

KAPITEL 3

MESSUNGEN

3.1 Einfluß der Umgebung auf das stationäre Fluoreszenzspektrum

Um den Einfluß, den die Umgebungsbedingungen auf die spektralen Eigenschaften der PS I Probe ausüben (siehe Abschnitt 1.5 „Detergens-Bedingungen“), abschätzen und berücksichtigen zu können, wurden stationäre Fluoreszenzspektren aufgenommen von identischen Proben mit unterschiedlichem Detergens- und Glycerolgehalt. Dabei wurde der Detergens-Gehalt variiert von $3 \cdot 10^{-5}$ % bis $2 \cdot 10^{-1}$ % w/v β -DM (ohne Zugabe von Glycerol). In separaten Meßreihen mit β -DM Konzentrationen von $3 \cdot 10^{-5}$ %, $1 \cdot 10^{-3}$ % und $1 \cdot 10^{-2}$ % w/v wurde der Glycerolgehalt jeweils variiert von 10 % bis 65 % w/v.

Die Anregung der Fluoreszenz erfolgte bei 430 nm mit 16 nm Spaltbreite, die Aufnahme der Emission im Bereich 630 nm bis 850 nm mit 2 nm Spaltbreite, Scangeschwindigkeit 1 nm/1s, Probentemperatur 18°C.

Detergens-Gehalt

Abb. [3.1] zeigt die detektorkorrigierten, auf gleiche Amplitude bei 800 nm normierten Emissionsspektren für Proben mit unterschiedlichem β -DM Gehalt. Alle Fluoreszenzspektren zeigen deutlich zwei Banden: eine um 680 nm und eine um 720 nm.

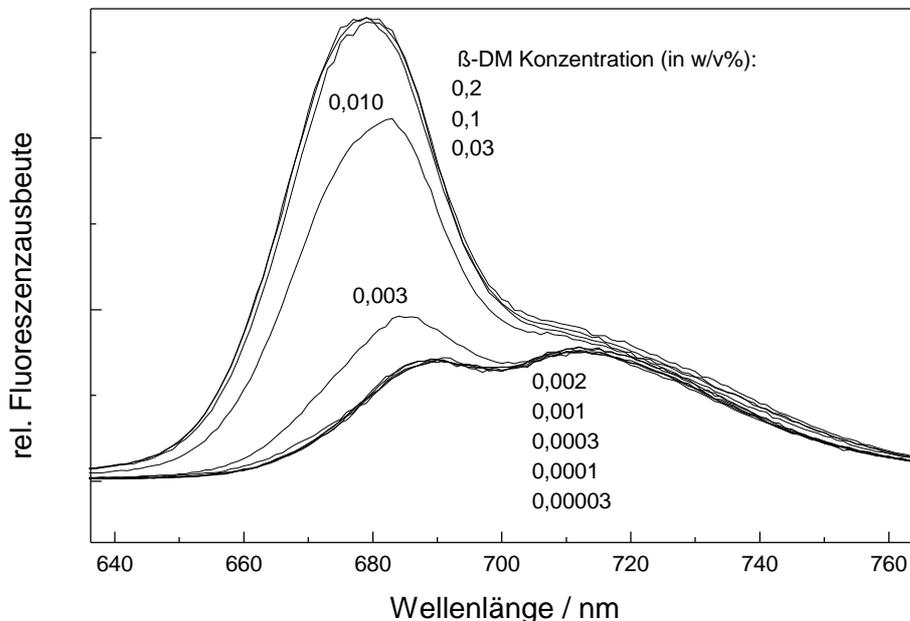


Abb. [3.1]

Abhängigkeit des stationären ZT Emissionsspektrums von PS I aus *Synechococcus el.* von der Detergens-Konzentration im Puffer. Normierung auf gleiche Amplitude bei 800 nm

Das Größenverhältnis dieser Banden, die Lage des Maximums der linken Bande und die Gesamtausbeute der Fluoreszenz ändern sich in Abhängigkeit vom Detergensgehalt der Proben. Mit zunehmender Detergengkonzentration wird das Maximum der Bande bei 680 nm blauverschoben, nimmt an Intensität sowohl im Verhältnis zur 720 nm Bande als auch absolut zu. Letzteres ist in Abb. [3.1] durch die Normierung nicht zu erkennen. Diese spektralen Veränderungen geschehen nicht kontinuierlich, sondern setzen mit dem Überschreiten einer bestimmten Detergengkonzentration ein. Vorher lassen sich die Spektren durch Normieren zur Deckung bringen, d.h. sie sind formidentisch. Diese „Grenzkonzentration“ liegt ungefähr bei 0.003 %, also leicht unterhalb der CMC mit 0,009 % w/v. In Proben mit Detergens-Konzentration oberhalb der CMC dominiert die Fluoreszenzbande bei 680 nm, für Proben mit Detergengkonzentrationen unter der kritischen Konzentration ist die Bande bei 720 nm dominant.

Glycerol-Gehalt

Abb. [3.2] zeigt die detektorkorrigierten, auf gleiche Amplitude bei 800 nm normierten Emissionsspektren für Proben mit unterschiedlichem Glycerolgehalt bei einer β -DM Konzentration von 0,001 %. Erhöhte Glycerolkonzentration hat für Detergengkonzentrationen unter $3 \cdot 10^{-3}$ % keinen sichtbaren Effekt. Sehr hohe Glycerolkonzentration (= 50 %) hat eine leicht verringerte Ausbeute zur Folge, wobei sich die rechte Bande stärker verringert als die linke.

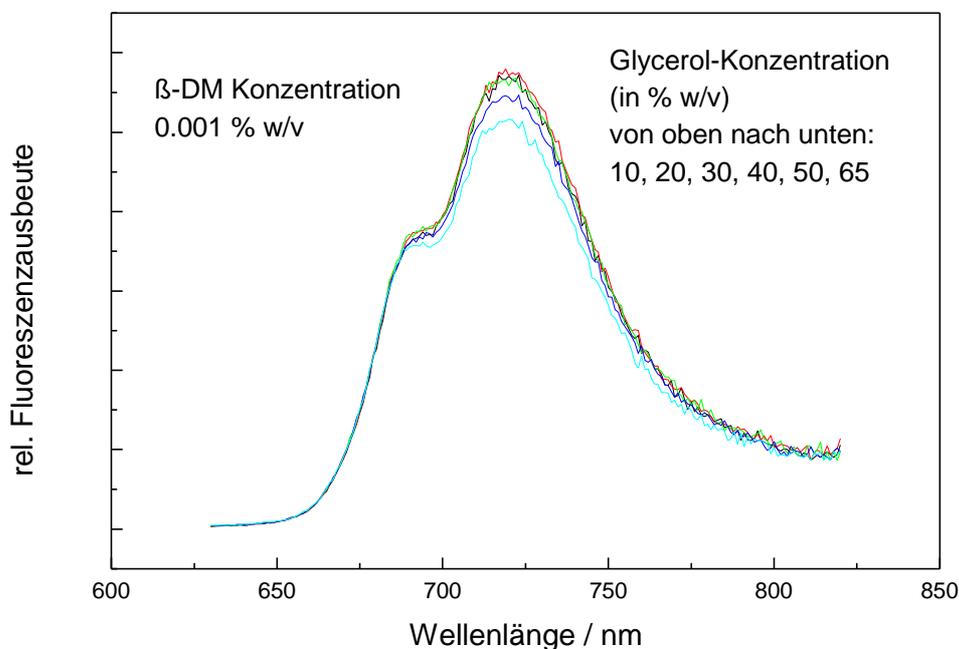


Abb. [3.2]

Abhängigkeit des stationären ZT Emissionsspektrums von PSI aus *Synechococcus el.* von der Glycerol-Konzentration im Puffer bei einem β -DM Gehalt von 0,001 % w/v.

Abb. [3.3] zeigt die detektorkorrigierten, auf gleiche Amplitude bei 800 nm normierten Emissionsspektren für Proben mit unterschiedlichem Glycerolgehalt bei einer β -DM Konzentration von 0,01 % w/v.

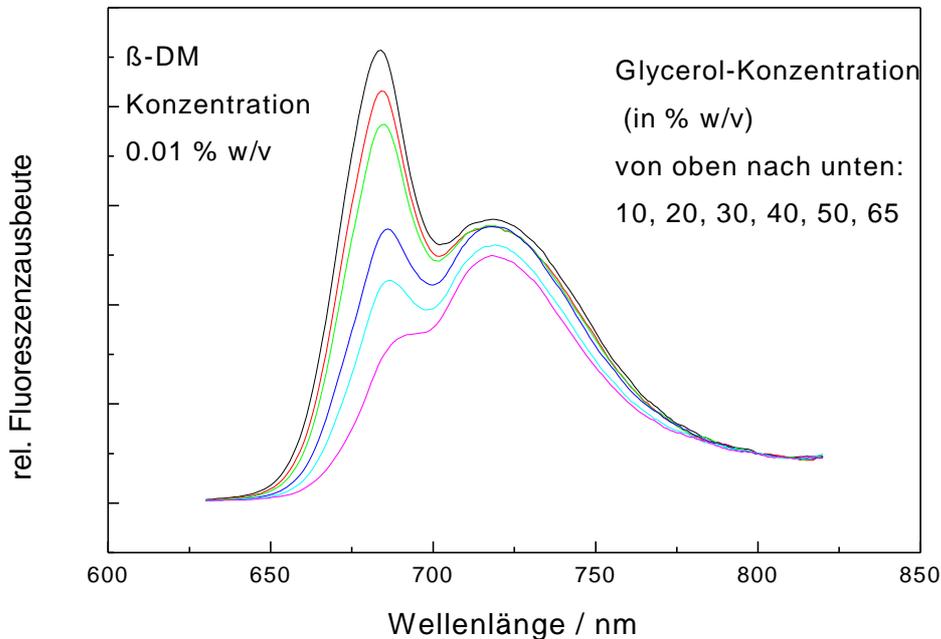


Abb. [3.3]

Abhängigkeit des stationären ZT Emissionsspektrums von PSI aus *Synechococcus el.* von der Glycerol-Konzentration im Puffer bei einem β -DM Gehalt von 0,01 % w/v.

Für eine Detergengkonzentration von 0.01 % ergeben sich bei Glycerolkonzentrationen von 50 % bzw. 65 % Spektren, die denen mit geringer Detergengkonzentration ähneln. Mit abnehmender Glycerolkonzentration hingegen nimmt in den Spektren die 680 nm Bande an Intensität zu.

Erhöhung der Glycerol-Konzentration wirkt also tendenziell die linke Bande abschwächend.

