

Válasz Dr. Turányi Tamás bírálatában feltett kérdésekre

Köszönöm Turányi Tamás professzornak értekezésem áttanulmányozását és a hozzá fűzött megjegyzéseket és kérdéseket. Nagyon köszönöm elismerő szavait is, és támogatását a MTA doktori cím odaítéléséhez. A bírálatban felvetett kérdésekre azok eredeti sorrendjében a következőket válaszolom:

1. Az említett megjegyzésben nem akartam a néhány Kelvin körüli hőmérsékletekre korlátozni azt a kijelentést, hogy némely eleminek tűnő reakció sebességi állandója csökken a hőmérséklet növekedésével. A szövegrész elején idézett 223-as hivatkozás 2003-ban publikált, a címe szerint aktiválási gátaakkal foglalkozó összefoglaló cikk (Chemical Reviews), amelyben külön fejezet található „negatív hőmérsékletfüggés” címmel. A 224-es hivatkozás oldatreakcióról számol be, amelyben a méréseket szobahőmérséklet körül végezték, s így találtak negatív aktiválási entalpiát. A bekezdésben részletesebben is tárgyalt, 225-ös számmal hivatkozott, 2011-ben publikált cikkben valóban 11 K hőmérsékleten végezték el az elméleti számolások és a kísérleti adatok részletes összehasonlítását. Ezt azért gondoltam jelentősnek, mert itt már a szerzők egyértelműen a kvantummechanikai számolásokban tett közelítéseket (elsősorban a Born–Oppenheimer-közelítést) tartják az elméleti és kísérleti eredmények közötti eltérés okának, és nem a potenciálfelületen elméletileg számolható, de kísérletileg kimutathatatlan effektusokkal értelmezik a jelenséget (ez a helyzet például egy asszociációs reakcióval is, ha nem sikerül kis nyomásokon sem harmadik reaktáns hatását kimutatni bennük). Ez a nézet nagyjából megfelel a saját véleményemnek: a potenciálfelületeken alapuló kvantummechanikai megközelítésben az a feltételezés, miszerint a számunkra érdekes energia csak a magkoordináták függvénye, szerkezeti adatok, tehát alapjában véve eleve stacionárius állapotok számolása esetében minden bizonnyal jól működik, de aligha teljesülhet kivétel nélkül átmeneti állapotokra, amelyek lényege az időbeli változás.

2. Egyetértek a megjegyzéssel, a rekeszrendszer (vagy talán még inkább az angol nyelvű 'compartmental system') is gyakran használt kifejezés ebben az esetben. Az elsőrendű reakciórendszer talán inkább kémiai, a rekeszrendszer pedig inkább matematikai szemléletmódot tükröz.

3. 1992-ben Brücher Ernő tanár úr általános kémia előadásain azt tanultam, hogy a bizmut-209 a legnagyobb tömegszámú, még stabil izotóp. Ezért is volt számomra igen érdekes hír, amikor 2002-ben alfa-bomlásának kimutatásáról olvastam a Nature folyóiratban. Elméleti magfizikusok a nagyon hosszú felezési idejű radioaktív bomlást egyébként már jóval korábban megjósolták. A kísérleti kimutatás számomra jelentős technikai bravúrnak tűnik: olyan szcintillációs kristályt sikerült előállítani, amely saját anyagában tartalmazott bizmutot, s egyben energiaszelektív is volt. A felezési időt a 100 óra alatt detektált 41 bomlásból becsülték meg. Ezt a munkát több szempontból is érdekesnek tartom. Egyrészt a kísérleti adatok sztochasztikus kiértékelésének szükségessége magától értetődő volt a szerzők számára, de ez talán nem meglepő annak fényében, hogy a radioaktív bomlás statisztikus jellegéről egyetemi magkémia előadásokon is szó esik. A kivételesen hosszú felezési idő önmagában is érdekes: a meghatározott $1,3 \cdot 10^{19}$ év éppen egymilliárdszorosa az Univerzum becsült korának. Összehasonlításképp: egymilliárd másodperc közel 32 évet tesz ki. A jelenségről és a kimutatásához vezető kísérletekről egy ismeretterjesztő cikket is írtam (*Középiskolai Kémiai Lapok*, 2009, 36, 1-5). Azt is említésre méltónak tartom, hogy a látszat

