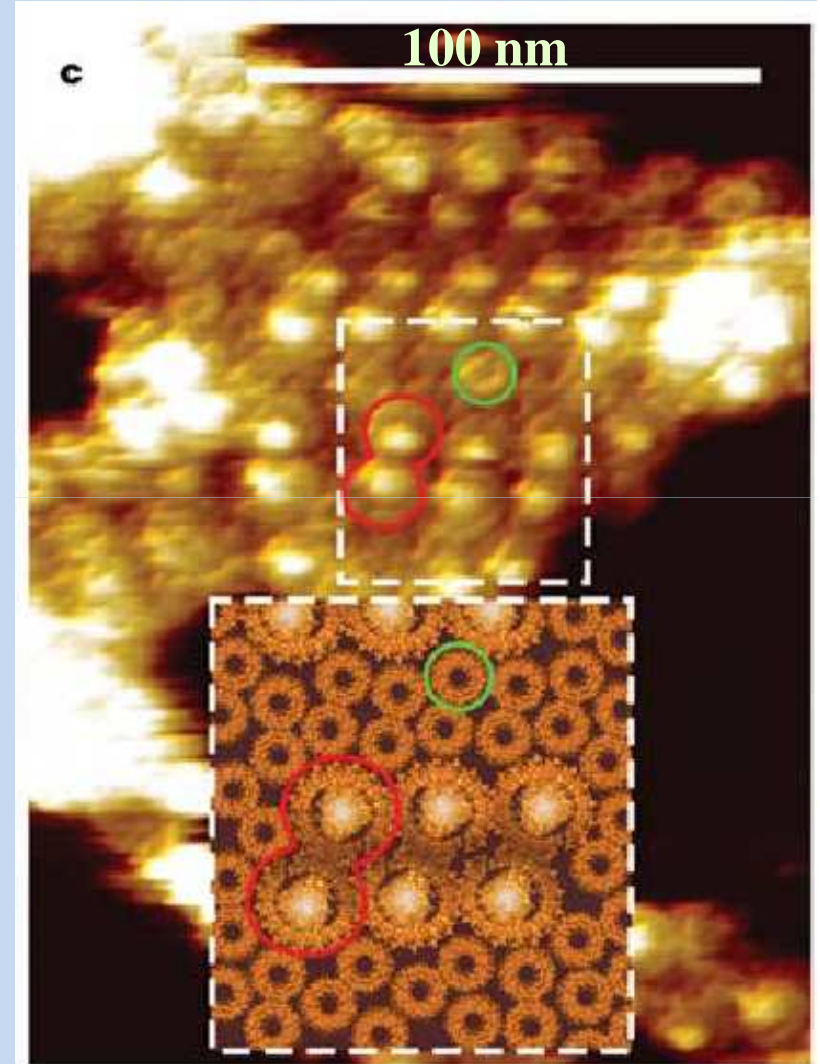


R. Cogdell

Light harvesting complexes and reaction center in purple bacterial membranes

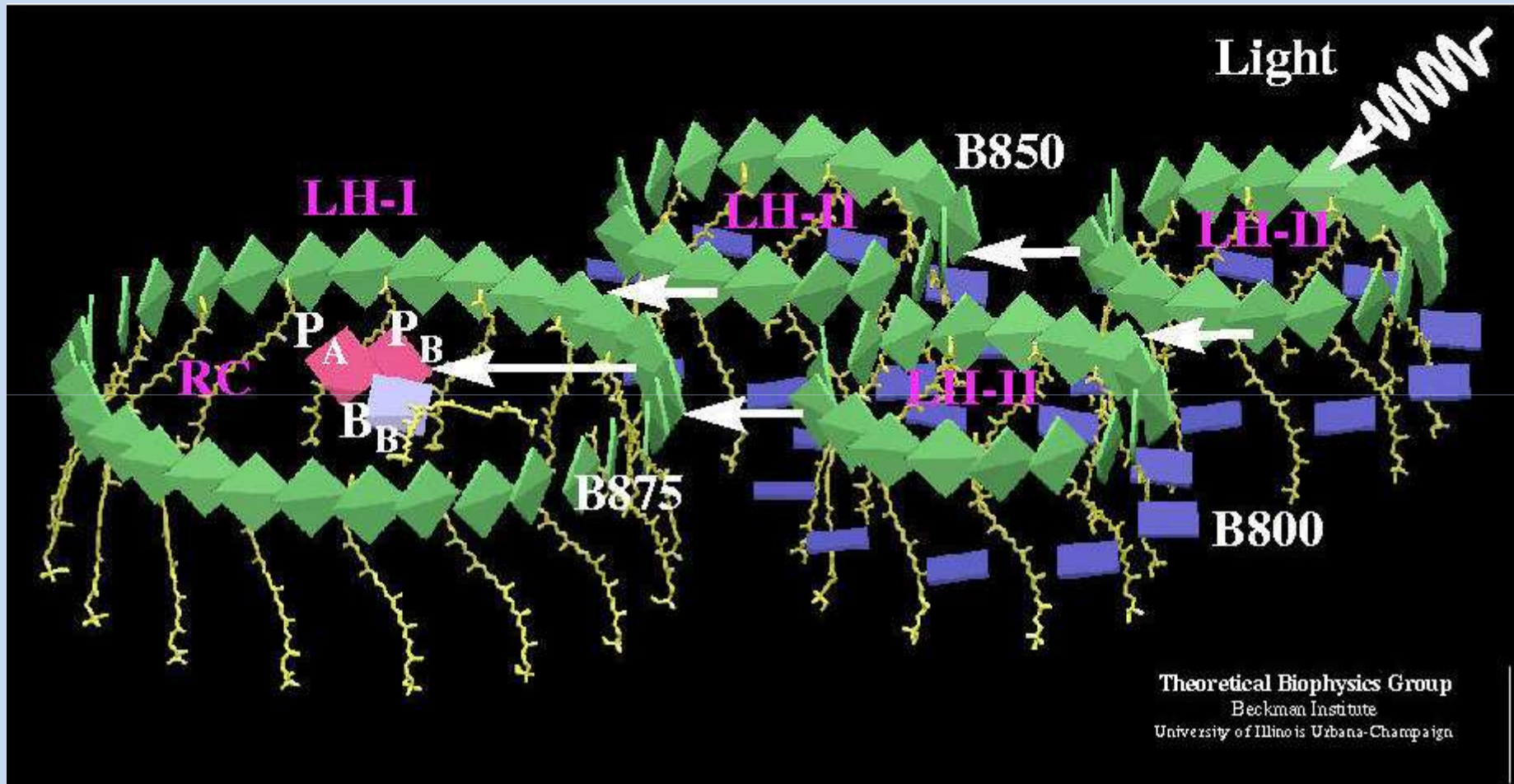


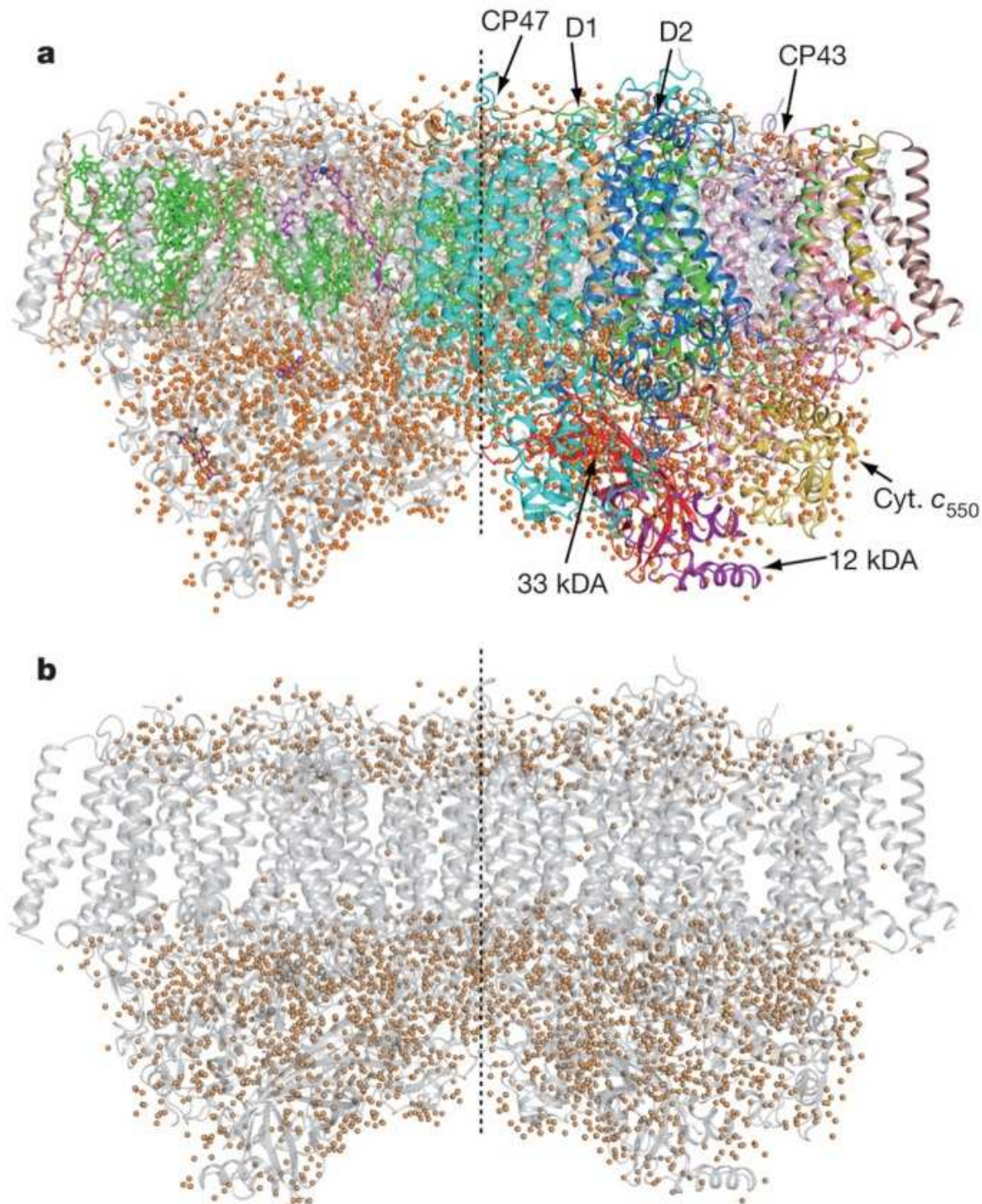
Model
Cogdell's structure



AFM image of the native membrane

Hunter and coworkers, Nature, 2004

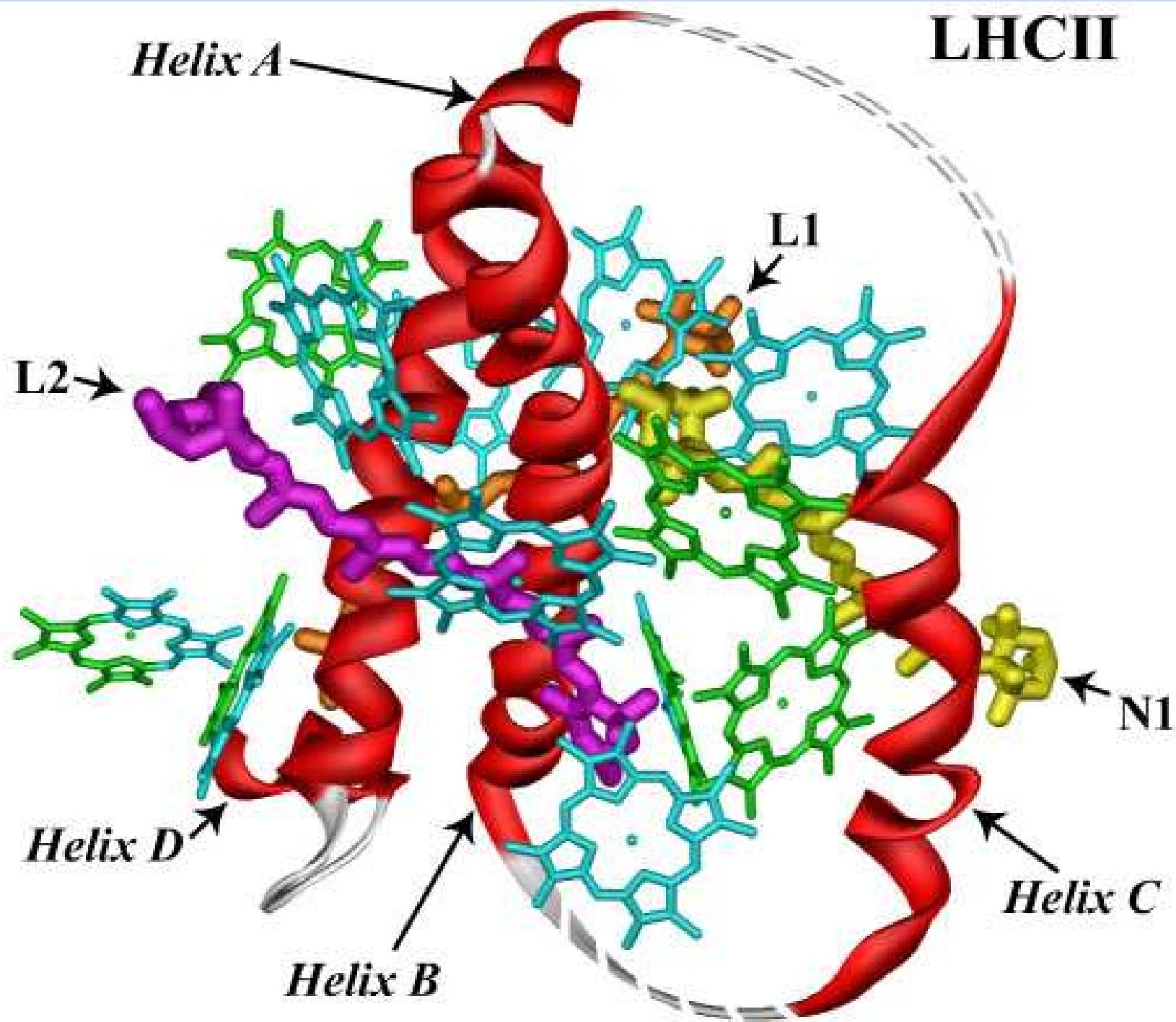




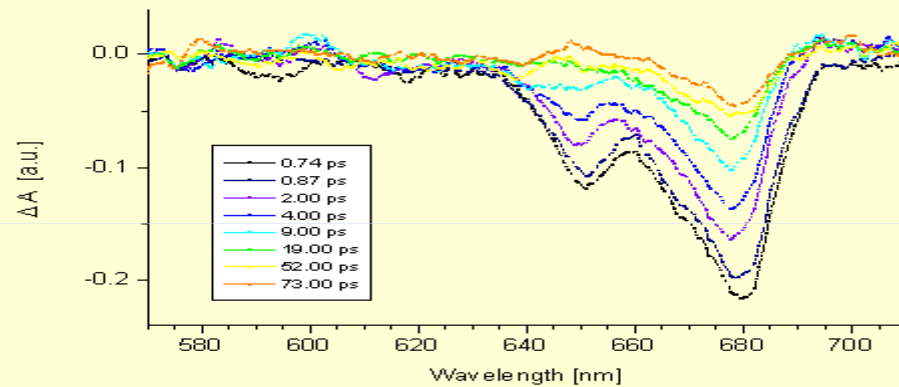
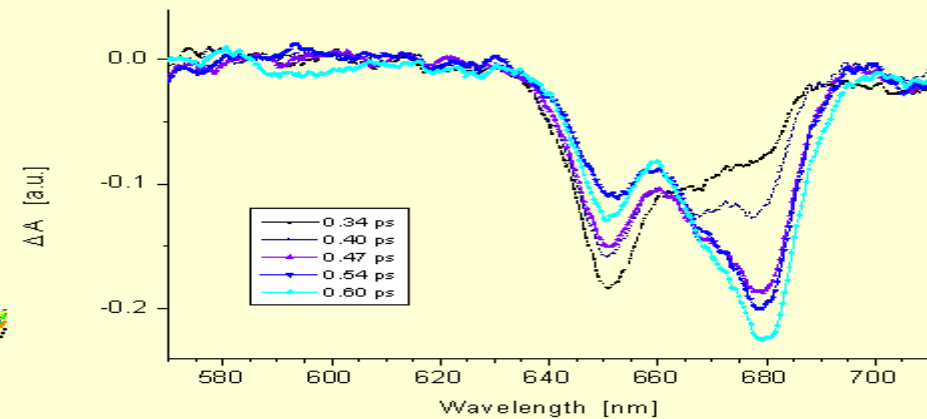
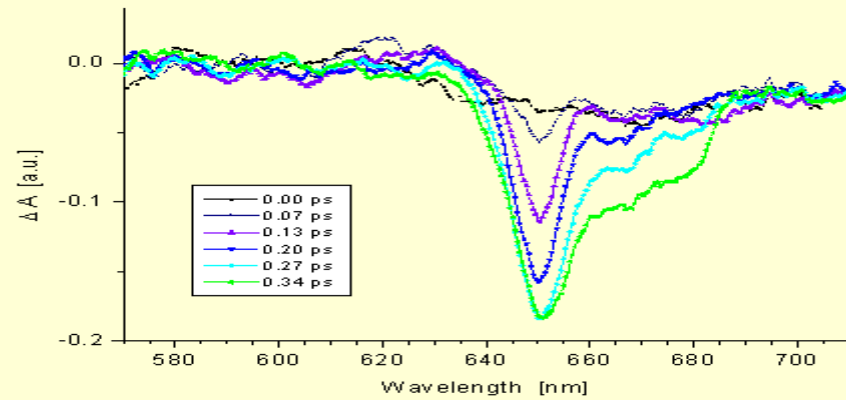
Overall structure of PSII dimer from *T. vulcanus* at a resolution of 1.9 Å.

Y Umena *et al.*
Nature **000**, 1-6
(2011)
doi:10.1038/nature09913

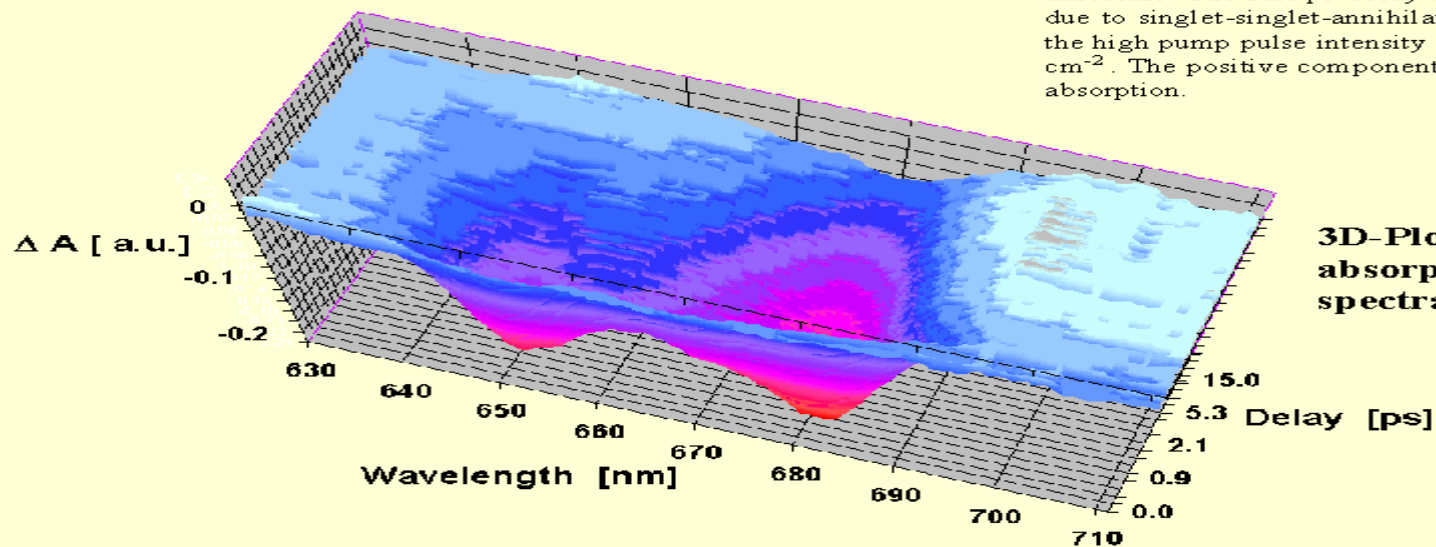
nature



LHC II



All spectra have a dominating negative band which is due to photobleaching and stimulated emission. The pump pulses initially populate the excited singlet state of chl b near 655 nm. This bleaching decays simultaneously with an increase of the bleaching around 670 nm - 679 nm reflecting energy transfer from Chl b to different 'pools' of chl a. The bleaching at 679 nm decays on a ps- and a non-resolvable ns-timescale. The fast ps-decay at 679 nm is very likely due to singlet-singlet-annihilation processes caused by the high pump pulse intensity of $\approx 10^{16}$ photons pulse⁻¹ cm⁻². The positive components are due to excited state absorption.