In allen Lösungen mit dominierender 720 nm-Bande bilden sich im Zeitbereich von einigen Sekunden grüne Körnchen, die mit der Zeit absinken. Durch Zentrifugieren kann eine schnelle Trennung von klarem Puffer und grünem Bodensatz herbeigeführt werden. Nach zwei Wochen ist diese Trennung auch ohne Zentrifugieren beobachtbar, nicht jedoch in den Proben mit „überkritischem“ Detergensgehalt, also mit dominierender 680 nm-Bande.

Verringerung der Detergengkonzentration unter eine kritische Schwelle wird also begleitet von Veränderungen des Fluoreszenzspektrums sowie vom Aggregieren der Probe.

Veränderungen des Fluoreszenzspektrums als *Folge* der Aggregation können ausgeschlossen werden aufgrund der Beobachtung, daß sich während der Bildung der Körnchen zwar die Gesamtintensität des Fluoreszenzspektrums mit der Zeit ändert, nicht aber die Form.

Die veränderte Form der Fluoreszenzspektren könnte folgendermaßen erklärt werden: Es wird eine bestimmte Menge an Detergens benötigt, um den Proteinkomplex in Lösung zu halten. Wird diese Menge unterschritten, aggregiert das Protein und fällt aus, wird sie überschritten, beginnen die überschüssigen Detergens-Moleküle, einzelne Chlorophylle aus dem Protein zu lösen, was den Energietransfer über diese Chlorophylle beeinträchtigt.

Die Spektren mit der am schwächsten ausgeprägten 680 nm Bande scheinen also für ein am ehesten intaktes System zu sprechen. Dies sollte der Zustand sein, den zu beobachten sinnvoll ist. Andererseits sollte die Probenlösung für Fluoreszenzuntersuchungen möglichst homogen und streuarm sein. Es gilt also, Aggregationserscheinungen zu vermeiden. Nicht ausgefallen sind jedoch nur Lösungen mit Detergengkonzentration über 0,003 %, also mit starker 680 nm Bande oder mit einem Glycerolanteil über 50 %, diese auch für niedrigere Detergengkonzentrationen bis zu $3 \cdot 10^{-5}$ %.

Native Spektren ohne Streuung sind also nur mit viel Glycerol erhältlich bei beliebiger Detergengkonzentration, während native Spektren mit Streuung auch ohne Glycerol erhältlich sind bei Detergengkonzentrationen unter 0.003 % und Durchmischung des Systems durch Rühren oder Pumpen. Wenig Glycerol (< 50 %) oder viel Detergens (> 0.003 %) führt unabhängig von einer Durchmischung zu deformierten Fluoreszenzspektren. Deshalb wurden für die ZT Fluoreszenzmessungen mit Pikosekunden-Zeitauflösung Proben mit einem Detergensgehalt von 0.002 % β -DM benutzt, um sicherzustellen, daß ein möglichst geringer Anteil der Chlorophyll-Moleküle aufgrund von Detergens-Einflüssen im Anregungsenergie-Transfer behindert wird.

3.2 Fluoreszenz-Induktion

Wie bereits erwähnt (siehe Abschnitt 2.2), wird bei Fluoreszenz-Induktions-Experimenten die Änderung der Fluoreszenzausbeute beim „Schließen“ des Reaktionszentrums gemessen, d.h. im Falle von PS I, bei der Oxidation von P700 zu P700⁺. Alle vorgestellten Experimente wurden mit unspezifischer Anregung bei 631 nm durchgeführt.

Zimmertemperatur

Abb. [3.4] zeigt den Verlauf der Fluoreszenzausbeute, wie er nach dem Einschalten des Anregungslichtes (Nullpunkt der Zeitachse) beobachtet wird.

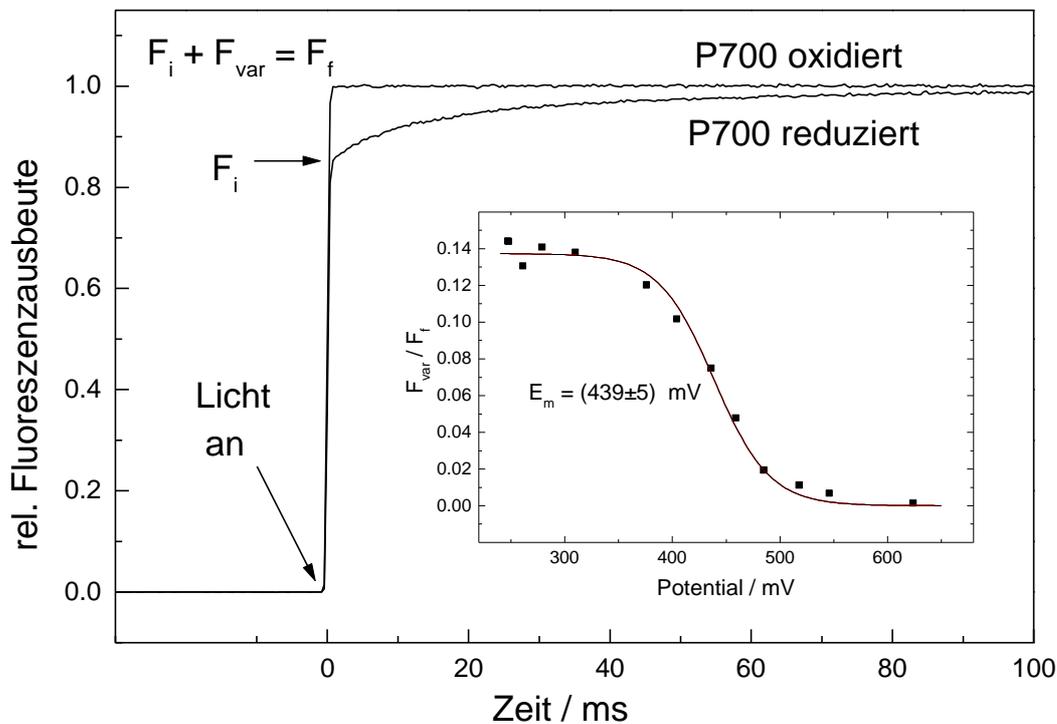


Abb. [3.4]

Abhängigkeit der Fluoreszenzausbeute bei Zimmertemperatur vom Öffnungszustand des RZ

Obere Kurve: Anfangs geschlossene RZ, untere Kurve: anfangs geöffnete RZ

Kleines Bild: Abhängigkeit der normierten variablen Fluoreszenz $F_{var}/F_i = (F_f - F_i)/F_f$ vom in der Pufferlösung eingestellten Redoxpotential.

Die untere Kurve wurde für eine Probe mit anfangs geöffnetem RZ (Dunkeladaptation in Gegenwart von Natriumascorbat) erhalten. Die Fluoreszenzausbeute steigt deutlich vom

Anfangswert F_i zum Endwert F_f an. Die Amplitude dieses Anstiegs, die sogenannte variable Fluoreszenz F_{var} , variiert für unterschiedliche Präparationen. Ein Mittelwert über alle Messungen läßt sich zu $12 \pm 5 \%$ des Endwertes F_f angeben. Die obere Kurve wurde mit einer vorbelichteten Probe, d.h. mit geschlossenen RZ, erhalten. In diesem Fall konnte keine Änderung der Fluoreszenz-Ausbeute beobachtet werden, was darauf hinweist, daß die Fluoreszenz-Zunahme unter Beleuchtung tatsächlich auf die Photo-Oxidation des primären Donators P700 zurückzuführen ist. Zur Erhärtung dieses Befundes wurde eine Redox-Titration (siehe Abschnitt 2.2 „Redox Titration“) der normierten variablen Fluoreszenz durchgeführt. Eine Anpassung mit der Nernstgleichung an die Titrationskurve (kleines Bild in Abb. [3.4]) ergab ein Mittelpunkt-Potential von 439 ± 5 mV. Dieser Wert ist in guter Übereinstimmung mit dem Literaturwert. Von Webber et al. (1996) wurde das Mittelpunkt-Potential für die Oxidation von P700 mittels Blitzlicht-Absorptionsbleichung zu 447 ± 6 mV bestimmt. Dazu fanden PS I Kernantenne-RZ-Komplexe aus *Synechococcus el.* Verwendung, die identisch waren zu den hier verwendeten.

Tiefemperatur

Um die Rolle der Einstellung eines thermischen Gleichgewichts zwischen den spektral verschiedenen Pigmenten zu verfolgen, wurden Fluoreszenz-Induktions-Messungen bei mehreren Temperaturen bis hin zu 5 K durchgeführt.

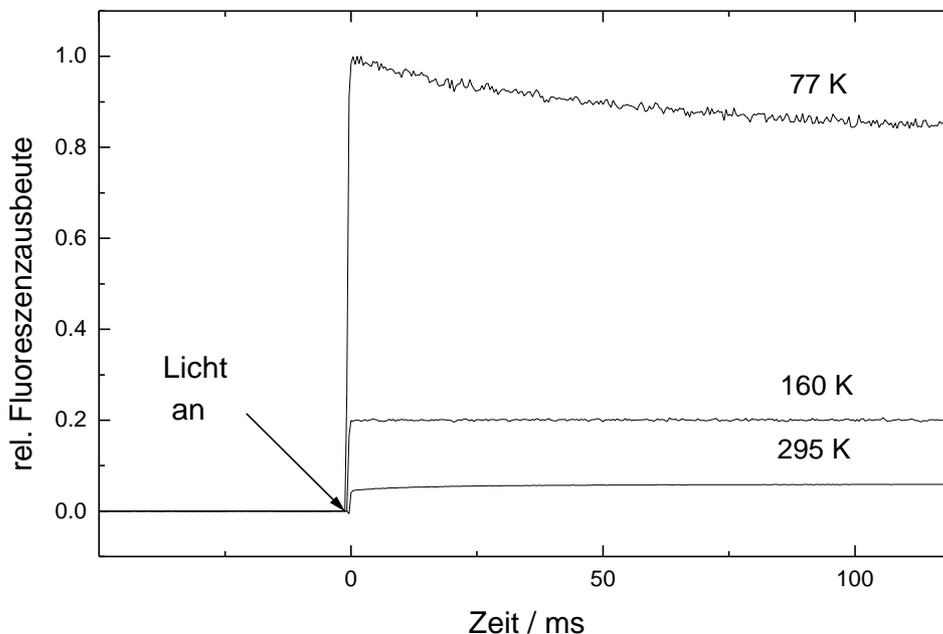


Abb. [3.5]

Abhängigkeit der Fluoreszenzausbeute vom Öffnungszustand des RZ für Proben mit anfänglich offenem RZ bei verschiedenen Temperaturen

Abb. [3.5] zeigt in aufsteigender Reihenfolge Induktions-Kurven bei 295 K, 160 K und 77 K für Proben mit anfangs offenem RZ. Zwei Effekte fallen ins Auge: erstens steigen sowohl Anfangs- als auch Endwert der Fluoreszenz mit fallender Temperatur an, und zweitens verschwindet der Induktionseffekt bei ungefähr 160 K und taucht für niedrigere Temperaturen wieder auf, allerdings mit umgekehrten Vorzeichen. Das weist darauf hin, daß die Löscheffizienz von $P700^+$ im Vergleich zu der von P700 mit fallender Temperatur zunimmt.