ellenére nem a bizmut-209 izotópé a leghosszabb ma ismert felezési idő. Tudomásom szerint ilyen szempontból jelenleg a tellúr-128 a csúcstartó, ennek felezési ideje $2,2 \cdot 10^{24}$ év. Ezt már a bomlások közvetlen megfigyelésével nem lehet mérni, a módszer általában függetlenül ismert keletkezési korú ásványokban felhalmozódott xenonzárványok összetételének meghatározásán alapul.

4. Az előző kérdéssel ellentétben az itt idézett kísérleti adatokat nem tartom különösebben nevezetesnek. Számomra azért voltak lényegesek, mert mindhárom munkában egyetlen enzim molekula aktivitását figyelték meg valós időben, általában fluoreszcenciás detektálási módszert használva. A 84-es hivatkozásban (A pontsor) egy β -galaktozidáz enzimet, a 83-asban (B pontsor) a *Candida antarctica* fajból származó lipáz B-t, a 80-as hivatkozásban (C pontsor) egy koleszterin-oxidáz enzimet vizsgáltak a szerzők. A munkák közös sajátja számomra az volt, hogy bennük ugyan felismerték a sztochasztikus kinetika alkalmazásának szükségességét, de csak nagyon kezdetleges módszert használtak.

5. Nagy általánosságban az A5.8 ábrán nagyobb enzim molekula-szám esetében a determinisztikus tartomány területe a nagyobb. Azonban valóban van rajta olyan furcsa pont (pl. $s_0 = 100$, $N_A V K_M = 10$), amely kisebb enzim molekula-számnál ($e_0 = 50$) a determinisztikus tartomány, míg nagyobb enzim molekula-szám esetében ($e_0 = 100$ vagy 150) a sztochasztikus tartomány része. A jelenség legegyszerűbb magyarázatát úgy lehet megadni, hogy a Michaelis–Menten-mechanizmusban a determinisztikus és a sztochasztikus tartományba való rendelés nemcsak az enzim molekulák számától függ, hanem a szubsztrát- és enzim molekulák számának arányától is. Az enzim molekulák számának növekedése állandó szubsztrát molekula-szám mellett automatikusan a kettő arányának csökkenésével jár. Így az $N_A V K_M$ értékek egy viszonylag szűk tartományában előfordulhat, hogy nagyobb enzim molekula-szám, de kisebb arány esetében már a sztochasztikus tartományba jutunk át a térképen.

6. Az idézett állítás szándékom szerint az egyes állapotokhoz tartozó enantiomerfeleslegre vonatkozott, és nem azok várható értékére, így az eloszlás sajátságainak szerepe nem lehet. Pusztán arra célzott a megjegyzés, hogy az enantiomerfelesleg pl. 10%-os értékének megadása csak úgy teljes, ha azt is megadjuk, melyik enantiomer van feleslegben, vagy esetleg előjelet tulajdonítunk a mennyiségnek, ami viszont kísérleti munkákban egyértelműen nem szokás. Ugyanakkor az egyik enantiomer móltörtjét 0,55-ként megadva további információ nem szükséges.

7. A szövegből kimaradt hivatkozás sorszáma 123. Ebben a munkában Laplace-transzformáció segítségével oldották meg az alapegyenletet.

8. Igen, a determinisztikus folytatás esetében ilyen átmenetet képzelünk el. Arra azonban ügyelni kell, hogy a dolgozatban szereplő determinisztikus térképek általában meghatározott kiindulási körülményekre vonatkoznak, ezek többségében termékmolekulák nincsenek jelen, míg a determinisztikus folytatás esetében már a termékmolekulák jelenlétét is figyelembe kell venni.