3D-Plot of the transient absorption difference spectra

λ , nm

650

655

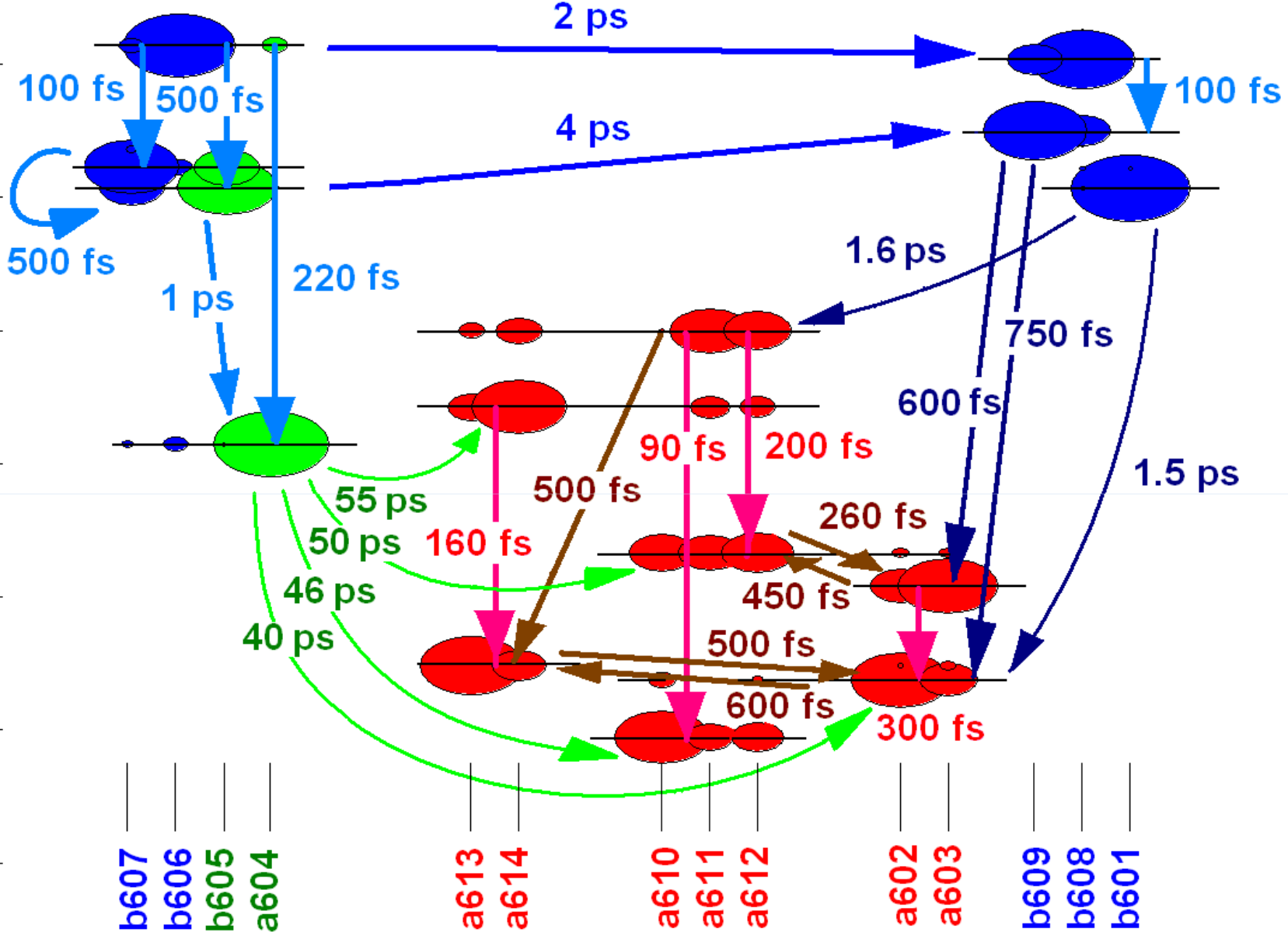
660

665

670

675

680



b607
b606
b605
a604

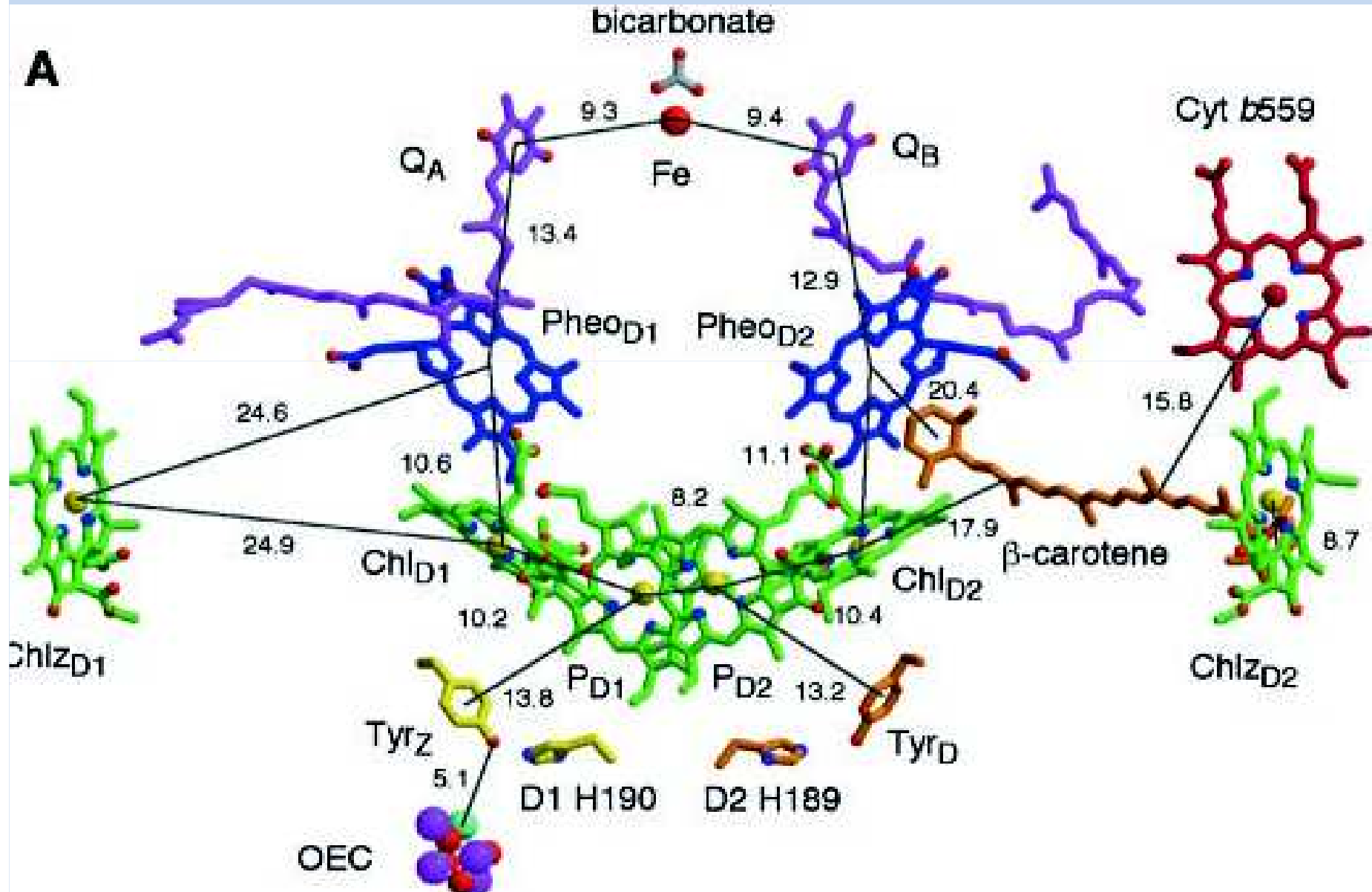
a613
a614

a610
a611
a612

a602
a603

b609
b608
b601

PSII reakciócentrum és a vízbontó (OEC) enzim szerkezete/elrendeződése (a távolságok A-ben)



Nobel díjak a fotoszintézis területén

- Richard Martin Wilstatter (1915, Chemistry): Chlorophyll purification
- Hans Fischer (1930, Chemistry): Chlorophyll chemistry
- Paul Karrer (1937, Chemistry): Carotenoid structure
- Richard Kuhn (1938, Chemistry): carotenoids; vitamins
- Melvin Calvin (1961, Chemistry): CO₂ assimilation in photosynthesis – using C14
- Robert Burns Woodward (1965, Chemistry): Total synthesis of chlorophyll
- Peter Mitchell (1978, Chemistry): photophosphorylation: chemi-osmotic theory
- Hartmut Michel; Robert Huber; and Johannes Deisenhofer (1988, Chemistry): X-ray structure of bacterial reaction center.
- Rudolph Marcus (1992, Chemistry): Electron transfer theory
- Paul D. Boyer and John E. Walker (1997, Chemistry): Enzymatic mechanism of ATP synthesis; X-ray structure of the ATP synthase
- Ahmed Zewail (1999) femtochemistry, femtobiology
- ?? O₂ evolution?
- ??? Efficient artificial photosynthesis?