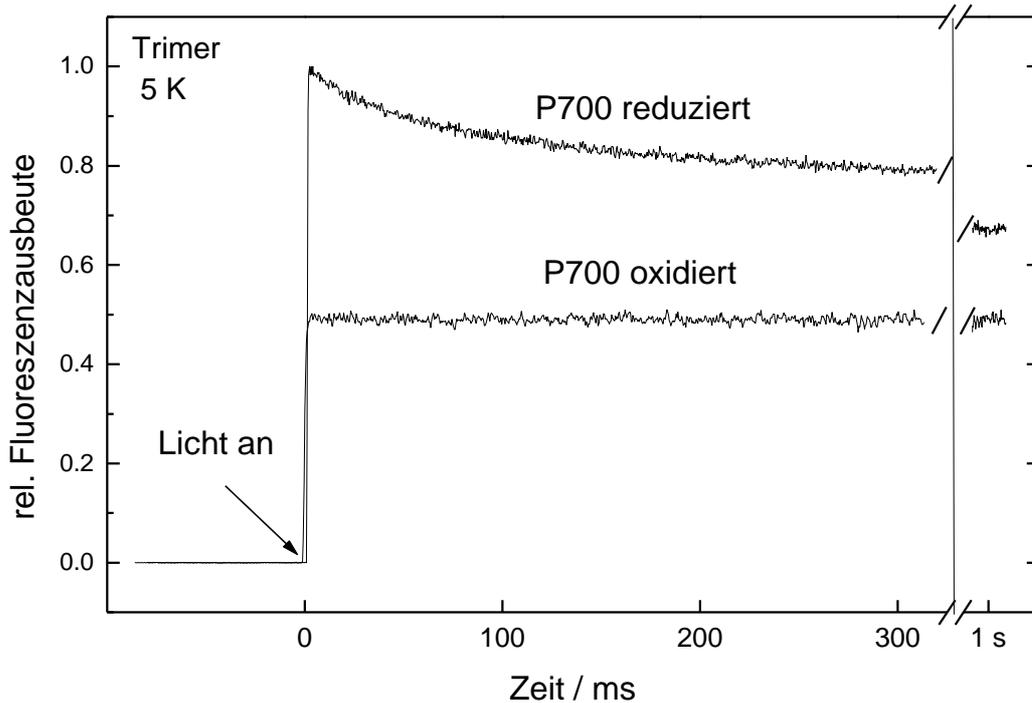


Abb. [3.6]

Abhängigkeit der Fluoreszenzausbeute vom Öffnungszustand des RZ für Proben mit anfänglich offenem RZ (obere Kurve) und anfänglich geschlossenem RZ (untere Kurve) bei 5 K. Das Endniveau für die obere Kurve wird erst nach ~ 1 s erreicht.

Abb. [3.6] zeigt die Fluoreszenz-Induktions-Transienten bei 5 K sowohl für eine Probe mit anfänglich offenem RZ (obere Kurve) und anfänglich geschlossenem RZ (untere Kurve). Ein Vergleich dieses Bildes mit den beiden vorhergehenden ergibt erstens, daß die Zeit bis zum Erreichen des Endwertes der Fluoreszenz F_f mit fallender Temperatur zunimmt, und zweitens, daß bei genügend niedrigen Temperaturen selbst nach langandauernder Belichtung nicht mehr das Fluoreszenzniveau von anfangs geschlossenen Proben erreicht wird. Aus diesen Effekten kann man schließen, daß unterhalb einer gewissen Temperatur im Dunkeln eingefrorene Proben

mit offenem RZ durch Belichtung nicht mehr komplett geschlossen werden können. Diese Beobachtung ist in Übereinstimmung mit dem Befund von (Schlodder et al. 1998), daß unterhalb einer bestimmten Temperatur der Vorwärts-Elektronen-Transfer von $A_1^?$ nach F_X in einem Teil der PS I Zentren ausgefroren ist. Das führt zu einer erhöhten Ausbeute an Ladungs-Rekombination vom Zustand $\{P700^+, A_1^?\}$ in den Grundzustand $\{P700, A_1\}$, wonach PS I wieder im offenen Zustande vorliegt. Diese Rekombination erfolgt ausreichend schnell (vergl. Gl. [2.4]), daß selbst unter konstanter Belichtung der oxidierte Donor nicht akkumuliert werden kann.

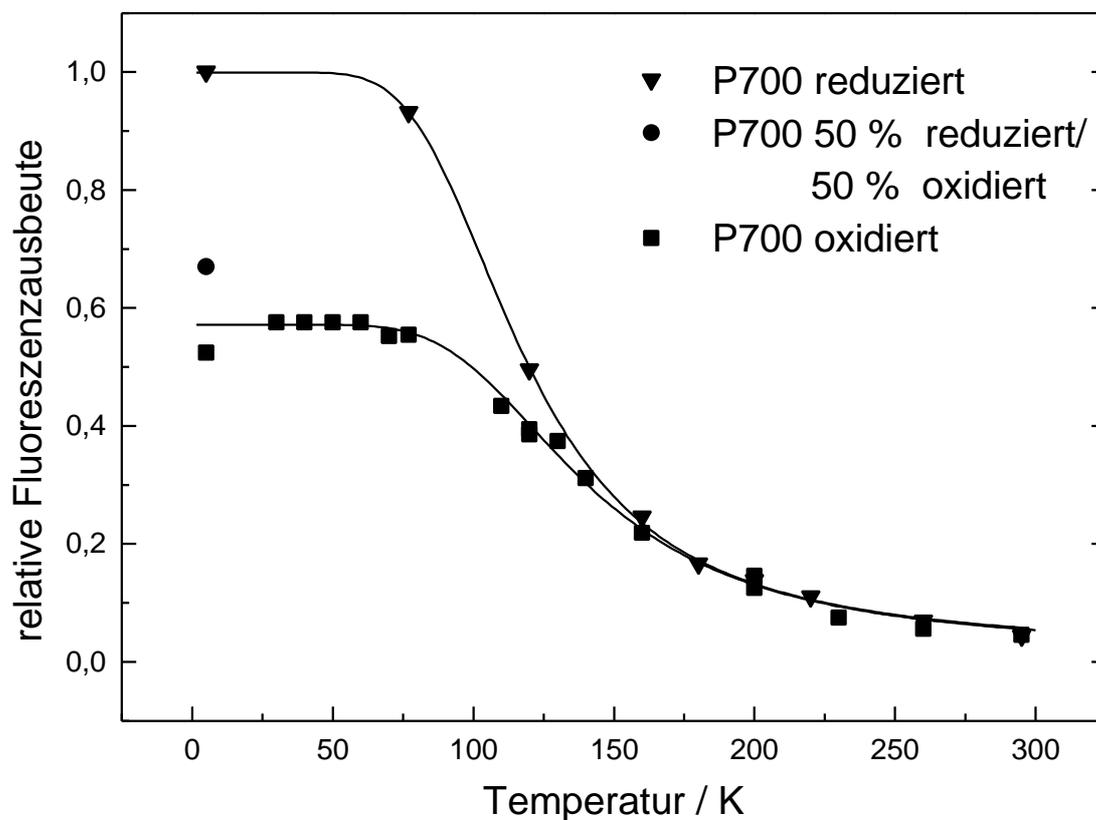


Abb. [3.7]

Temperaturabhängigkeit der Fluoreszenzausbeute für Proben mit offenem RZ (Dreiecke), geschlossenen RZ (Quadrate) und Proben mit einem Gemisch aus ungefähr gleichen Teilen offener und geschlossener RZ (Kreis).

Abb. [3.7] zeigt die Temperaturabhängigkeit der Fluoreszenzausbeute für Proben mit offenem RZ F_i (Dreiecke) und geschlossenem RZ (Quadrate) integral gemessen über den gesamten Wellenlängenbereich > 665 nm. Im Vergleich zur Zimmertemperatur erhöht sich die Fluoreszenzausbeute bei 5 K für PS I mit offenem RZ um einen Faktor von ~ 20 , während für PS I mit geschlossenem RZ dieser Faktor ~ 10 beträgt. Zusätzlich ist die Temperaturabhängigkeit des End-Fluoreszenzniveaus F_f von PS I mit anfangs offenem RZ gezeigt (Kreise). Dieses Niveau

liegt über den gesamten Temperaturbereich zwischen den Werten für offenes und geschlossenes RZ, unterhalb 160 K jedoch näher zu geschlossenen. Abb. [3.8] zeigt die Wellenlängenabhängigkeit der Fluoreszenzausbeute für Proben mit offenem RZ F_i (Dreiecke) und geschlossenem RZ (Quadrate) bei 5 K. Zusätzlich ist die Wellenlängenabhängigkeit des End-Fluoreszenzniveaus F_f von PS I mit anfangs offenem RZ gezeigt (Kreise). Alle diese drei Messungen wurden an ein und derselben Probe bei wiederholten Kühlzyklen aufgenommen. Deshalb sind die Amplituden der Kurven absolut vergleichbar, da aufgrund der identischen Meßbedingungen (Chlorophyllgehalt der Probe, Strahlengang) keine Normierung der Spektren erforderlich war. Solches war für die zeitaufgelösten Messungen im Pikosekundenbereich nicht erreichbar. Die Flächen unter den drei Kurven verhalten sich wie 6:4:3. Das stimmt mit der Lage der Punkte für 5 K in der vorherigen Abb. [3.7] überein.