9. Az irodalomban nem szokás a Frank-mechanizmusban ajánlott paraméterkészleteket használni; ennek valószínű oka az, hogy közvetlen kísérleti példa egyetlen sem ismert. Az ilyen jellegű munkákban – a saját gondolatmenetemhez hasonlóan – jellemzően a paraméterértékek megváltozásának hatását vizsgálják a rendszer kvalitatív vagy kvantitatív sajátságaira. Az A5.21 és A5.22 ábrák esetében ezen vizsgálat 20 nagyságrend változást fogott át a paraméterértékekben. Persze lehet példát találni arra, hogy egyes szerzők egyetlen konkrét paraméterkészletnél végeznek elméleti számolásokat, ilyen például az értekezésben 90-es sorszámmal idézett cikk, amelyben Cruz

és munkatársai $k_u = 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, $k_c = 1 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ és $k_d = 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ alapértékeket használva vizsgálták a zaj hatását a folyamatra. Ezekből a sztochasztikus kinetikában gyakrabban használt κ_u , κ_c és κ_d állandók az értekezésben szereplő E2.12 egyenlet segítségével az Avogadro-állandó és a rendszer térfogatának felhasználásával számolhatók. Elsőrendű sebességi állandók változatlanul használhatók sztochasztikus számolásokban is, míg másodrendűeknél az Avogadro-állandó és a rendszer térfogatának szorzatával kell osztani az eredeti determinisztikus sebességi állandót. Ebből látható, hogy a reaktor térfogata is alapvető fontosságú paraméter: ebben az esetben is igaz, hogy konkrét érték feltételezése helyett célszerű jelentősebb tartományt átfogni az elméleti számolásokban.

10. A kérdésben említett szakadék az A5.22 ábrán jelenik meg, amely a hagyományos és a hozammal korrigált enantiomerfelesleg várható értékét mutatja be a κ_c/κ_f és a κ_d/κ_f paraméterek függvényében állandó $\kappa_u/\kappa_f (= 1)$ mellett. A két ábrából levonható általános következtetés az, hogy kellően nagy κ_c/κ_f arány esetében kicsi és nagy κ_d/κ_f értékeknél is gyakorlatilag homokirális stacionárius állapot várható a reaktorban, míg közepes (az ábrán éppen 10^{-3} körüli) κ_d/κ_f arányoknál nem ez a helyzet. Először számolási hibára gyanakodtunk, ami már csak azért is lehetséges volt, mert az egyenletrendszer megoldásához használt iterációs eljárás konvergenciatulajdonságairól gyakorlatilag semmit nem sikerült bizonyítani. Azonban a jelenség – ha nem is ilyen látványos mértékben – olyan kis molekulaszámoknál is jelentkezett, ahol a matematikailag kifogástalan eliminációs egyenletmegoldási módszert is használható volt. Magamban a következőképpen értelmeztem ezt a megfigyelést: az ábrán küszöbértéknek tekinthető κ_c/κ_f arány fölött a reaktor stacionárius állapotában kiindulási anyag gyakorlatilag nincsen, mert reakciói nagyon gyorsak. Ilyen körülmények között kicsi κ_d/κ_f esetében a kölcsönös antagonizmus lépése nem játszik szerepet, s a végállapotban a reaktor vagy egyik, vagy másik enantiomert tartalmazza. Nagy κ_d/κ_f értékeknél a B_R és B_S molekulák a kölcsönös antagonizmus miatt semmiképpen nem lehetnek egyszerre jelen a rendszerben, emiatt C sem halmozódhat fel. Közepes κ_d/κ_f értékeknél viszont B_R , B_S és C is egyszerre lehet jelen stacionárius állapotban, s az enantiomerek szempontjából szimmetrikus közvetlen reakció (k_u) relatív súlya megnő, mert az autokatalitikus lépés kissé visszaszorul a B_R és B_S molekulák, vagyis az autokatalizátor eltávolítása miatt.