Megoldandó problémák

- A molekuláris/fizikai mechanizmusok pontos megértése: a gerjesztési energia vándorlása és a reakciócentrumok működése, vízbontás: oxigén és hidrogén, töltésmozgások megértése, regulációs folyamatok fizikai alapjai, mesterséges fotoszintézis
- (Makro)Szerkezetek részletes feltárása: a molekuláris szerkezetek sugárzási károsodása; mikrokristályok ?, in vivo szerkezetek?
- Szerkezeti dinamika (biológia, intelligens anyagok)

X-ray Lasers Visions and Possibilities



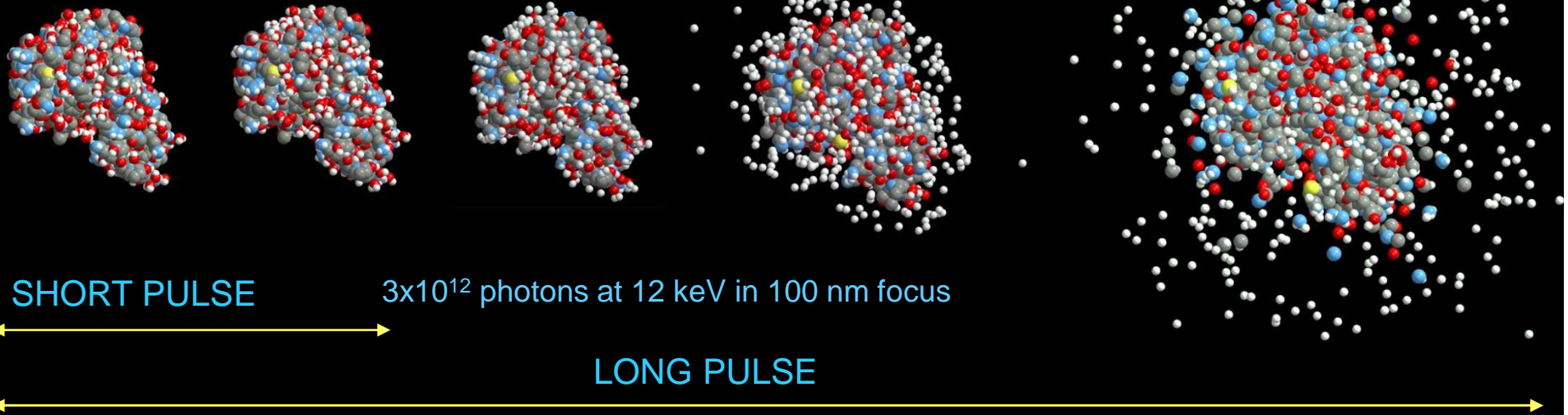
Janos Hajdu

10 BILLION - FOLD INCREASE IN PEAK BRILLIANCE

Such a large jump in one physical quantity is very rare,
and quite remarkable

Any sample placed in a focused FEL beam will turn into plasma at some point

Lysozyme

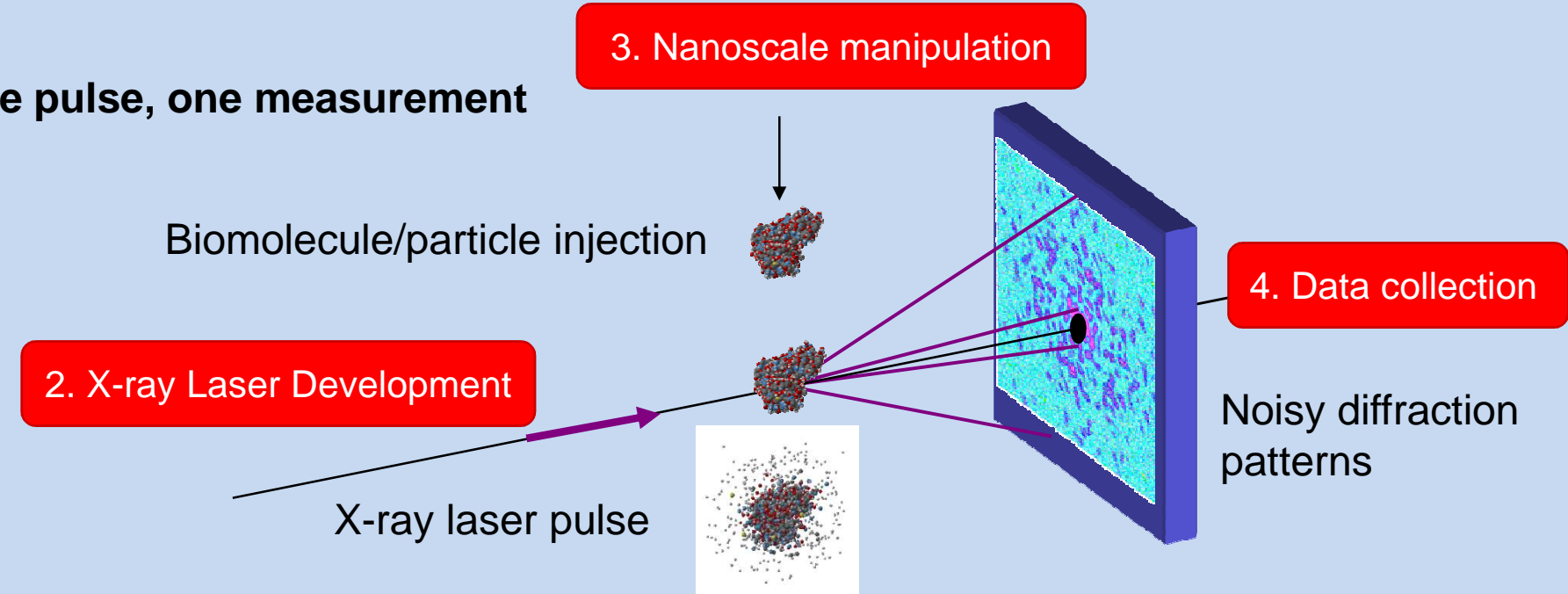


Capture an image *before* the sample has time to respond

Neutze, R., Wouts, R., van der Spoel, D., Weckert, E. Hajdu, J. (2000) *Nature* 406, 752-757

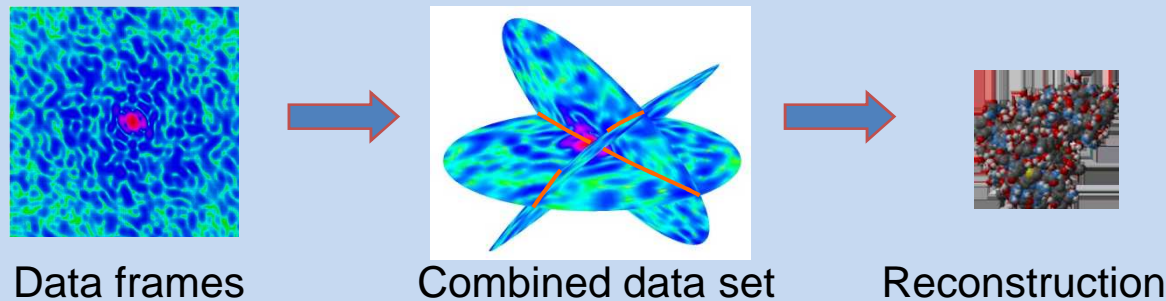
Imaging single particles (molecules, nanocrystals, etc.)

One pulse, one measurement

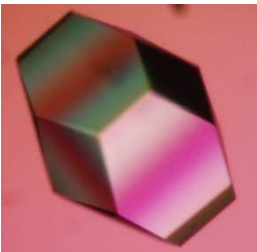


Combine many measurements

1. Theories of damage in ultra-fast imaging



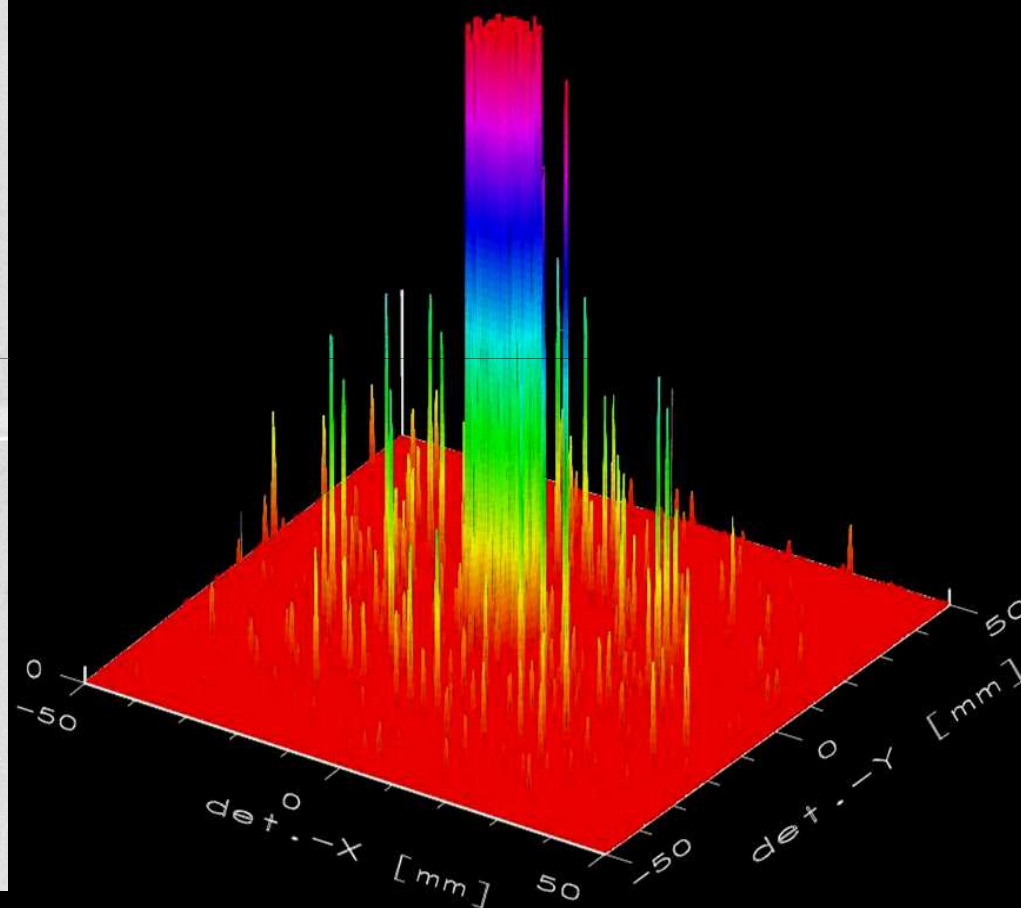
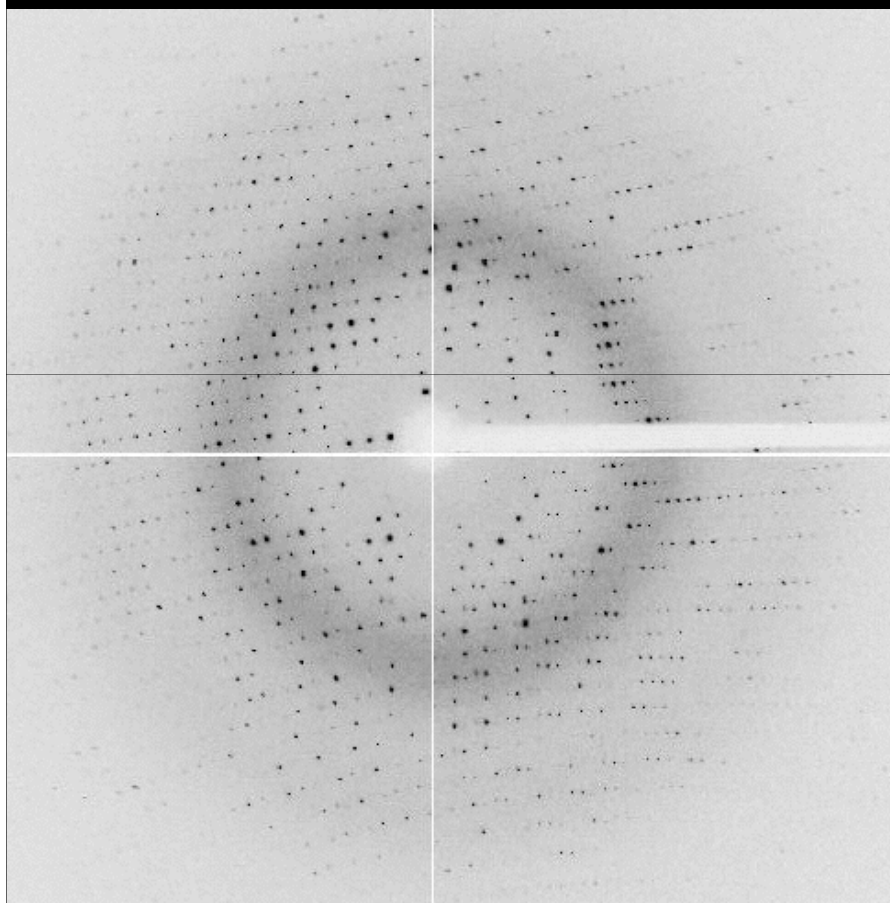
5. Data processing, phasing & reconstruction