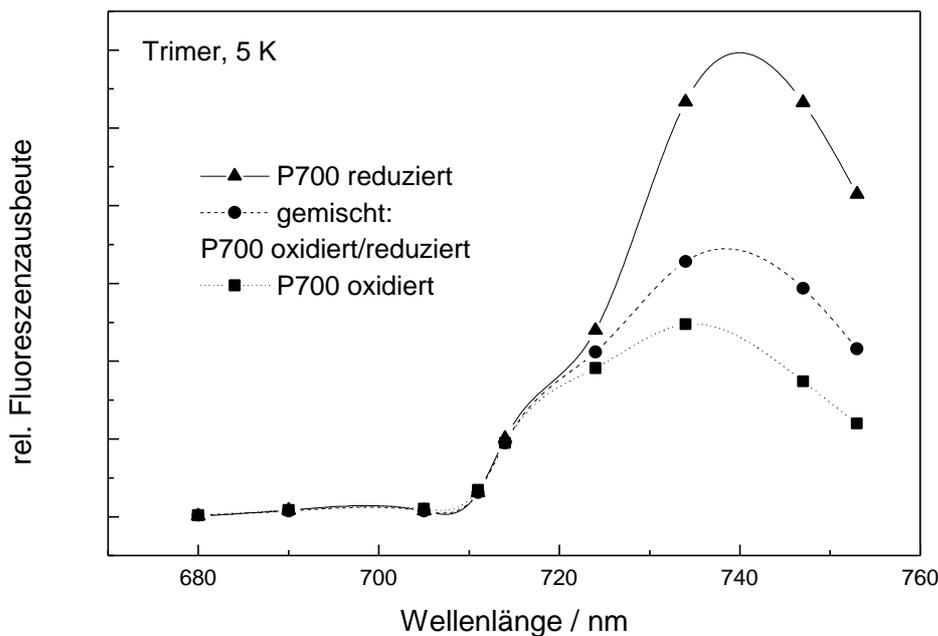


Abb. [3.8]

Stationäre Fluoreszenzspektren (nicht Detektor-korrigiert) für Proben mit offenem RZ (Dreiecke), geschlossenem RZ (Quadrate, gepunktet) und Proben mit einem Gemisch aus ungefähr gleichen Teilen offener und geschlossener RZ (Kreise, gestrichelt)

Es ist deutlich zu erkennen, daß für offenes RZ das Emissionsmaximum rotverschoben ist gegenüber dem für geschlossenes RZ. Für Wellenlängen < 720 nm lassen sich keine spektralen Unterschiede ausmachen.

3.3 ps-Fluoreszenz bei Zimmertemperatur

Zeitaufgelöste Einzelphotonenzählung mit Pikosekunden-Zeitauflösung wurde angewandt, um Fluoreszenzzerfälle bei Zimmertemperatur aufzunehmen an PS I Kernantenne-RZ-Komplexen aus *Synechococcus el.* mit offenem und geschlossenem RZ. Die Anregung erfolgte unspezifisch bei 631 nm, die Emission wurde bei verschiedenen Wellenlängen zwischen 665 nm und 745 nm aufgenommen. Die spektrale Bandbreite des Monochromators betrug 5 nm für Messungen an Proben mit geschlossenem RZ und 10 nm für Proben mit offenem RZ. Abb. [3.9] zeigt die *in situ* registrierten (vergl. letzter Punkt in Abschnitt 2.3), korrigierten stationären Fluoreszenzspektren für beide Zustände. Der Flächenunterschied beider Spektren beträgt 8 % der Fläche des Spektrums für geschlossenes RZ und bestätigt damit den mittels Fluoreszenz-Induktion gefundenen Unterschied in der Fluoreszenzausbeute für beide Zustände. Eine Veränderung der *Form* des Fluoreszenzspektrums konnte nicht reproduzierbar nachgewiesen werden. Nachdem sie im Maximum auf eins normiert wurden, dienten die stationären Spektren zur Skalierung der DAS.

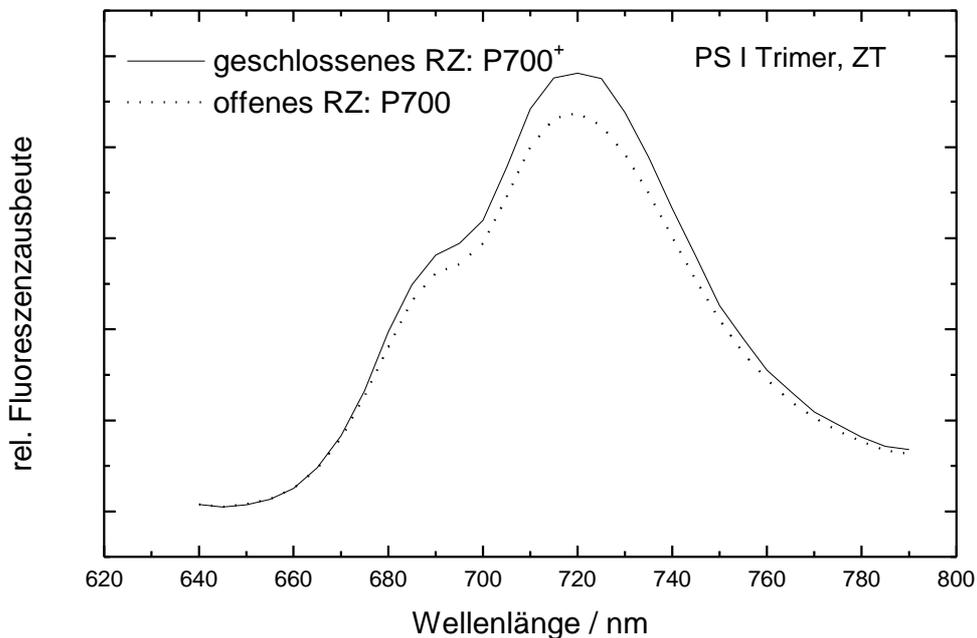


Abb. [3.9]

In situ (d.h. unter identischen Bedingungen) registrierte korrigierte stationäre Fluoreszenzspektren für trimeres PS I mit offenem RZ (gepunktet) und mit geschlossenem RZ (durchgehend) bei ZT. Der Flächenunterschied beträgt 8 % der Fläche unter der durchgehenden Kurve.

Geschlossene Zentren

Die Kinetik des Fluoreszenzzerfalls für geschlossene Zentren konnte mit einem Satz von vier Lebensdauern beschrieben werden. Die Einführung einer fünften Lebenszeit konnte die Qualität unserer Globalanalysen nicht wesentlich verbessern und erschien daher nicht gerechtfertigt.

Abb. [3.10] zeigt die DAAS für geschlossene Zentren bei ZT. Um einen besseren Vergleich zu ermöglichen zwischen Pikosekunden-Fluoreszenzkinetiken und den Veränderungen in der Fluoreszenzausbeute, die die Fluoreszenz-Induktions-Experimente (Bilder [3.4] bis [3.7]) zeigen, werden die Pikosekunden-Daten auch als zerfallsassoziierte Ausbeute-Spektren (DAYS) dargestellt (Abb. [3.11] für Proben mit allen RZ im geschlossenen Zustand). Hierbei wurde das Amplituden-DAS einer jeden Komponente mit der zugehörigen Lebensdauer multipliziert. Somit erhält man den relativen Beitrag einer jeden Zerfallskomponente zur stationären Fluoreszenzausbeute.

Die kürzeste Komponente von 13 ± 2 ps zeigt ein Spektrum, das sowohl positive Amplituden (Fluoreszenz-Zerfall) aufweist bei Wellenlängen < 700 nm als auch negative Amplitudenwerte (Anwachsen der Fluoreszenz) bei Wellenlängen > 700 nm. Eine solche spektrale Form wird Anregungsenergie-Transferprozessen zugeschrieben von kurzwellig (< 700 nm) absorbierenden Chlorophyll-Molekülen zu den roten Pigmenten, wiedergegeben durch eine Fluoreszenzabnahme unter 700 nm und eine entsprechende Fluoreszenzzunahme für Wellenlängen > 700 nm. (Holzwarth et al. 1993; Turconi et al. 1993; Hastings et al. 1994a; Dorra et al. 1998; Gobets et al. 1998). Die Fläche, die vom positiven Teil des Spektrums (< 700 nm) und der Abszisse eingeschlossen wird, ist bemerkenswerterweise nicht gleich der Fläche, die vom negativen Teil des Spektrums (> 700 nm) und der Abszisse eingeschlossen wird. Dies ist *nicht* im Widerspruch zur Energieerhaltung und wird im Kapitel 4 noch eingehender diskutiert, da sich daran ein Argument hinsichtlich möglicher kinetischer Limitierung des Anregungseinfangs knüpft.

Die überall positive 37 ps Komponente mit einem Maximum bei ~ 720 nm und einer Schulter bei ~ 690 nm ist mit einem 1 σ -Vertrauensintervall von 1 ps sehr genau bestimmt. Sie wird in Übereinstimmung mit der Literatur dem Gesamt-Abbau des Anregungszustandes im Kernantenne-RZ-Komplex zugeschrieben (Holzwarth et al. 1993; Turconi et al. 1993, 1994; Hastings et al. 1994a; Dorra et al. 1998; Gobets et al. 1998). In offenen Zentren erfolgt dieser Abbau durch die primäre Ladungstrennung, während in geschlossenen Zentren ein anderer Mechanismus angenommen werden muß (siehe Abschnitt 5.1).