11. Az eredeti munkában kis részecskeszámokra ($N = 10\text{--}15$) a kétféle módszer összehasonlítását igen részletesen elvégeztük. Ennek fő oka az volt, hogy a megoldandó lineáris egyenletrendszer mátrixa olyan volt, hogy sem a Jacobi- sem a Gauss–Seidel-iteráció nem konvergált, így egyedi iterációs eljárást kellett kidolgoznunk. Lényegében a Gauss–Seidel-módszert használtuk az E5.119 lineáris egyenletrendszerben, az ismeretlenek E5.106 rendezőfüggvény szerinti sorrendjében. Az iterációs javítások során az ismeretlen nem vehetett fel 0-nál kisebb vagy 1-nél nagyobb értéket. Az összes változó iterációs javítása után mindegyiket elosztottuk a kapott javított értékek összegével, így az E5.120 egyenlet mindig pontosan teljesült. Ezen módszer iterációs konvergenciasajátságairól semmit nem tudtunk bizonyítani. Ezért is volt lényeges a lehetőségek szerint minél részletesebb összehasonlítás az eliminációs módszerrel. Az eljárás minden kipróbált esetben a helyes megoldás felé konvergált, de a konvergencia elég lassúnak bizonyult, általában több száz iterációs lépésre volt szükség még kicsi N -ekre is ($N = 15$). Így igazából az iterációs számolásoknál a megállási feltételek meghatározásánál alig volt támpontunk, ezért általában rögzített iterációs számot használtunk. Magát

a megtalált megoldást az eredeti egyenletbe való behelyettesítéssel ellenőriztük, innen származik a pontosságra vonatkozó kb. 1%-os becslés.

12. A Gillespie-algoritmust valóban nagyon sokat hivatkozzák a szakirodalomban, ez számomra lényegében CDS alapelveken nyugvó Monte Carlo szimuláció. Tapasztalataim szerint ezt az algoritmust képes megvalósítani a Copasi szimulációs program, amelyre egyébként éppen a bíráló hívta fel a figyelmet néhány évvel ezelőtt. Az említett *Mathematica applet* és a *Cain: Stochastic Simulations for Chemical Kinetics* ugyanezt az algoritmust használja; az utóbbi esetben több, a szimuláció gyorsítását célzó változat között lehet választani. Munkánk során az esetek nagy részében inkább az alapegyenlet megoldásait kerestük, s szimulációt keveset használtunk, csak a Soai-reakció modellezésénél volt ilyen számításoknak lényegi szerepe. A számítástechnikai erőforrások minél takarékosabb felhasználása alapvető fontosságú volt, hiszen általában minél nagyobb részecskeszámra szerettem volna következtetéseket levonni. Ezért amikor szimulációt használtunk, előnyösebbnek láttuk minden saját esetben külön kódot írni, hiszen ez igazodhatott az adott probléma sajátosságaihoz, s így hatékonyabb volt, mintha egy általános programot használtunk volna. A szimulációk során a megfordítható reakciók így is igen nagy problémát okoztak, ezek megoldására szintén egyedi eljárást kellett találnunk.

Természetesen be kell látnom azt, hogy a bíráló által a 130-131. és 135. oldalról idézett sorok az irodalmi előzmények kicsit mélyebb ismeretében túlzóak. Mentségemre csak azt hozhatom fel, hogy a királis autokatalitikus jelenségek értelmezésében a sztochasztikus kinetika majdnem ismeretlen volt, illetve azt, hogy amint azt a 4. kérdésre adott válaszban már kifejtettem, az egyetlen enzim-molekula aktivitását tanulmányozó kísérleti munkák indokolatlanul leegyszerűsített kiértékelési módszereket használtak. Az enzimkinetika esetében számomra az sztochasztikus alapegyenlet és a belőle következő valószínűségi eloszlások vizsgálata a szimulációk végzésénél lényegesen kedvezőbbnek látszik. Errefelé tett lépést az értekezés megírása után elvégzett munkám alapján született közlemény:

Gábor Lente: A binomial stochastic kinetic approach to the Michaelis–Menten mechanism. *Chemical Physics Letters*, **2013**, DOI: 10.1016/j.cplett.2013.03.011.

Végezetül ismételtelen szeretném megköszönni Dr. Turányi Tamás munkáját, amelyet az értekezés áttekintésébe fektetett.

Debrecen, 2013. március 22.



Lente Gábor