1. FEMTOSECOND NANOCRYSTALLOGRAPHY

10,000 x 10,000 x 10,000 CRYSTAL

5 x 5 x 5 NANOCRYSTAL

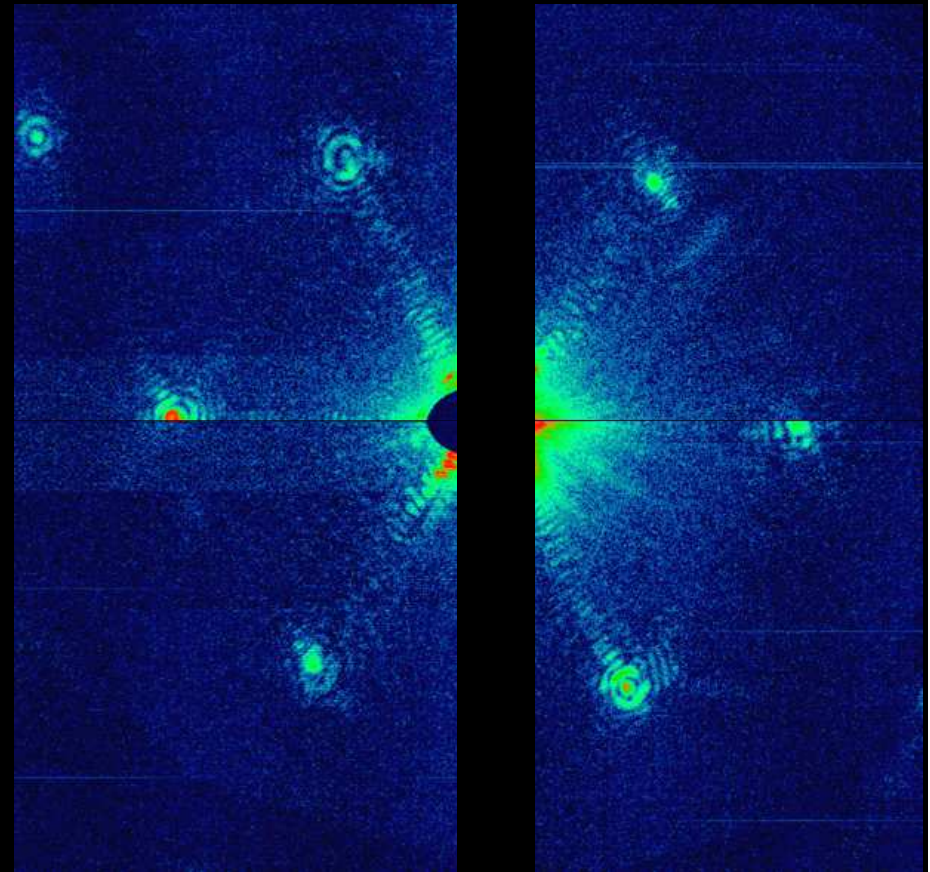


LYSOZYME

From: Neutze, R., Wouts, R., van der Spoel, D., Weckert, E. Hajdu, J. (2000) *Nature* 406, 752-757

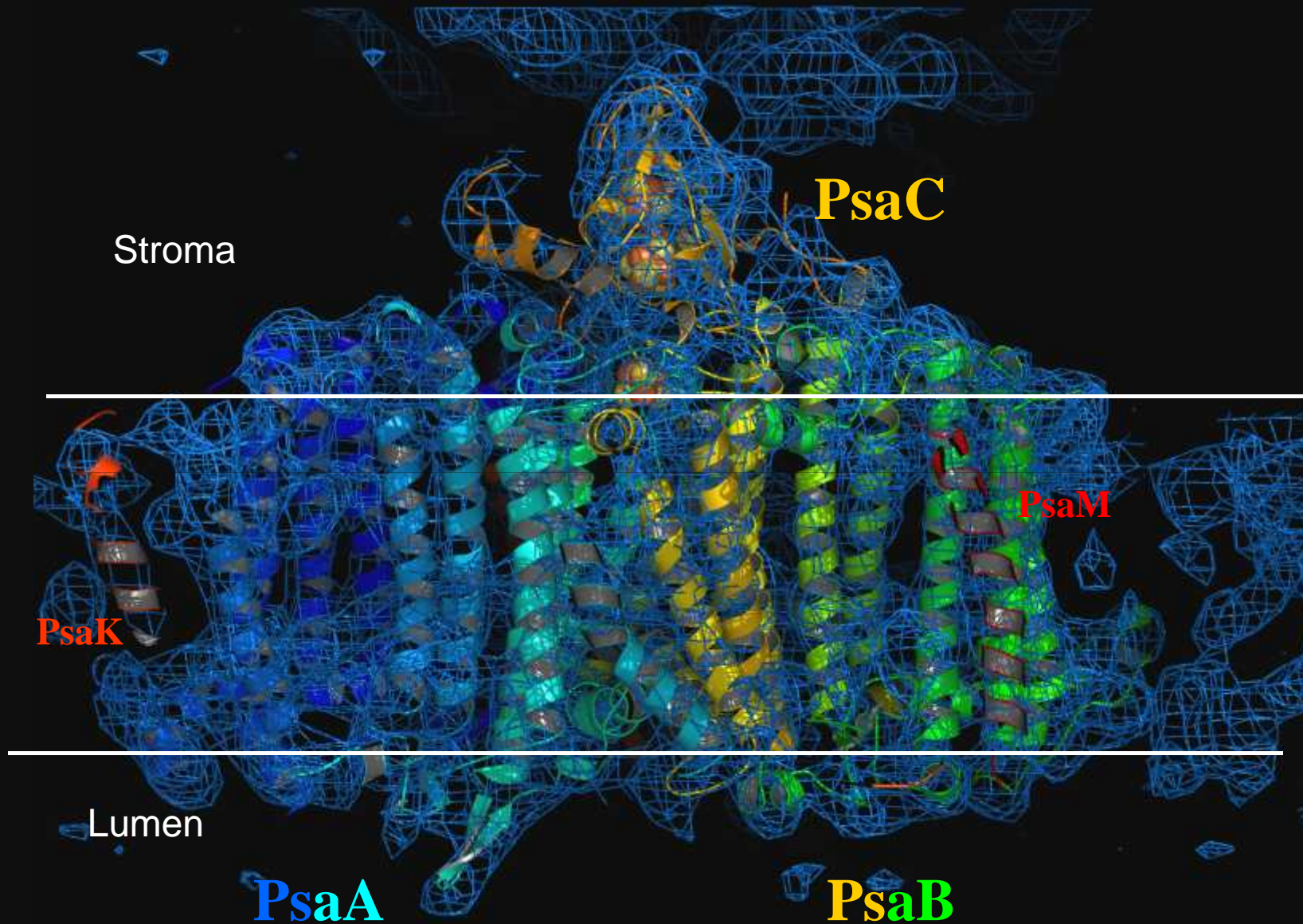
INJECT NANOCRYSTALS into the X-RAY BEAM

CRYSTALS ARE FLOWING IN A FOCUSED WATER JET



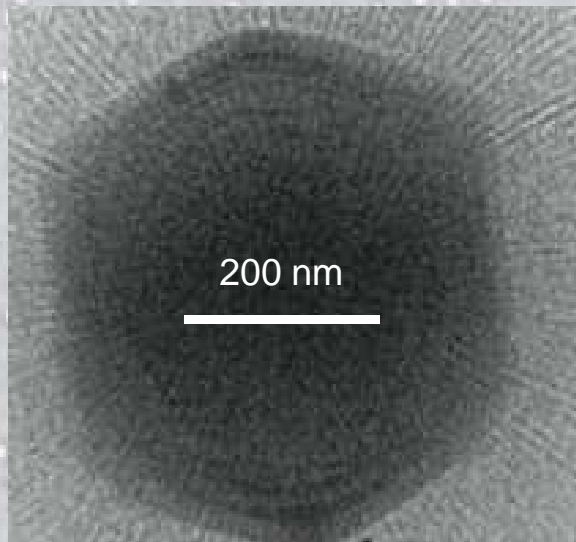
In 5 days: 6 MILLION SHOTS (on 6 million nanocrystals) and half of them good shots

PHOTOSYSTEM 1 STRUCTURE from nanocrystals at the LCLS



2. SINGLE PARTICLES

THE GIANT MIMIVIRUS in the OPTICAL MICROSCOPE



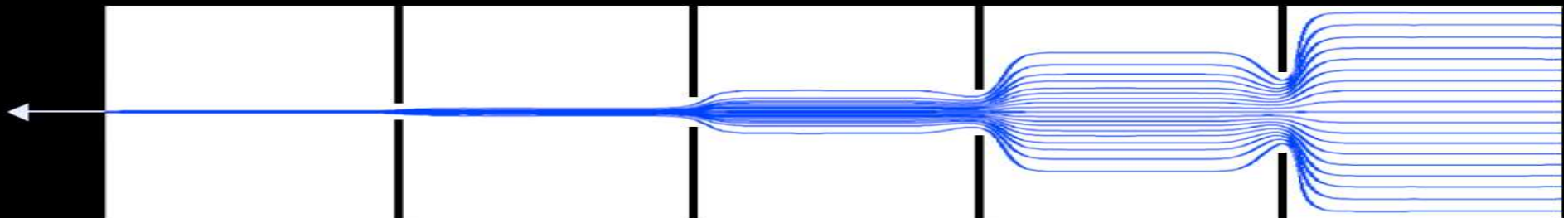
Too big for EM, and cannot be crystallised because of its hair

AN INJECTOR FOR BIOLOGICAL SAMPLES FROM UPPSALA



Based on aerodynamic focusing:

W.K. Murphy and G.W. Sears, "Production of Particulate Beams" *J. Appl. Phys.* **35**, 1986–1987 (1964).