Abb. [3.10]

Abhängigkeit der Amplitude verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für trimeres PSI mit geschlossenen RZ bei Zimmertemperatur von der Wellenlänge

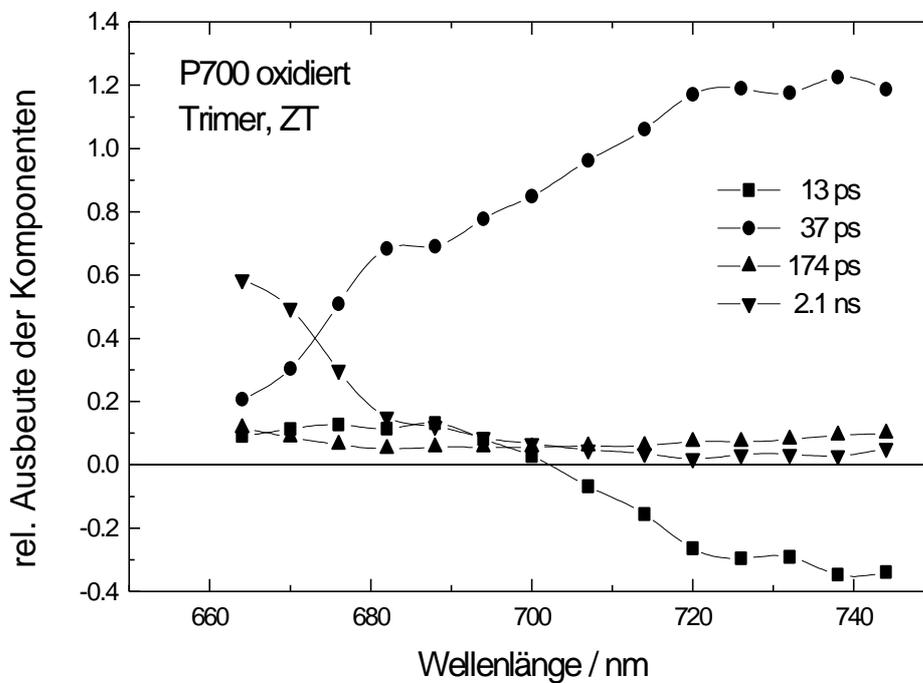
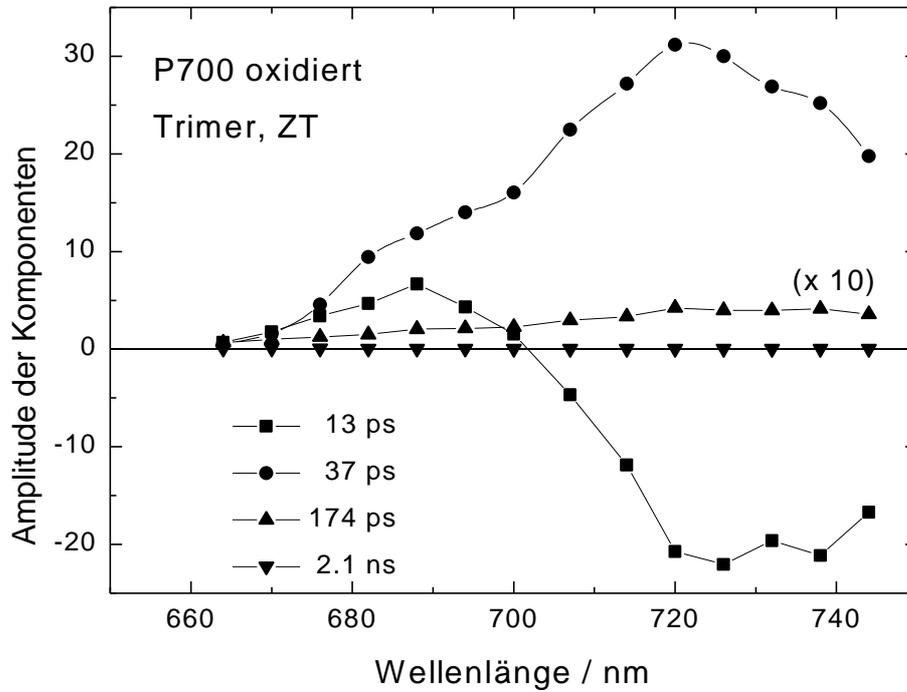


Abb. [3.11]

Abhängigkeit der Ausbeute verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für trimeres PSI mit geschlossenen RZ bei Zimmertemperatur von der Wellenlänge

Außerdem werden zwei weitere Komponenten mit geringer Amplitude beobachtet. Die längstlebige Komponente mit einer Lebensdauer von $2,1 \pm 0,2$ ns steigt zu kürzeren Wellenlängen hin deutlich an (gut zu erkennen im DAYS, Abb. [3.11]). Da isoliertes Chlorophyll in Lösung im Vergleich zu Chlorophyll in Protein-Umgebung blauverschoben emittiert, wird diese Komponente teilweise entkoppelten Chlorophyll-Molekülen zugeordnet, d. h. solchen, die nicht in der Lage sind, ihre Anregung an das RZ weiterzugeben. Auch die lange Lebensdauer spricht für eine solche Zuordnung. Aus dem Ausbeute-Spektrum läßt sich ablesen, daß für Wellenlängen < 660 nm bis zu 60 % der Fluoreszenzausbeute von diesen schlecht angekoppelten Chlorophyll-Molekülen stammen können. Dieser Anteil variiert von Probe zu Probe und nimmt mit wachsender Probedegradation zu. Das kann im stationären Spektrum durch das Herauswachsen der 680 nm Bande verfolgt werden. Der hier gezeigte Wert von 60 % Ausbeute von entkoppelten Pigmenten stellt eine Obergrenze dar. Er resultiert aus der langen Meßzeit, die nötig war, um genügend Ereignisse einzuzählen. Ein Vergleich der Fluoreszenz-Amplitude dieser Komponente mit jener der Gesamtabbau-Komponente (37 ps) zeigt jedoch, daß diese 60 % der stationären Fluoreszenzausbeute von nicht mehr als maximal drei Chlorophyll-Molekülen pro Kernantenne-RZ-Komplex stammen.

Die intermediäre Komponente mit einer Lebensdauer von ~ 200 ps ist mit einem 1σ -Vertrauensintervall von 40 ps sehr ungenau bestimmt. Sie hat ihr Maximum bei ~ 730 nm und ihr Ursprung ist gegenwärtig unklar. Es gibt Berichte (Dorra 1998, Dorra et al. 1998) über eine weitere intermediäre Komponente (~ 50 ps) mit einem Amplitudenmaximum um 725 nm. Diese zusätzliche Komponente wurde zusätzlichen roten Pigmenten zugeschrieben, die weder zum RZ noch zu den übrigen roten Pigmenten direkten Kontakt haben. Möglicherweise ist eine ähnliche Erklärung für die 200 ps Komponente denkbar. Auch hier zeigt ein Vergleich der Fluoreszenz-Amplitude dieser Komponente mit der der Gesamtabbau-Komponente (37 ps), daß als Ursprung der 200 ps Emission maximal zwei Chlorophyll-Moleküle pro Monomer in Frage kommen.

Sowohl Lebensdauern als auch Form der hier gezeigten DAS (inklusive der nicht-konservative Charakter des Energietransfer-DAS) zeigen qualitative Übereinstimmung mit den meisten publizierten PS I Daten (Vergl. Tabelle [3.1]). Andererseits zeigen sowohl die Anregungstransfer-Komponente als auch die Gesamtabbau-Komponente eine bemerkenswerte Variabilität über die verschiedenen Spezies. Das ist insofern unerwartet, als Homologie-Studien der Gen-Sequenzen einen sehr ähnlichen Bau der PS I Kernantenne-RZ-Komplexe aus den verschiedensten Organismen erwarten lassen (Hiyama 1997, Webber et al. 1997).

Tabelle [3.1]

Bisher an verschiedenen isolierten PSI Komplexen gemessene Lebensdauern (geordnet nach Entstehungsdatum der Studien)

PS I aus	Chl pro P700	Aufgelöste Lebensdauern			Methode	Autoren
		Energie- transfer	Anregungs- zerfall	Längere Komp.		
<i>Phormidium luridum</i>	100	Nicht aufgelöst	16 ps	106 ps	Fluores- zenz	Wittmershaus et al. 1987
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	40	Nicht aufgelöst	25 ps	6 ns	Fluores- zenz	Owens et al. 1988
<i>Synechococcus elongatus</i>	55	Nicht aufgelöst	25 ps	5 n	Fluores- zenz	Owens et al. 1988
<i>Synechococcus elongatus</i>	122	Nicht aufgelöst	38 ps	258 ps 5 ns	Fluores- zenz	Owens et al. 1988
	25	3,5 ps	15 ps		Absorp- tion	Klug et al. 1989
<i>Synechococcus elongatus</i>	100	12 ps	36 ps	1,3 ns 5 ns	Fluores- zenz	Holzwarth et al. 1993
<i>Synechococcus elongatus</i>	100	8 ps	33 ps	>10 ns	Absorp- tion	Holzwarth et al. 1993
<i>Synechococcus elongatus</i>	100	10-11 ps	29-35 ps	65-143 ps 1 ns	Fluores- zenz	Turconi et al. 1993
<i>Spinat</i>	65	6 ps	18 ps	52 ps 2,6 ns	Fluores- zenz	Turconi et al. 1994
<i>Spinat</i>	110	14 ps	44 ps	123 ps 4,2 ns	Fluores- zenz	Turconi et al. 1994
<i>Spinat</i>	12	<0,5 ps	9-11 ps		Absorp- tion	Kumazaki et al. 1994
<i>Synechocystis sp PCC 6803</i>	100	6 ps	24 ps	238 ps 3,5 ns	Fluores- zenz	Hastings et al. 1994a
<i>Synechocystis sp PCC 6803</i>	100	4 ps	28 ps		Absorp- tion	Hastings et al. 1994a

PS I aus	Chl pro P700	Aufgelöste Lebensdauern			Methode	Autoren
		Energie- transfer	Anregungs- zerfall	Längere Komp.		
<i>Spinat</i>	200	<10 ps (N. aufgel.)	35 ps	120 ps 2,7 ns	Fluores- zenz	Pålsson et al. 1995
<i>Spinat</i>	120	<10 ps (N. aufgel.)	31 ps	307 ps 3 ns	Fluores- zenz	Pålsson et al. 1995
<i>Synechocystis sp</i> <i>PCC 6803</i>	130	Nicht aufgelöst	23-28 ps	500 ps 4,5 ns	Fluores- zenz	DiMagno et al. 1995
<i>Synechocystis sp</i> <i>PCC 6803</i>	80- 100	3,7 ps	24 ps		Absorp- tion	Hastings et al. 1995a
<i>Chlamydomonas</i> <i>reinhardtii</i>	48-63	4,6 ps	22 ps		Absorp- tion	Hastings et al. 1995a
<i>Spinat</i>	60	7,5 ps	19 ps		Absorp- tion	Hastings et al. 1995a
<i>Synechocystis sp</i> <i>PCC 6803</i>	85	5 ps	25 ps	220 ps 3,4 ns	Fluores- zenz	Turconi et al. 1996
<i>Spinat</i>	45	3 ps	20 ps		Absorp- tion	White et al. 1996
<i>Spirulina</i> <i>platensis</i>	95	9 ps	28 ps	69 ps 1,4 ns	Fluores- zenz	Karapetyan et al. 1997
<i>Synechococcus</i> <i>elongatus</i>	100	2,7 ps 11ps	34 ps	5 ns	Fluores- zenz	Gobets et al. 1998b
<i>Synechocystis sp</i> <i>PCC 6803</i>	100	~1 ps 4,6 ps	24 ps	5 ns	Fluores- zenz	Gobets et al. 1998a
<i>Spinat</i>	16	0,4 ps	7-10 ps		Absorp- tion	Kumazaki et al. 1998
<i>Synechococcus</i> <i>el. (Kristalle)</i>	100	9 ps	19 ps 49 ps	136 ps 5,6 ns	Fluores- zenz	Dorra et al. 1998
<i>Synechocystis sp</i> <i>PCC 6803</i>	100	2 ps 6,5 ps	24 ps	10 ns	Absorp- tion	Savikhin et al. 1999

Diese beobachteten Unterschiede in der Dynamik des angeregten Zustandes sind also auf spektrale Unterschiede in der Pigmentzusammensetzung der unterschiedlichen PS I Kernantennen-RZ-Komplexe zurückzuführen, über die sich aus der Gen-Sequenz unmittelbar nichts aussagen läßt.

Auf die Abhängigkeit der spektralen Eigenschaften von den Umgebungsbedingungen und der Präparation wurde bereits in Abschnitt [3.1] hingewiesen. In diesem Zusammenhang ist es wiederum erstaunlich, daß die bemerkenswerten Unterschiede im stationären Spektrum der charakterisierten Komplexe von so relativ geringen Unterschieden im dynamischen Verhalten begleitet sind.

Offene Zentren

Zur Messung der Fluoreszenz-Zerfallskinetik an offenen Zentren mußten zum Erzielen einer ausreichenden Zählrate Einschränkungen bei zeitlicher und spektraler Auflösung hingenommen werden (siehe Abschnitt 2.3 offene Zentren). Die resultierenden Zerfallskurven ließen sich, wie auch die für geschlossene Zentren, am besten mit einem Satz von vier Lebensdauern beschreiben. Die Qualität der Anpassung ist jedoch wesentlich schlechter.

Die Komponente mit der kürzesten Lebensdauer zeigt durchweg negative Amplituden. Damit weist das DAS keinen Transfercharakter auf. Dennoch werden durch diese Komponente Energietransfer-Prozesse beschrieben, da negative Amplituden durch das *Erscheinen* von Anregungsenergie verursacht werden. Die zugehörigen *Abbau-Prozesse* entziehen sich offenbar der Auflösung des Experimentes. Die Lebensdauer dieser Komponente ist jedoch nicht mehr global beschreibbar. Sie nimmt stattdessen von kurzen (~ 15 ps bei 680 nm) zu größeren Wellenlängen (~ 28 ps bei 730 nm) stetig zu. Das kann darauf hinweisen, daß sich Anregungsenergie-Transferprozesse über die gesamte Antenne verteilt abspielen. Dabei erfolgt der Anregungsenergietransfer innerhalb der kürzerwelligen Pigmente schneller als der zu den rötlichen Pigmenten. Das kann am ungünstigeren spektralen Überlapp zwischen roten und blauen Pigmenten (im Vergleich zu dem zwischen blauen und blauen) ebenso liegen wie an einer räumlichen Isolierung der roten Pigmente. Amplituden und Lebensdauern der kürzesten kinetischen Komponente interferieren beim Anpassungsprozeß mit denen der zweitkürzesten.

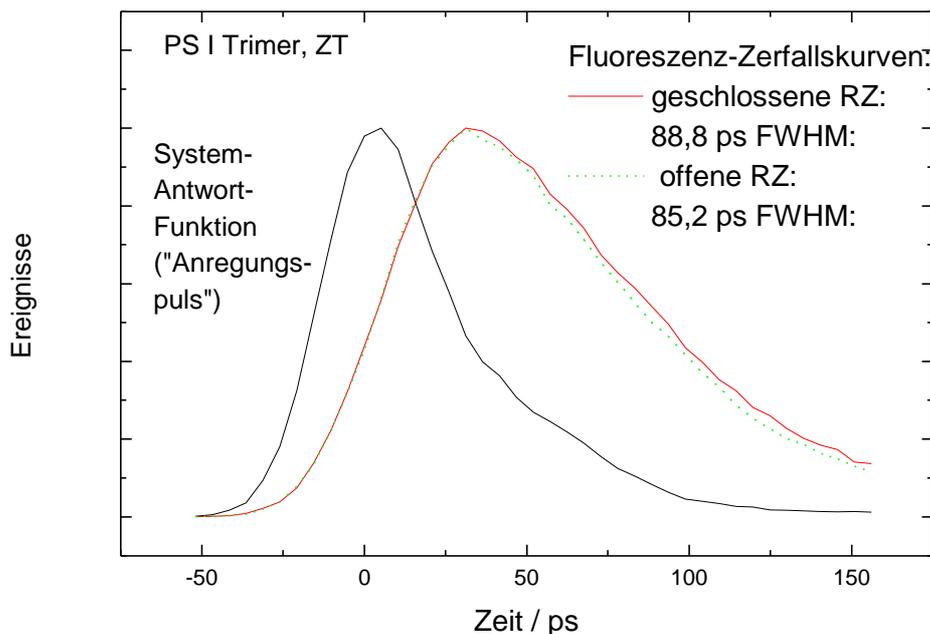
Die Komponente, die den Gesamt-Anregungszerfall widerspiegelt, weist ähnlich wie bei geschlossenen Zentren überall positive Amplituden auf. Der Wert ihrer Lebensdauer unterscheidet sich mit 34 ps jedoch nur geringfügig von dem der kürzesten Komponente. Deshalb möge hier auf die Präsentation eines zweifelhaften Amplituden- oder Ausbeute-Spektrums

verzichtet werden. Stattdessen sollen zwei Ergebnisse gezeigt werden, die belegen, daß die Unterschiede zwischen den Lebensdauern des Gesamt-Anregungszerfalles für Proben mit offenen und geschlossenen Zentren signifikant sind.

Zum einen zeigt Abb. [3.12] zusammen mit der Antwortfunktion des Systems auf den Anregungspuls zwei Fluoreszenz-Zerfallskurven, gemessen bei 707 nm. Während die Anstiegsflanke beider Kurven zusammenfällt, läßt sich deutlich ein Unterschied in den abfallenden Flanken ausmachen. Die Halbwertsbreite der Fluoreszenz-Zerfallskurven für offene Zentren ist um 3,6 ps geringer als die für geschlossene Zentren. Ähnliche Bilder lassen sich für alle gemessenen Wellenlängen beobachten. Wesentlich dabei ist, daß beide Zerfälle an ein und derselben Probe gemessen worden sind. Einziger Unterschied ist der Redox-Zustand von P700.

Abb. [3.12]

Abhängigkeit der Form der Fluoreszenzzerfallskurven vom Redoxzustand des primären Donators für trimeres PS I bei Zimmertemperatur. Als Zeitnullpunkt wurde das Maximum der Systemantwort gewählt.



Als zweites Argument sei die Bestimmtheit der Lebensdauer der Gesamtabbau-Komponente angeführt. Dafür wurde eine „erschöpfende Suche“ durchgeführt (vergl. Abschnitt 2.4 „Datenanalyse“). Ihr Ergebnis ist in Abb. [3.13] dargestellt. Es ist zu erkennen, daß ungeachtet des eher bescheidenen Absolutwertes für Chi-Quadrat das Vertrauensintervall für die Lebensdauer der Gesamtabbau-Komponente sehr eng ist, was bedeutet, daß diese Lebensdauer mit hoher Signifikanz tatsächlich genau den gefundenen Wert 34 ± 1 ps besitzt. Da die Lebensdauer der Gesamtabbau-Komponente für geschlossene Zentren mit 37 ± 1 ps ähnlich gut

definiert ist, kann auch der Unterschied in der Lebensdauer der Gesamtabbau-Komponente zwischen offenen und geschlossenen Zentren als signifikant gelten.

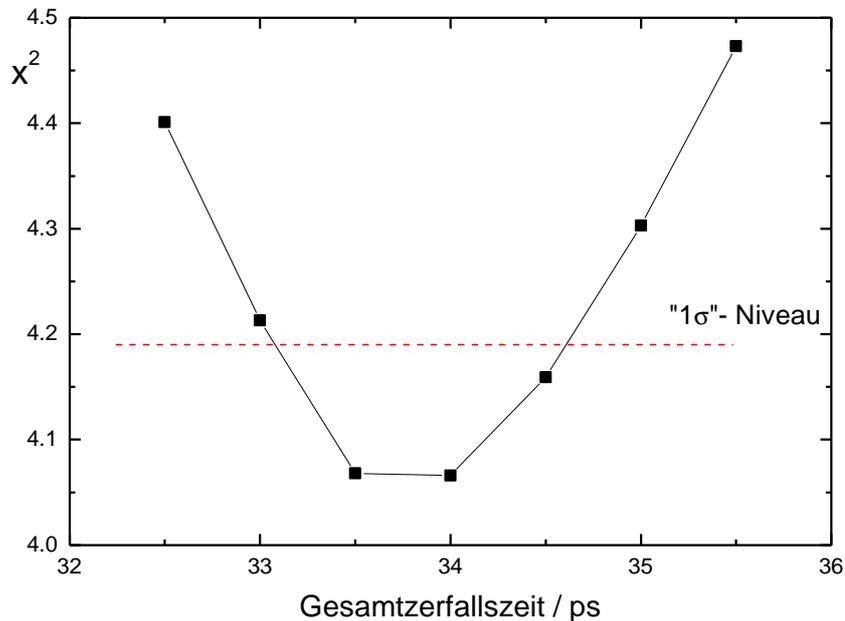


Abb. [3.13]

Abhängigkeit des besten globalen Chi-Quadrat vom fixierten Wert der Lebensdauer des Gesamt-Anregungszerfalls

Die beiden Komponenten mit größeren Lebensdauern (210 ± 40 ps und $1,7 \pm 0,2$ ns) ähneln sowohl in der Zerfallszeit als auch in der spektralen Form der DAS sehr stark jenen für geschlossene Zentren.

Damit ist es gelungen, die $\sim 12 \pm 5$ % Zunahme der Fluoreszenzausbeute beim Schließen des Reaktionszentrums, die Fluoreszenz-Induktion und stationäre Fluoreszenzmessungen ausweisen, auch durch zeitaufgelöste Fluoreszenz zu bestätigen. Außerdem konnte als Ursache für diesen Unterschied eine Zunahme in der Lebensdauer der Gesamt-Abbaus der Anregung gefunden werden. Eine Umverteilung der Amplituden zwischen den Zerfallskomponenten konnte nicht festgestellt werden. Einerseits ist dafür die Amplituden-Auflösung der Messungen an offenen Zentren zu ungenügend. Andererseits spricht der Umstand, daß keine reproduzierbaren Änderungen in der Form des stationären Fluoreszenzspektrums beim Schließen der Zentren gefunden wurden, ebenfalls für eine solche Annahme.