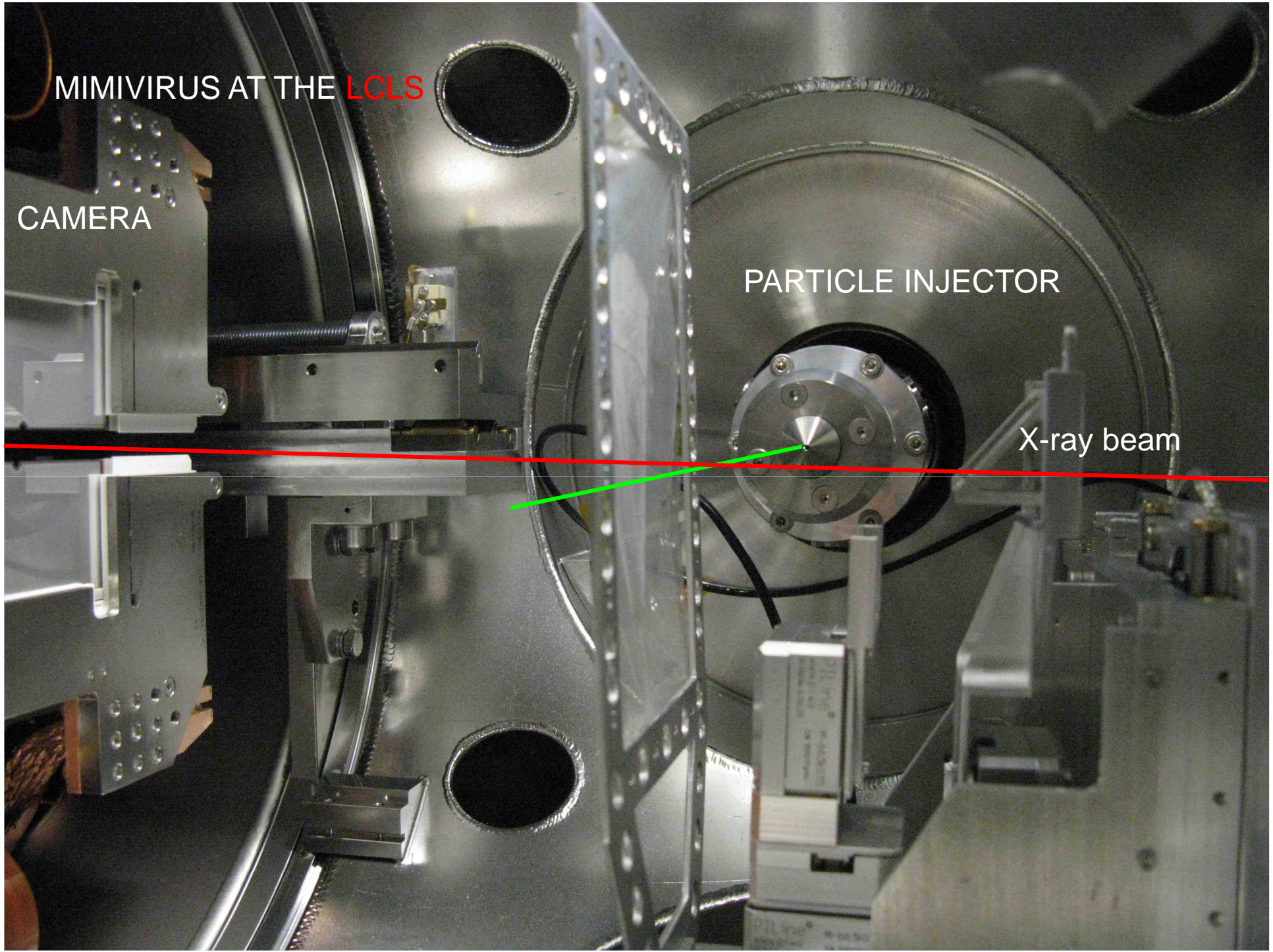
ADIABATIC COOLING

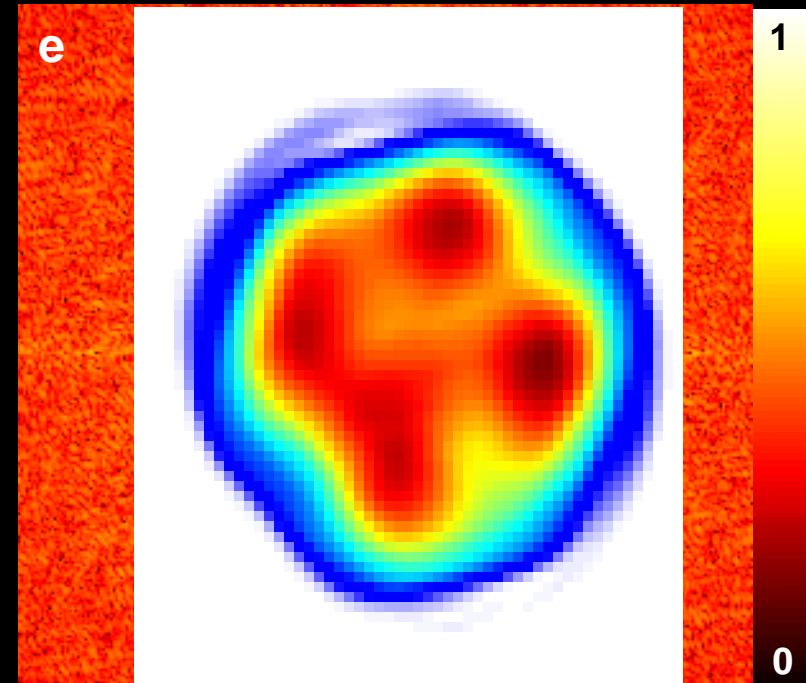
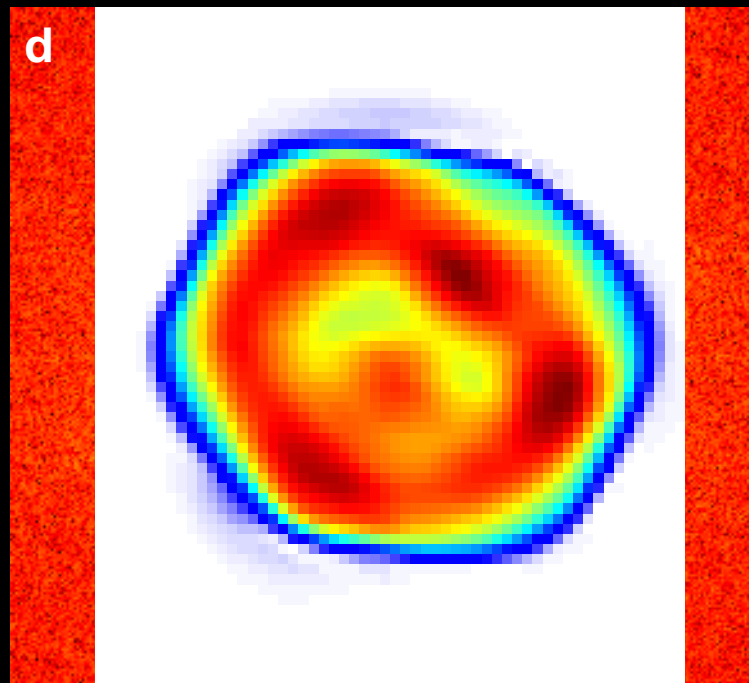
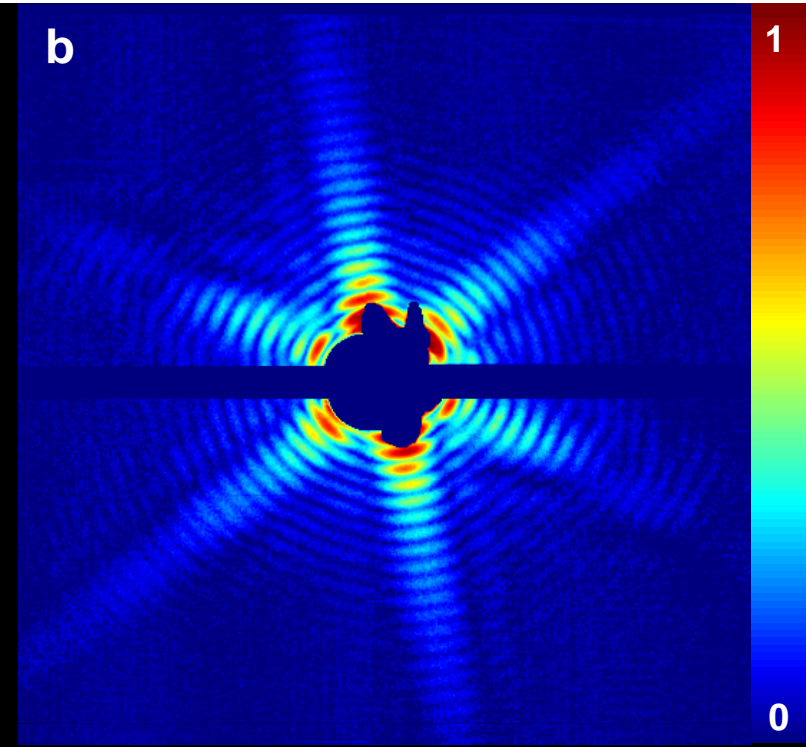
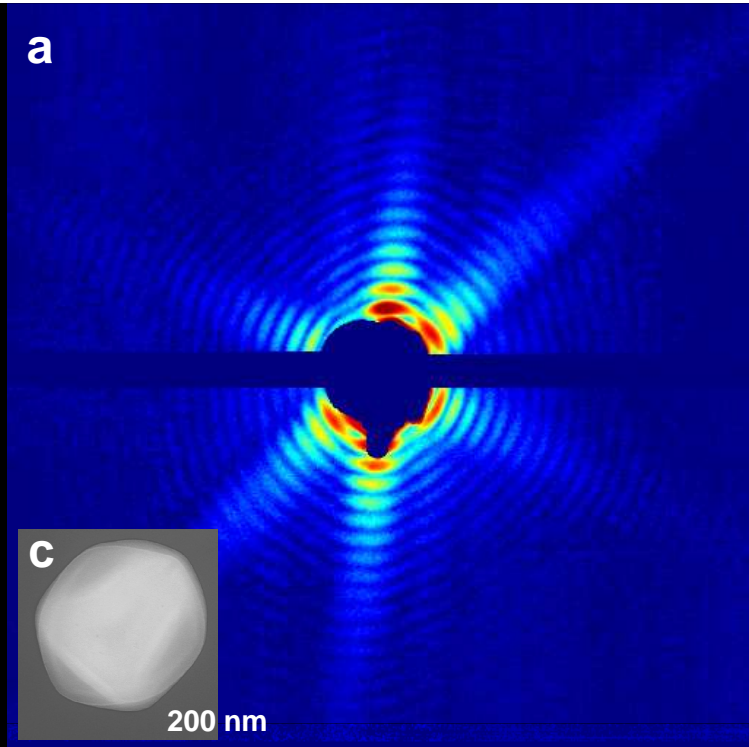
MIMIVIRUS AT THE LCLS

CAMERA

PARTICLE INJECTOR

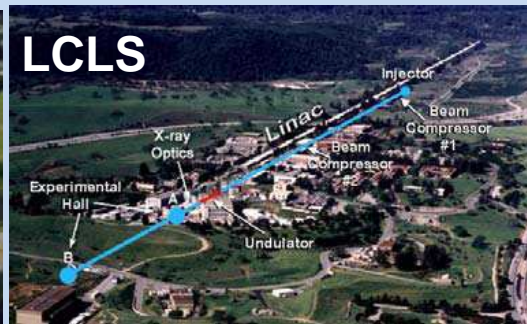
X-ray beam





Röntgen szabadelektron lézerek

	impulzus- hossz	foton/ impulzus	hullámhossz	impulzus gyakoriság	start dátum
FLASH (Hamburg)	5-50 fs	10^{12} - 10^{13}	6.5-50 nm	150-4000/s	2005
LCLS (Stanford)	2-300 fs	10^{11} - 10^{12}	0.15 nm	10-120/s	2009
SCSS (Japan)			0.1 nm	60/s	2010
FERMI (Trieste)	50-200 fs	10^{12} - 10^{14}	10-100 nm	10/s	2011
Eu XFEL (Hamburg)	2-100 fs	10^{12} - 10^{14}	0.1-6 nm	25000/s	2015
SPARX (Roma)	30-200 fs	10^{12} - 10^{14}	0.6-40 nm	50-100/s	2014
SwissFEL (Villingen)	25 fs	10^{11} - 10^{12}	0.1-7 nm	10-100/s	2016



Lehetőségek az ELI ALPS-nél

Faigel Gyula, MTA SZFKI 2011

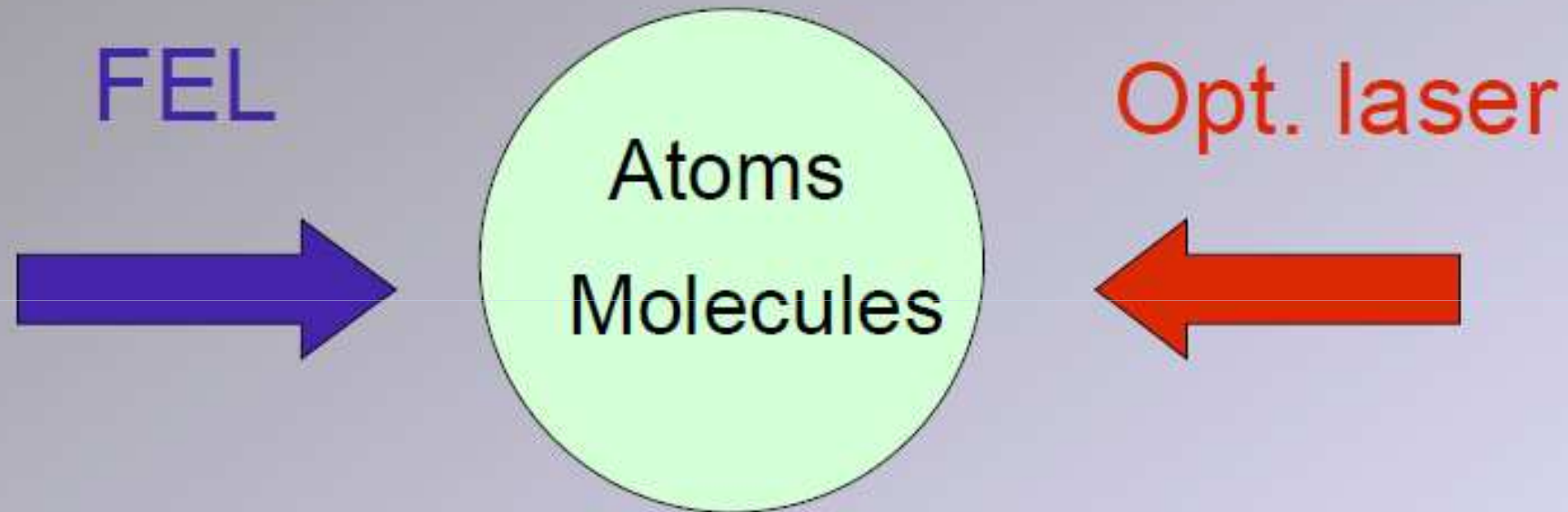


ELI és ELI ALPS projekt rövid ismertetés
Összehasonlítás más forrásokkal
Kutatási és gyakorlati alkalmazási lehetőségek
Összefoglalás, tanulságok

ELI vs XFEL

- **Kis foton-energiákon (1-50 eV – \sim um – 20 nm) nagyobb intenzitást adhat mint az XFEL**
- **Pumpa-próba típusú mérések esetén, a két nyaláb egymással meghatározott fázisviszonyban lesz**
- Az XFEL-ek nagy energiákon keV (10 keV, vagy nagyobb energia - $< \sim 1A$) sokkal több foton fogak adni (10-1000 többlet, energiától függően)
- Nem lehet össze-szinkronizálni a pumpa és próba lézert, mert ez két külön lézer, az egyik hagyományos a másik maga az XFEL)

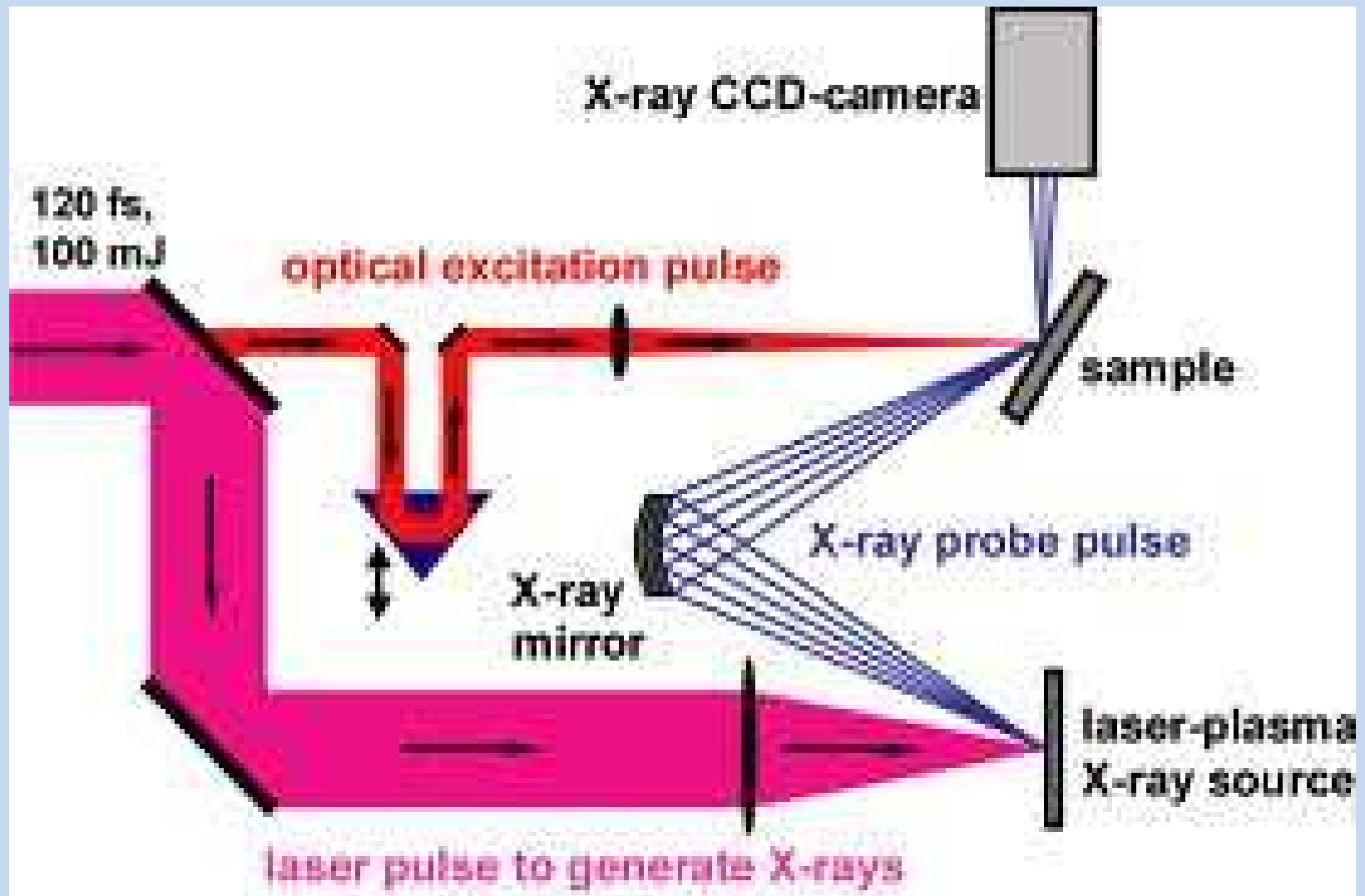
Two-Color Pump-Probe Studies



XUV, $< 6\text{nm}$, $> 200\text{ eV}$
 $< 100\text{ fs}$, $5 - 50\ \mu\text{J}$
 $50\text{-}100\ \mu\text{m}$ - linear regime

UV / Visible, $400 - 800\text{nm}$
 $< 100\text{ fs}$, $> 1\text{ mJ}$
 $50\ \mu\text{m}$ - non-linear regime

Időbontott Röntgen diffrakció



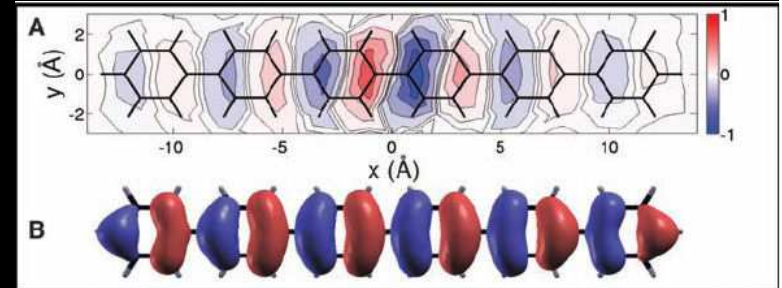
ELI ALPS kutatási területek

- A. Kötési elektronok viselkedésének tanulmányozása (MID FDE SCS)
- B. Törzs elektronok viselkedésének tanulmányozása (MID FDE SCS)
- C. Atomi és kisebb méretskálájú 4D leképzések
 - (SPB FDE SQS)
- D. Relativisztikus kölcsönhatások vizsgálata (HED)
- E. Kompakt fényes fotonforrások lehetséges biológiai, orvosi és ipari alkalmazásai (SPB FDE SCS)