3.4 ps-Fluoreszenz bei Tieftemperatur

Fluoreszenz-Zerfallskinetiken wurden aufgenommen für Proben im geschlossenen Zustand und für Proben, die eine Mischung aus offenen und geschlossenen RZ enthielten. Die Proben im geschlossenen Zustand wurden durch Einfrieren unter Belichtung erhalten. Die Zugabe von Ascorbat stellt in der Probenlösung ein Redoxpotential ein, bei dem P700 reduziert vorliegt, eine Reduktion der Akzeptoren aber ausgeschlossen werden kann. Wenn eine solche Probe unter völliger Dunkelheit eingefroren wird, führt das dazu, daß anfangs alle RZ im offenen Zustand vorliegen. Wird eine solchen Probe bei niedrigen Temperaturen (< 150 K) belichtet, so wird ein Teil der Zentren geschlossen, während Ladungs-Rekombination in den Grundzustand, d.h. zyklischer Elektronenfluß, den anderen Teil der RZ wieder in den offenen Zustand überführt (vergl. Abschnitt 1.5 „Redoxbedingungen“ und Abschnitt 3.2 „Tieftemperatur“). Auf diese Weise ist es möglich, Proben zu präparieren, die bei tiefen Temperaturen offene Zentren enthalten, ohne unphysiologische pH-Werte und/oder Erscheinungen von Rekombinationsfluoreszenz, die möglicherweise durch den Einsatz von Dithionit in der Probe induziert werden könnten (z.B. Karapetyan et al. 1997, Dorra 1998).

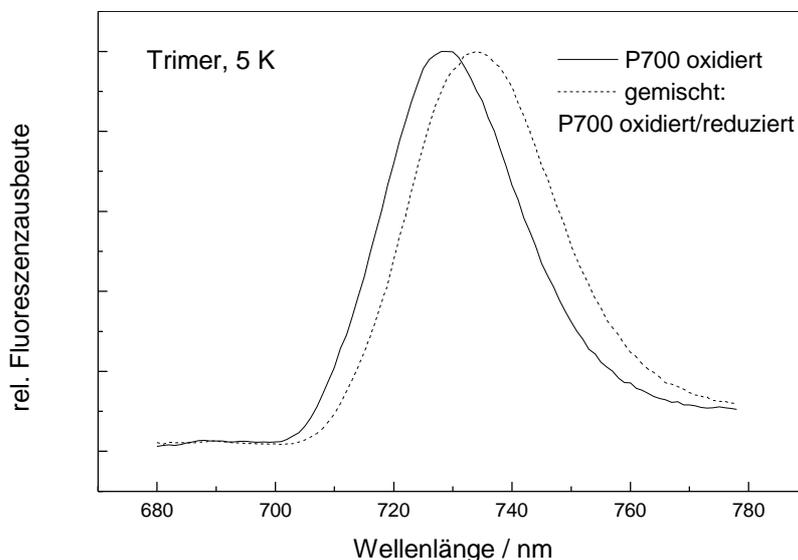


Abb. [3.14]

Normiertes, korrigiertes stationäres Fluoreszenzemissionsspektrum für trimeres PS I mit völlig geschlossenen RZ (voll) sowie mit teilweise offenen und geschlossenen RZ (punktiert) bei 5 K.

Abb. [3.14] zeigt die normierten *in situ* gemessenen, detektorkorrigierten stationären Fluoreszenzspektren für trimere PS I Proben mit allen RZ im geschlossenen Zustand und für Proben, die eine Mischung aus offenen und geschlossenen RZ enthielten. Diese Spektren wurden

zur Skalierung der DAAS und DAYS verwendet. Während die kürzerwellige Bande um 690 nm sich gegenüber ZT wenig verändert (siehe Flemming 1996), hat die längerwellige Bande um 720 nm drastisch an Intensität gewonnen. Zusätzlich fällt auf, daß sich das Fluoreszenz-Maximum für Proben mit allen RZ im geschlossenen Zustand gegenüber dem ZT-Spektrum um ~ 10 nm und das für Proben mit einer Mischung aus offenen und geschlossenen RZ um ~ 16 nm rotverschoben hat. Die zeitaufgelösten Spektren zeigen als Ursache für diesen Unterschied eine zusätzliche langlebige langwellige Komponente in den Proben mit einer Mischung aus offenen und geschlossenen RZ auf (vergl. Abb. [3.18]).

Fluoreszenzzerfälle wurden für beide Probentypen bei 11 verschiedenen Wellenlängen zwischen 680 nm und 780 nm aufgenommen und jeweils global analysiert. Um die Fluoreszenzzerfallskinetik für Proben mit allen RZ im geschlossenen Zustand zu beschreiben, wurden fünf Komponenten mit folgenden Lebensdauern benötigt: 14 ps, 35 ps, 146 ps, 401 ps und 1.5 ns. Die entsprechenden DAAS sind in Abb. [3.15] gezeigt und die zugehörigen DAYS in Abb. [3.17].

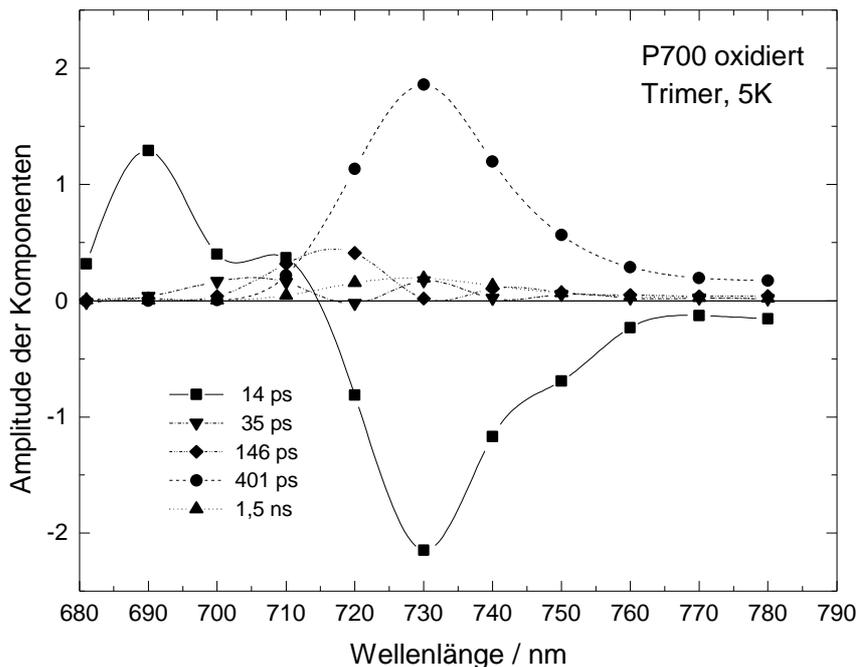


Abb. [3.15]

Abhängigkeit der Amplitude verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für trimeres PS I mit geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge

Das DAS der schnellsten Komponente mit einer Lebensdauer von 14 ps zeigt sowohl positive Amplituden im kürzerwelligen Teil des Spektrums (< 720 nm) als auch negative Amplituden bei größeren Wellenlängen, was auf einen Energietransfer-Prozess hinweist.

Die anderen Komponenten zeigen überall positive DAS mit Maxima zwischen 720 nm und 730 nm. Für Proben, die eine Mischung aus offenen und geschlossenen RZ enthielten, wurden sechs Komponenten mit folgenden Lebensdauern für eine zufriedenstellende globale Beschreibung benötigt: 18 ps, 40 ps, 184 ps, 377 ps, 1.3 ns und 4.1 ns. Die entsprechenden DAAS sind in Abb. [3.16] gezeigt, die zugehörigen DAYS in Abb. [3.18].

Auch hier wechselt das Spektrum der schnellsten Komponente mit einer Lebensdauer von 18 ps sein Vorzeichen, während alle anderen DAS überall positive Amplituden zeigen. Die geringen negativen Beiträge in den DAS der 40 ps- und der 184 ps-Komponenten rühren höchstwahrscheinlich von Anpassungs-Artefakten her.

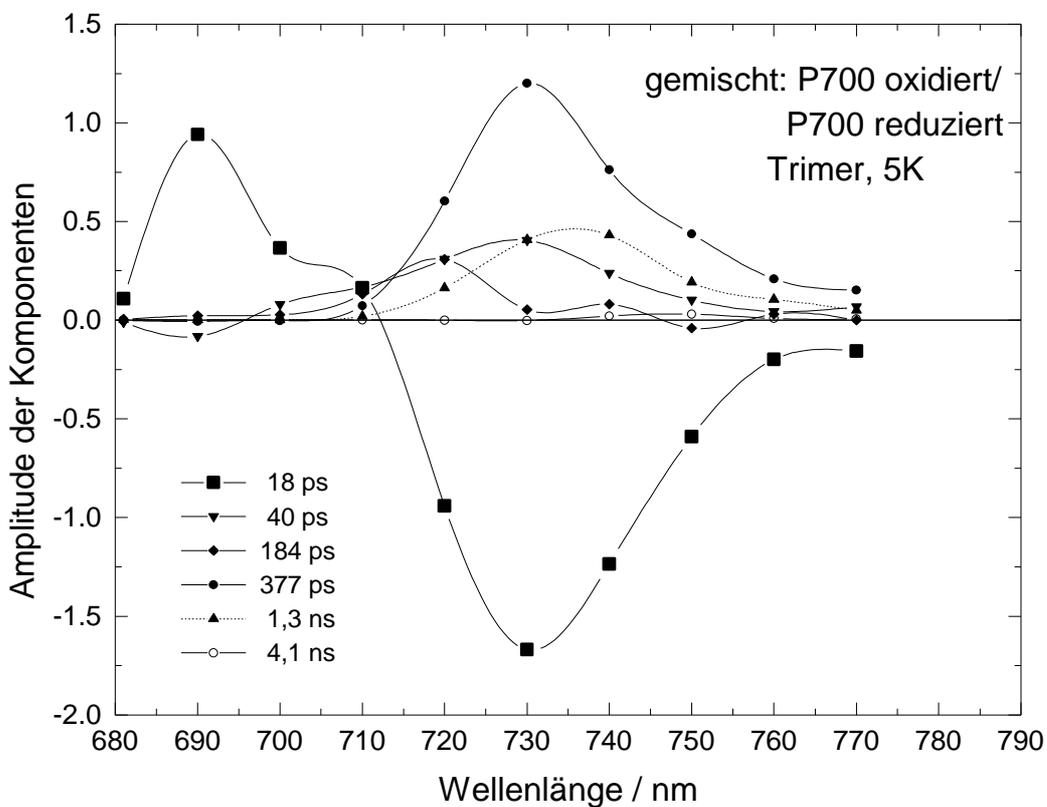


Abb. [3.16]

Abhängigkeit der Amplitude verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für trimeres PS I mit offenen und geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge

In Abb. [3.17] ist deutlich zu sehen, daß in PS I mit geschlossenem RZ die stationäre Fluoreszenz von einer ~400 ps Komponente (mit einem Maximum bei 730 nm) dominiert wird, während in der gemischten Probe mit offenen und geschlossenen RZ (Abb. [3.18]) die Fluoreszenz hauptsächlich von einer 1.3 ns Komponente mit einem rotverschobenen Maximum um 737 nm stammt.