ELI ALPS kutatási területek

A. Kötési elektronok viselkedésének tanulmányozása

- **attomásodperces felületfizika**
- **atto- femto- kémia, a reakcióképesség optikai szabályozása**
- - attomásodperces plazmonika, fényhullám elektronika

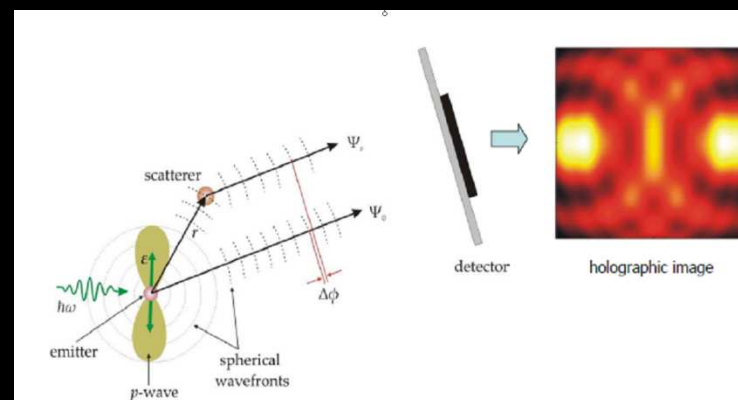
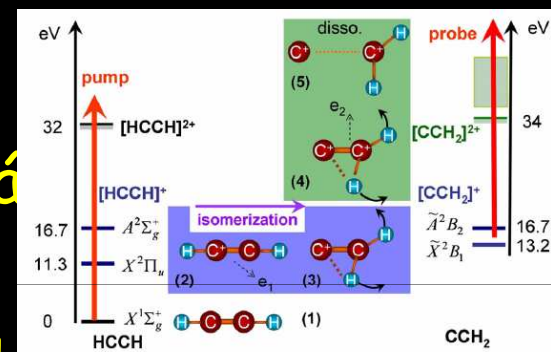


orbitális sűrűség Sexifenilben

ELI ALPS kutatási területek

B. Törzs elektronok viselkedésének tanulmányozása

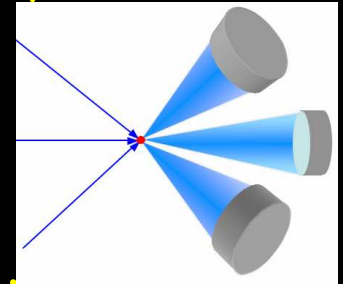
- - Izomeráció időbeli lefolyásának vizsgálata
- - A fotoszételés dinamikájának vizsgálata
- - Időfelbontásos fotoelektron diffrakció és holográfia



ELI ALPS kutatási területek

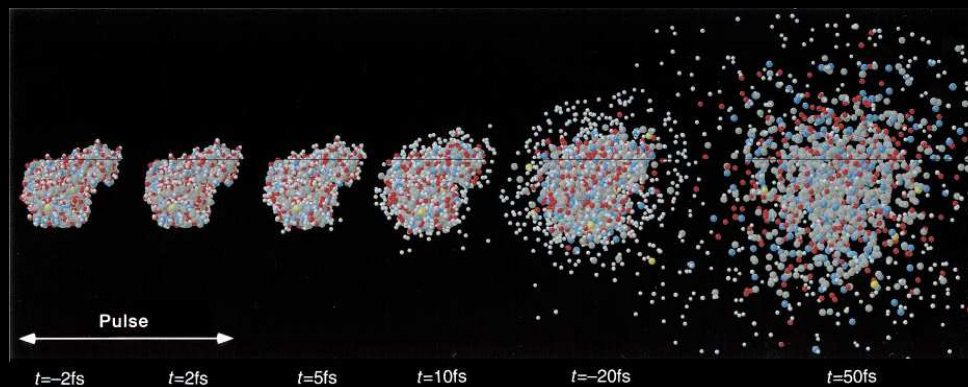
C. Atomi és kisebb méretskálájú 4D leképezések

- Nemlineáris optika és a refraktív index eredete,
- Elektromágneses tér nano-szerkezetekben és metaanyagokban való terjedése,
- Töltés átrendeződés fényérzékeny molekulákban,
- A kémiai kötések felszakadásának követése
- - Egyedi részecskék leképzése többirányú szimultán megvilágítással



ELI ALPS kutatási területek

Egyedi molekulák atomi szintű szerkezetének meghatározása
Mérjük olyan rövid idő alatt, míg az atomok még nem mozdulnak el!



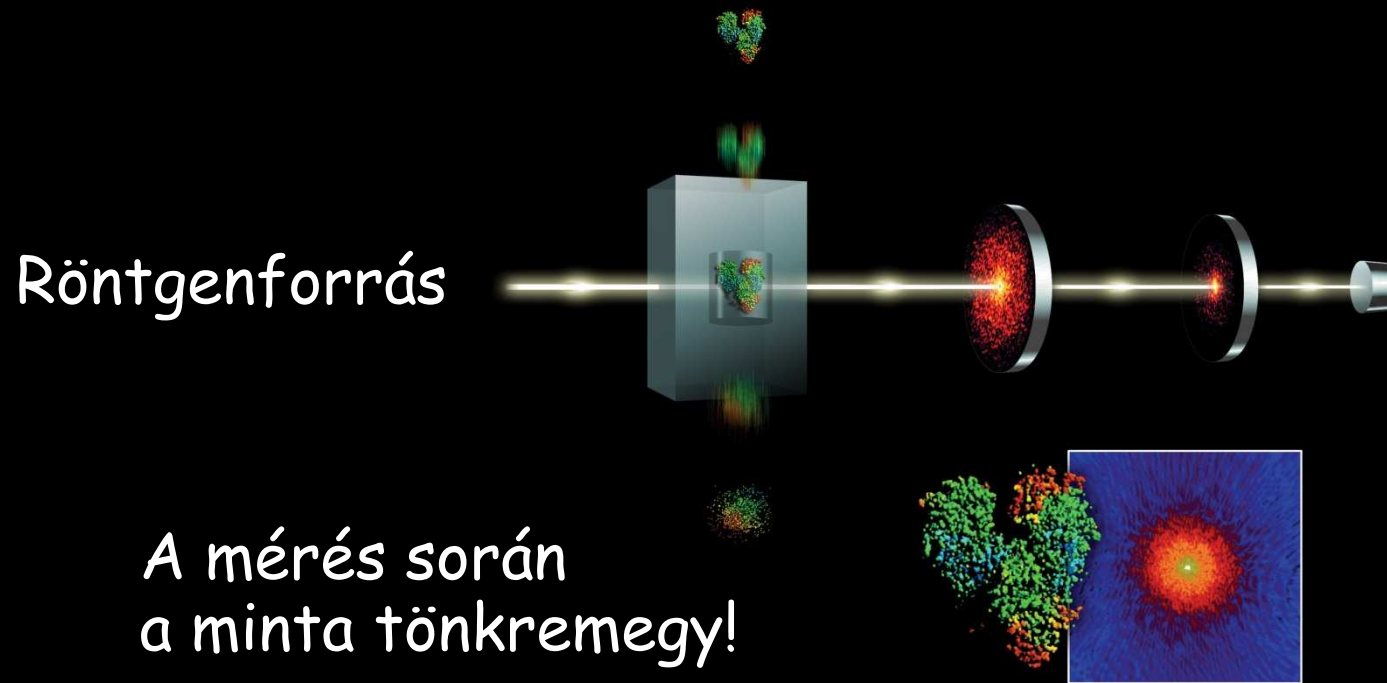
R. Neutze et al. Nature 406 752 (2000)

T4 lizozin fehérje

Kísérleti háttér: röntgen szabadelektron lézerek
(T_{impulzus} 2-100fs, $\lambda \sim 1 \text{ \AA}$)

ELI ALPS kutatási területek

Egyedi molekulák atomi szintű szerkezetének meghatározása, mérés

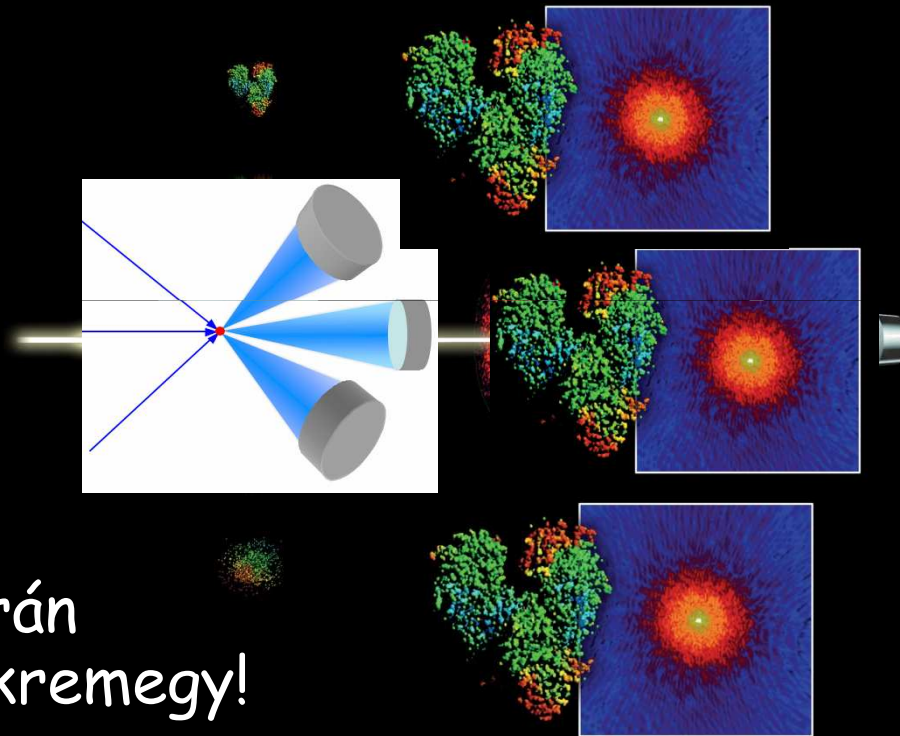


<http://lcls.slac.stanford.edu>

ELI ALPS kutatási területek

Egyedi molekulák atomi szintű szerkezetének meghatározása, mérés

Röntgenforrás



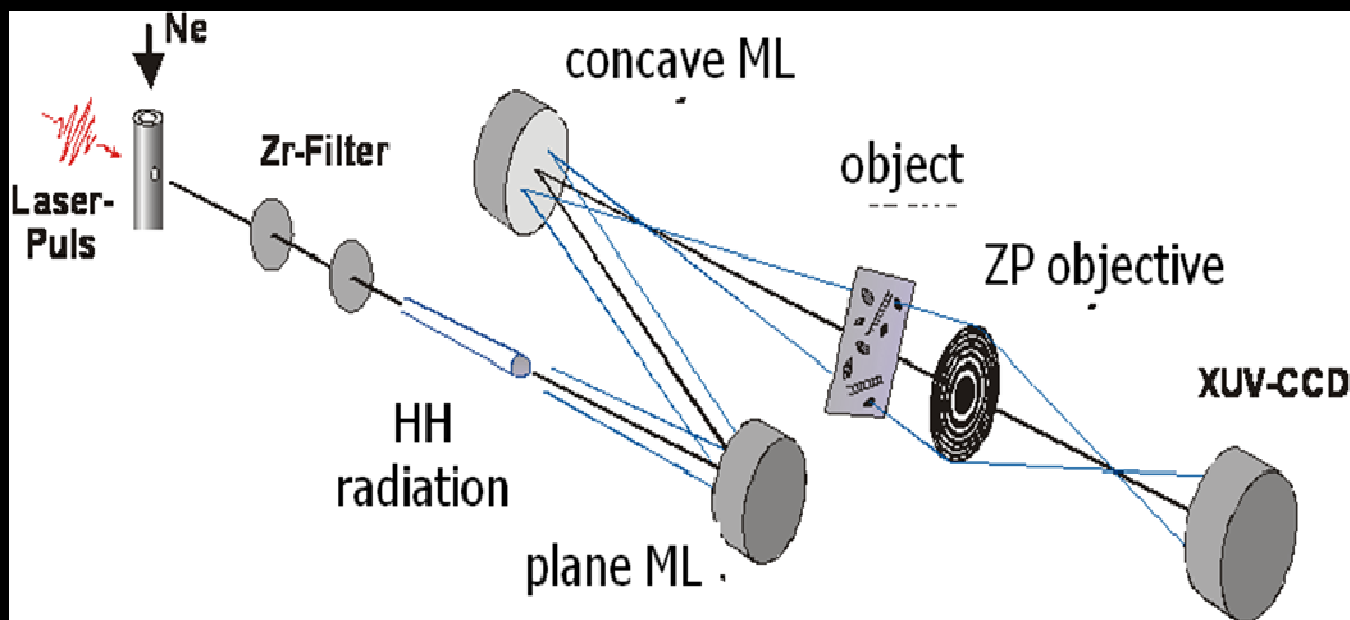
A mérés során
a minta tönkremegy!

<http://lcls.slac.stanford.edu>

ELI ALPS Alkalmazási területek

E. Kompakt fényes fotonforrások lehetséges biológiai alkalmazásai

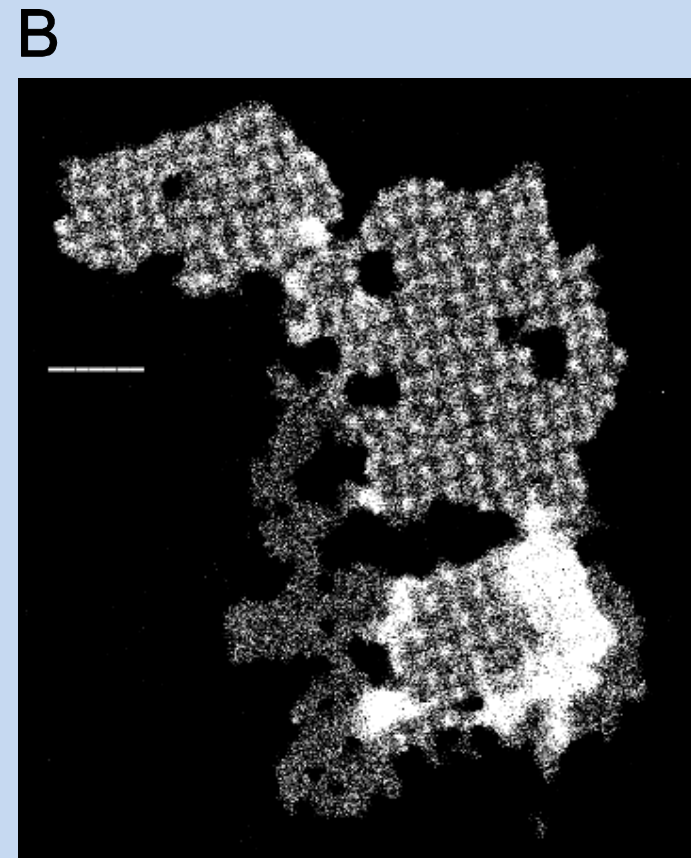
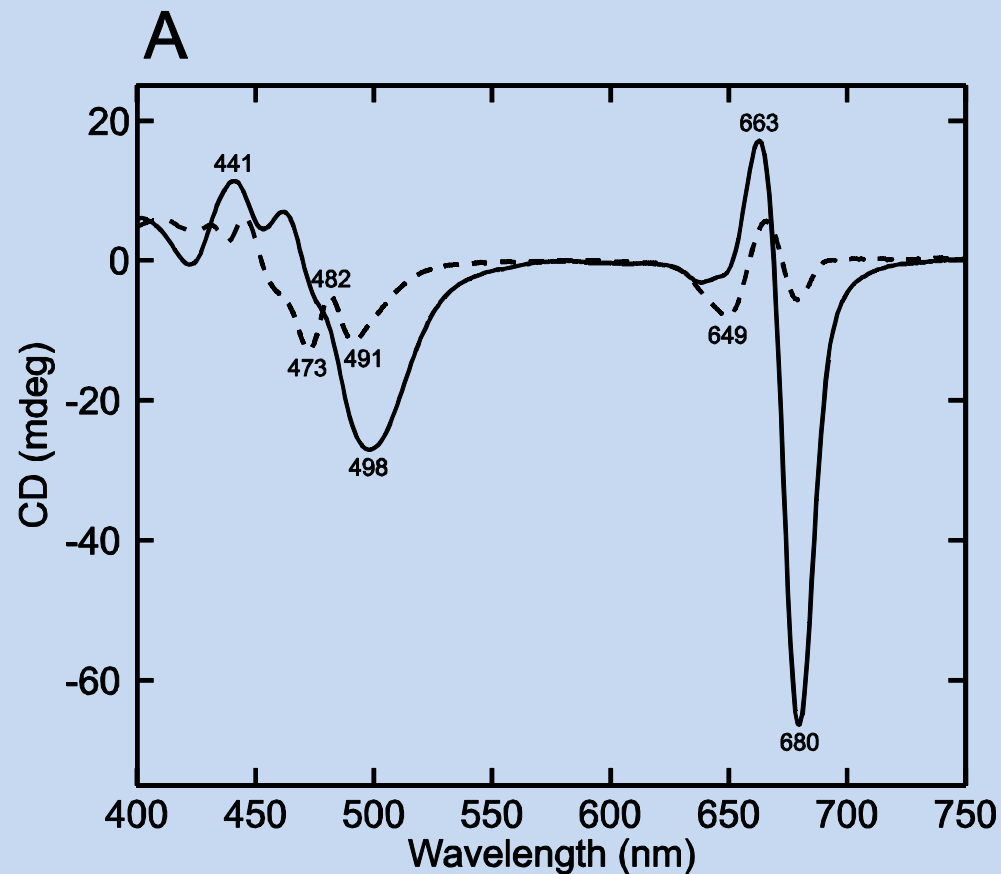
Biológiai rendszerek (sejtek, sejtalkotók) működés közbeni, nanométer skálájú leképzése: sejtek életfunkciói, sejtfalon való transzport, sejt-sejt kommunikáció stb.



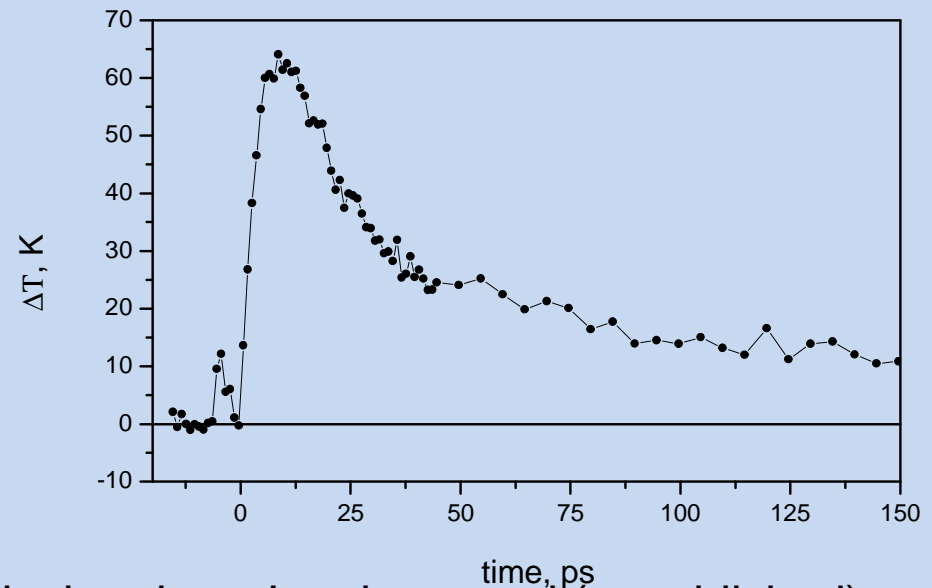
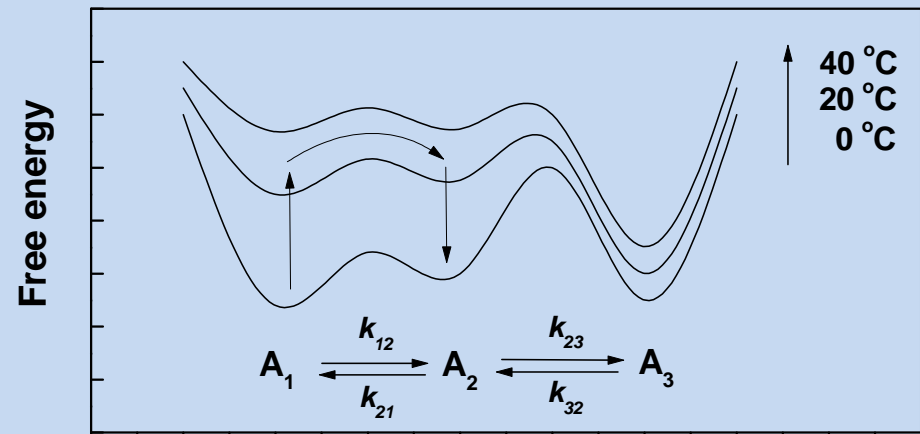
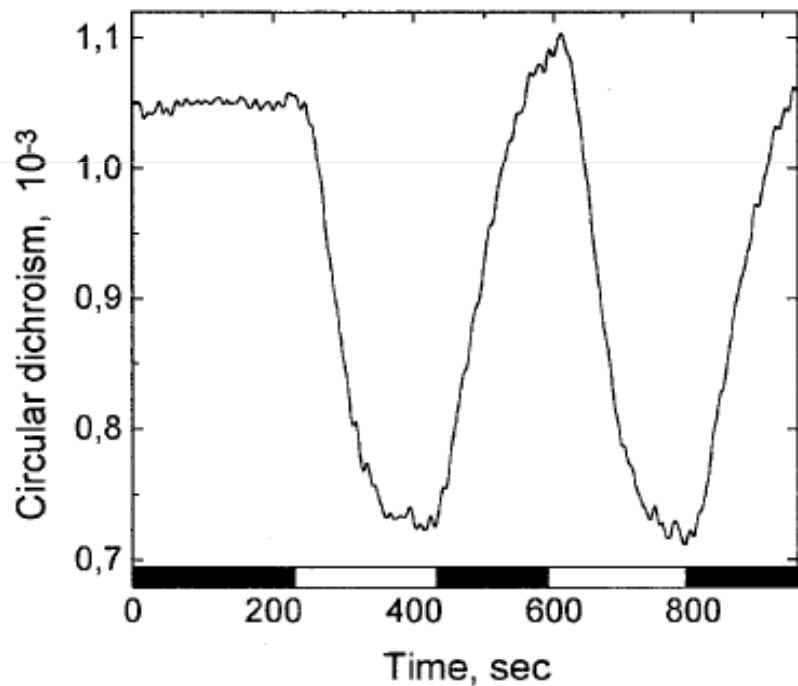
Teljes terű leképzésre alkalmas HHG multiréteg monokromátorral ellátott zónalemez mikroszkóp (felbontás 150 nm). Az első méréseket szárított alga mintákon végezték.

The origin of the psi-type CD

LHCII microcrystals – structural hierarchy; spectroscopy of highly organized molecular macroassemblies

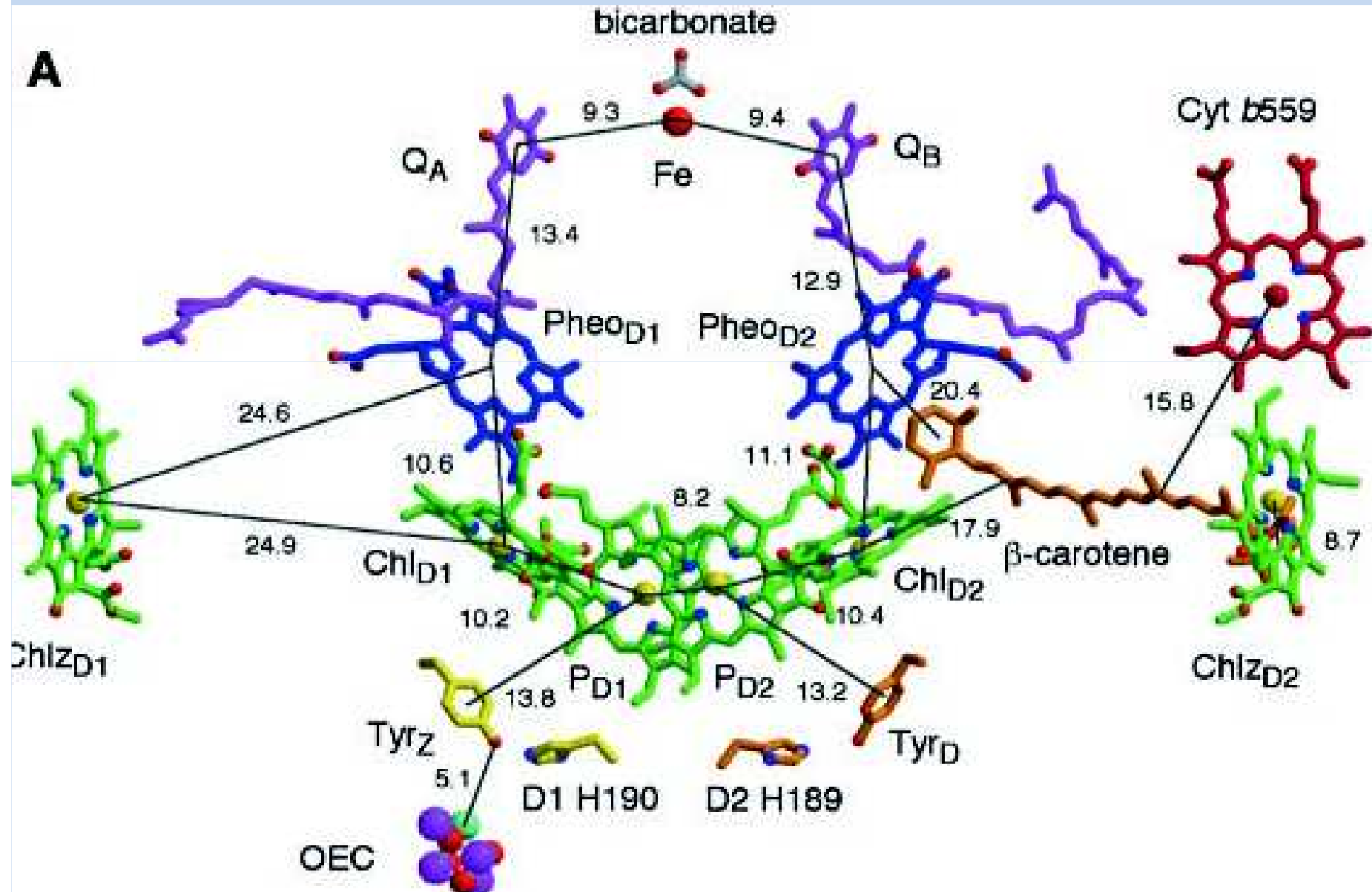


Light-induced (thermo-optically induced) reversible reorganizations in the long-range chiral order of lamellar (microcrystalline) aggregates of LHCII



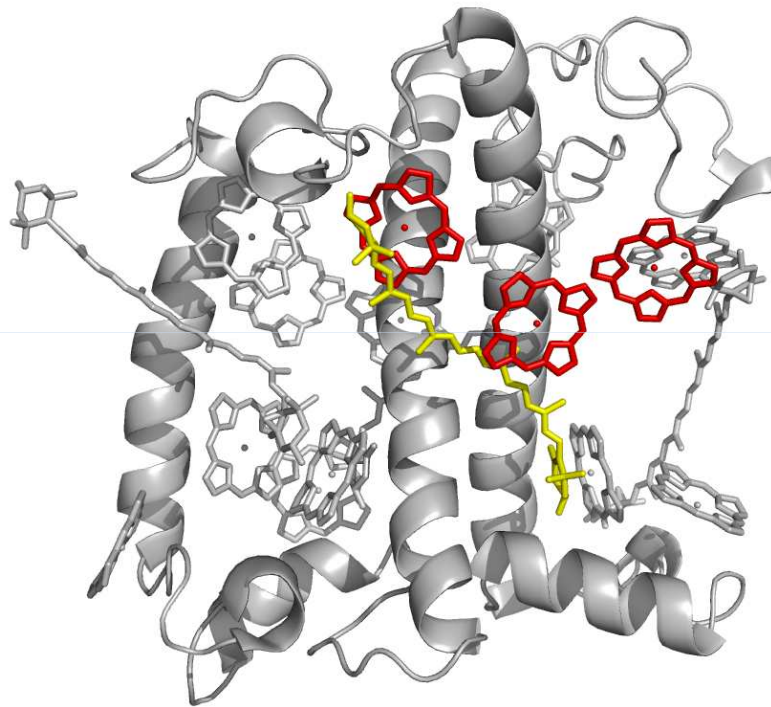
Garab et al, 2002; Gulbinas et al. 2006 Biochemistry, Lambrev et al (unpublished)

PSII reakciócentrum és a vízbontó (OEC) enzim szerkezete/elrendeződése (a távolságok A-ben)

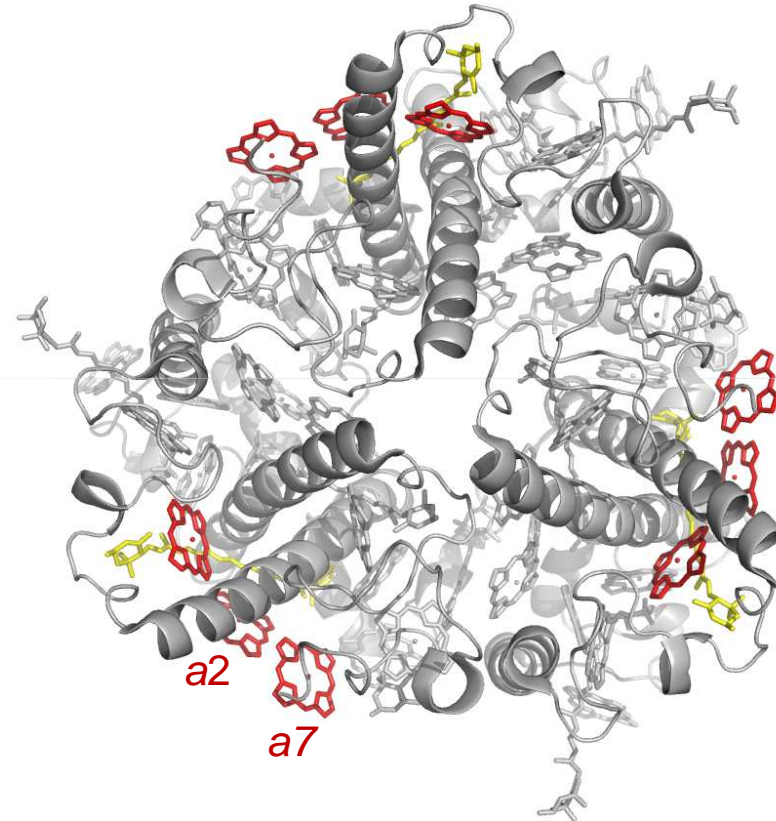


Charge transfer complex in LHCII - role in photoprotection

Side view of LHCII monomer



Stromal view of LHCII trimer



Three strongly interacting chlorophylls – a1, a2 and a7 (in red) – form the lowest-energy site in LHCII and might be involved in the formation of a quenching CT state.

Alternatives

Renewable, CO₂-free energy sources ...

...vs. current energy demand

SOLAR: 178,000 TW

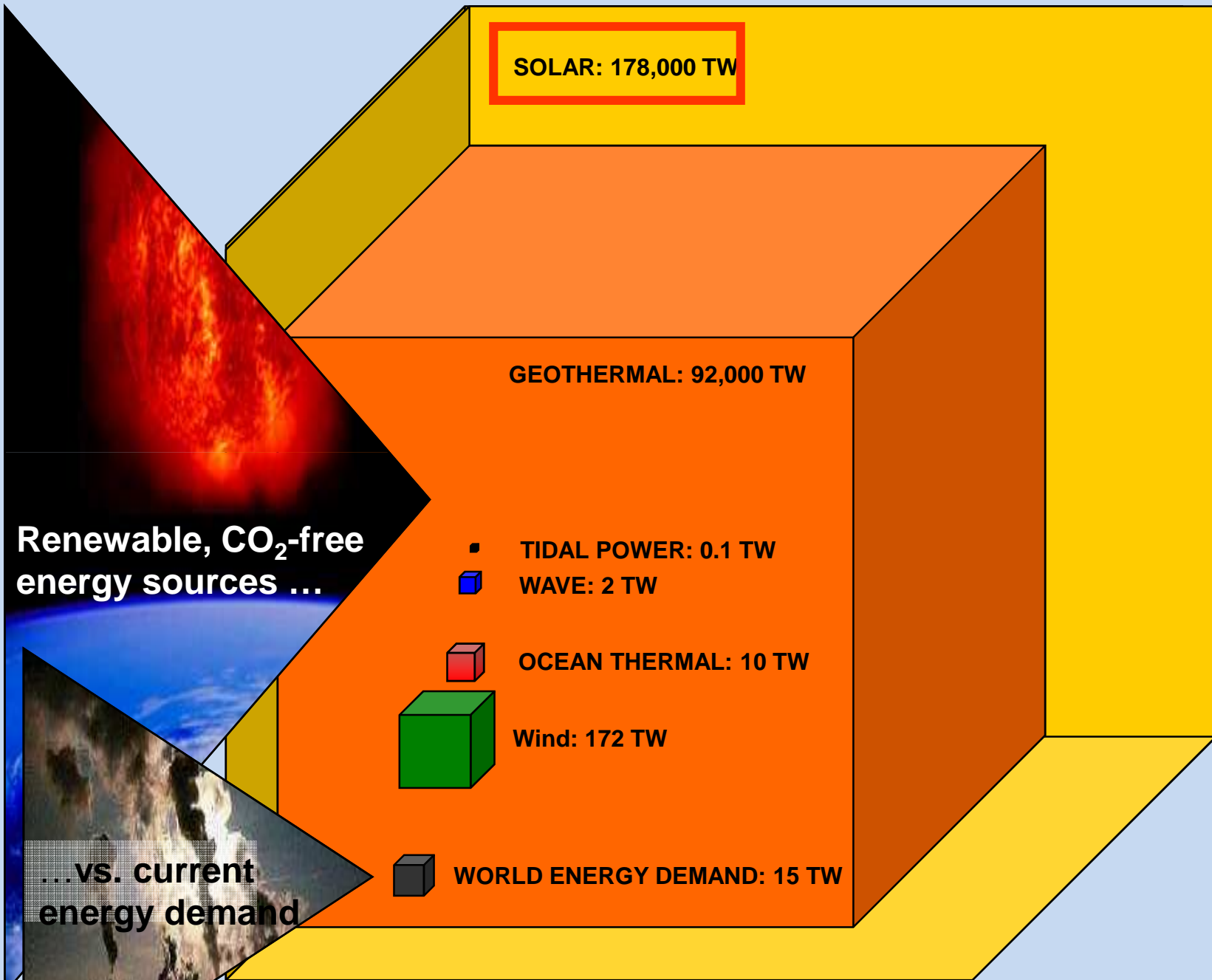
GEO THERMAL: 92,000 TW

▪ TIDAL POWER: 0.1 TW
■ WAVE: 2 TW

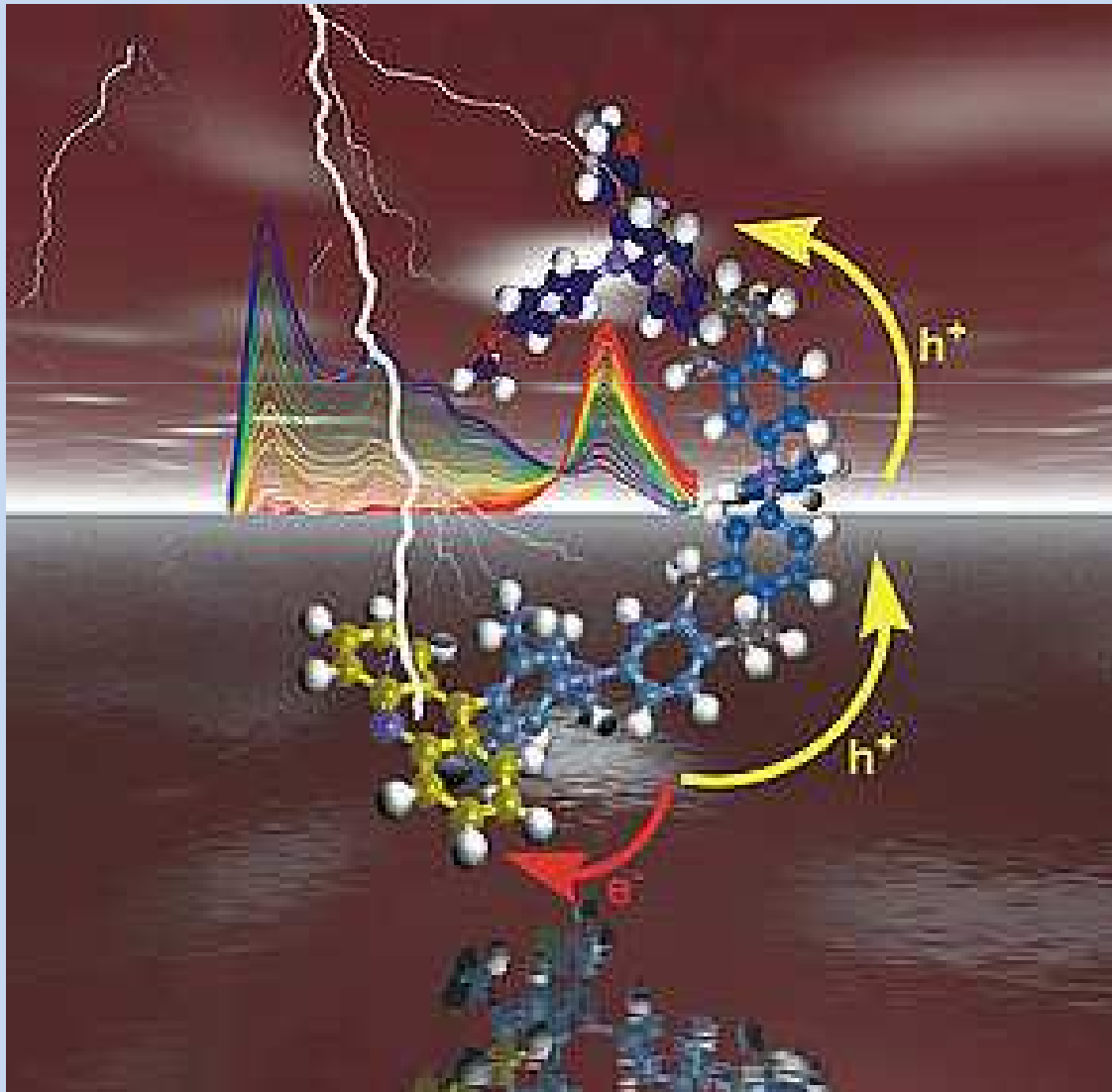
■ OCEAN THERMAL: 10 TW

■ Wind: 172 TW

■ WORLD ENERGY DEMAND: 15 TW

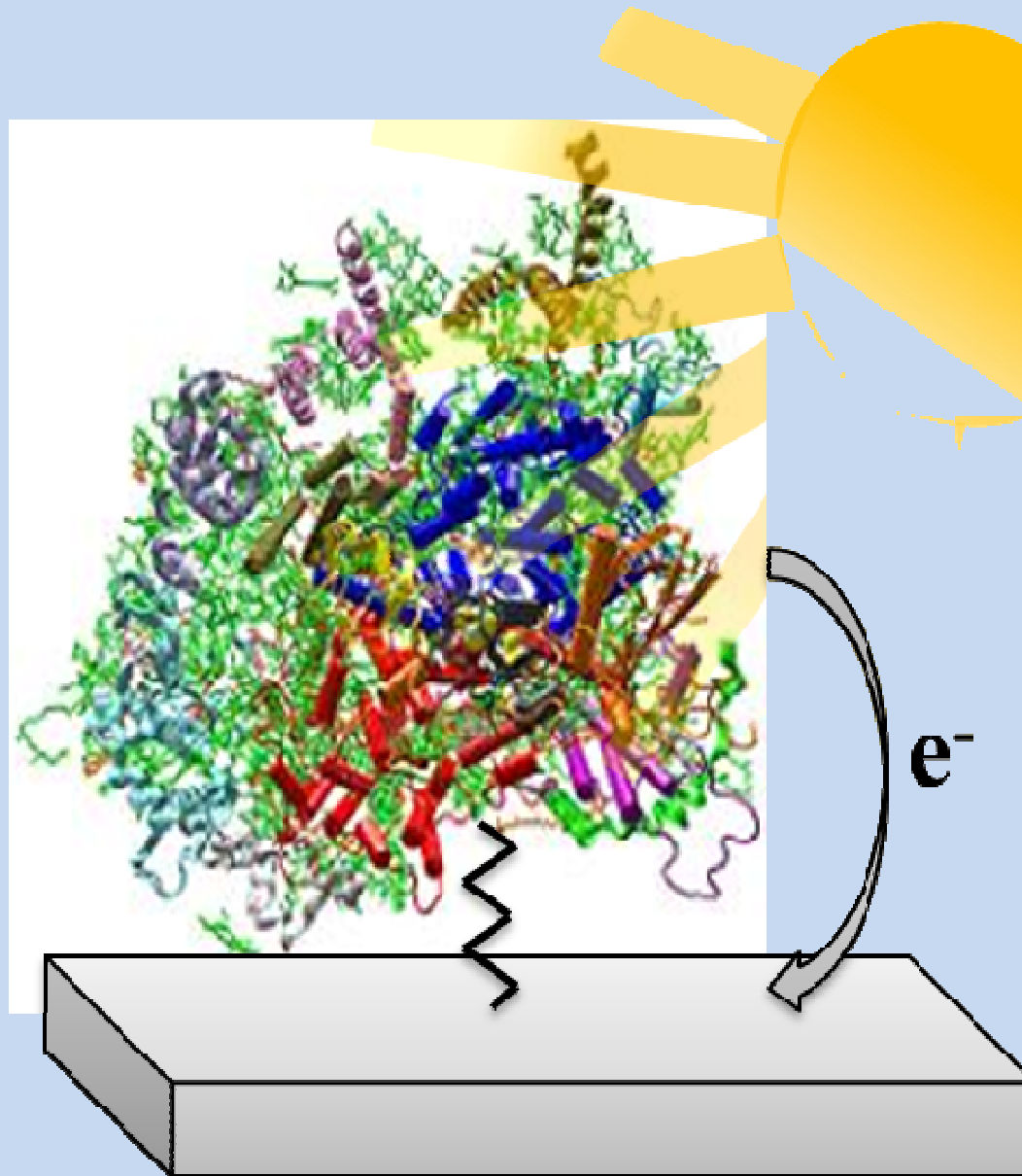


Charge transfer complex – mesterséges fotoszintézis



[C. Lambert](#), Univ.
Würzburg

Charge transfer in diamond-based biohybrid systems for energy harvesting applications



Következtetések

- Az ELI – mint egy rendkívül fejlett mérési technika – új (ma még talán pontosan nem is ismert) lehetőségeket nyit a biológiában és a biomimetikus intelligens vagy hibrid rendszerek kutatásában
- Gyakorlati alkalmazási területek: fotoszintézis, biológiai és mesterséges szoláris energia konverzió; fotobiológia; egyedi molekula szerkezetek – gyógyszertervezés, intelligens anyagok tervezése stb.

Mottó/2:

**ELI (probably) has the solutions
– find the problems!**