Abb. [3.17]

Abhängigkeit der Ausbeute verschiedener Zerfallskomponenten (DAYS) für trimeres PSI mit geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge

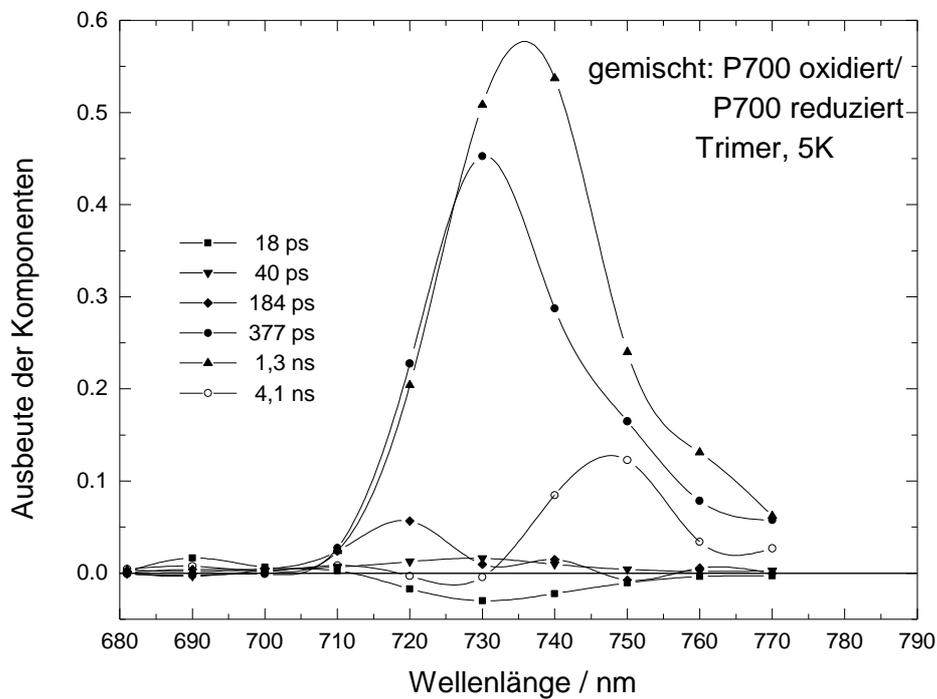
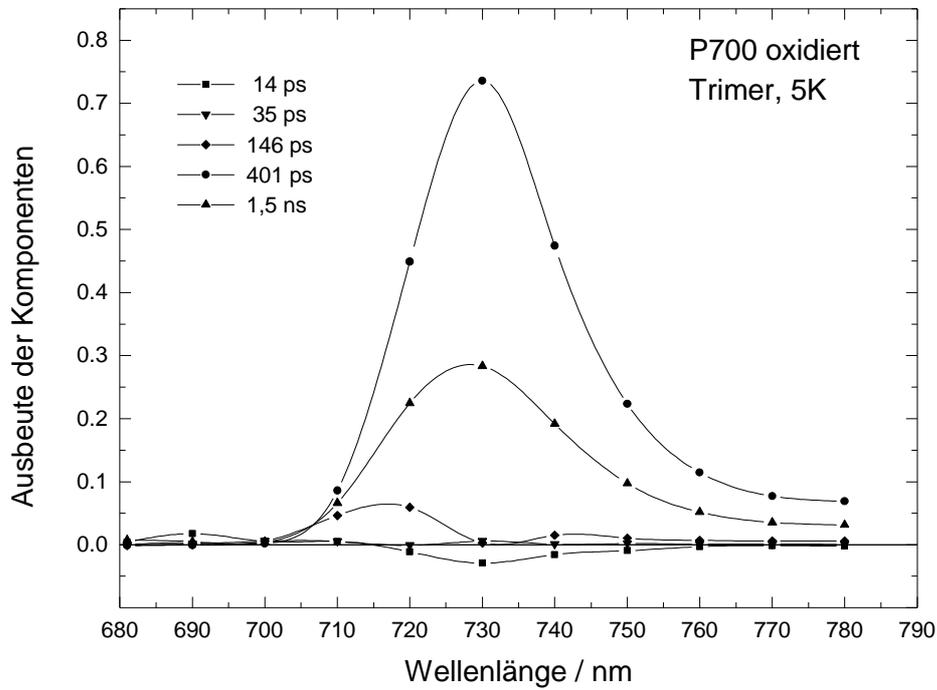


Abb. [3.18]

Abhängigkeit der Ausbeute verschiedener Zerfallskomponenten (DAYS) für trimeres PSI mit offenen und geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge

Außerdem trägt in der gemischten Probe eine zusätzliche 4.1 ns Komponente ungefähr 8 % der Gesamt-Fluoreszenzausbeute bei. Überraschenderweise hat diese Zerfallskomponente ein Fluoreszenzmaximum bei einer Wellenlänge von ~ 750 nm. Über ein so weit im roten emittierendes Pigment wurde für *Synechococcus el.* bisher nicht berichtet. Als Erklärung muß man entweder eine extrem große Stokes-Verschiebung von 30 nm (~ 550 cm⁻¹) für die längstwellig absorbierenden der bisher beschriebenen Pigmente A720 annehmen, oder aber es gibt mindestens ein Pigment im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.*, das noch längerwellig absorbiert. Tatsächlich zeigt das 5 K Absorptionsspektrum der Probe (siehe Abb. [1.4]) Absorption in dieser extrem roten Region. Ein so langwellig gelegenes Emissionsmaximum, wie es hier gefunden wurde, würde die alternative Beschreibung der Absorption um 720 nm durch einige individuelle Pigmente mit unterschiedlichen Absorptionsmaxima zwischen 715 nm und 740 nm unterstützen. Im Punkt 5.2 der Diskussion (Rolle der „roten“ Pigmente) wird darauf noch eingegangen werden.

3.5 ps-Fluoreszenz an monomeren PS I Proben (ZT und 5 K)

Auch für monomeres PS I aus *Synechococcus el.* wurde mittels zeitkorrelierter Einzelphotonenzählung die Fluoreszenz-Zerfallskinetik für Proben mit geschlossenen RZ bei Zimmertemperatur gemessen. Die Monomere wurden durch osmotisches Aufbrechen der trimeren Struktur (vergl. Abschnitt 2.1) hergestellt. Außerdem wurde für monomere Proben mit vollständig geschlossenen Zentren sowie einer Mischung aus offenen und geschlossenen Zentren die Fluoreszenz-Zerfallskinetik bei 5 K bestimmt.

Die DAAS für monomere Proben mit geschlossenen Zentren bei Zimmertemperatur sind in Abb. [3.19] gezeigt. Es ist zu erkennen, daß sich die DAAS für monomere Proben bei ZT nicht signifikant von denen für trimere Proben unterscheiden. Die Fluoreszenz-Zerfallsdynamik wird auch hier dominiert durch eine überall positive Komponente mit einer Lebensdauer von 38 ps. Diese Komponente wird wie bei Trimeren dem Abbau der Anregung nach vorangegangener Äquilibration zugeschrieben. Das DAAS der Energietransfer-Komponente mit einer Lebensdauer von 15 ps zeigt ebenfalls einen nicht-konservativen Charakter; die Fläche zwischen dem positiven Zweig des Spektrums (< 705 nm) und Abszisse ist geringer als die zwischen Abszisse und negativem Zweig des Spektrums (> 705 nm). Auch die intermediäre und die langlebige Komponente haben mit 200 ps und 2 ns Lebensdauern, die dem Trimer vergleichbar sind.

Abb. [3.19]

Abhängigkeit der Amplitude verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für monomeres PS I mit geschlossenen RZ bei Zimmertemperatur von der Wellenlänge.

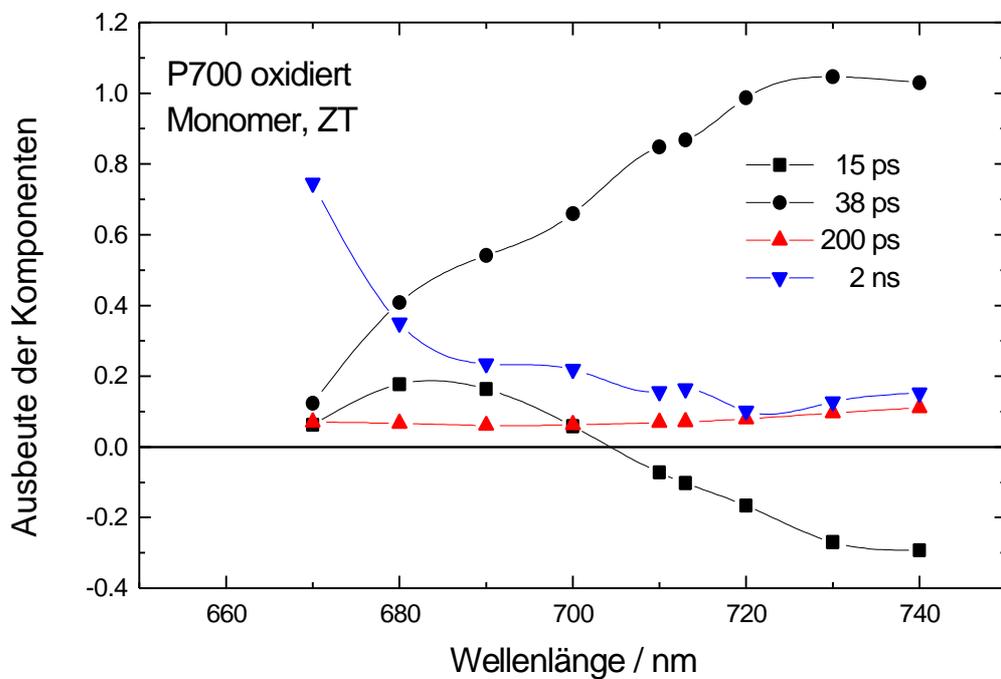
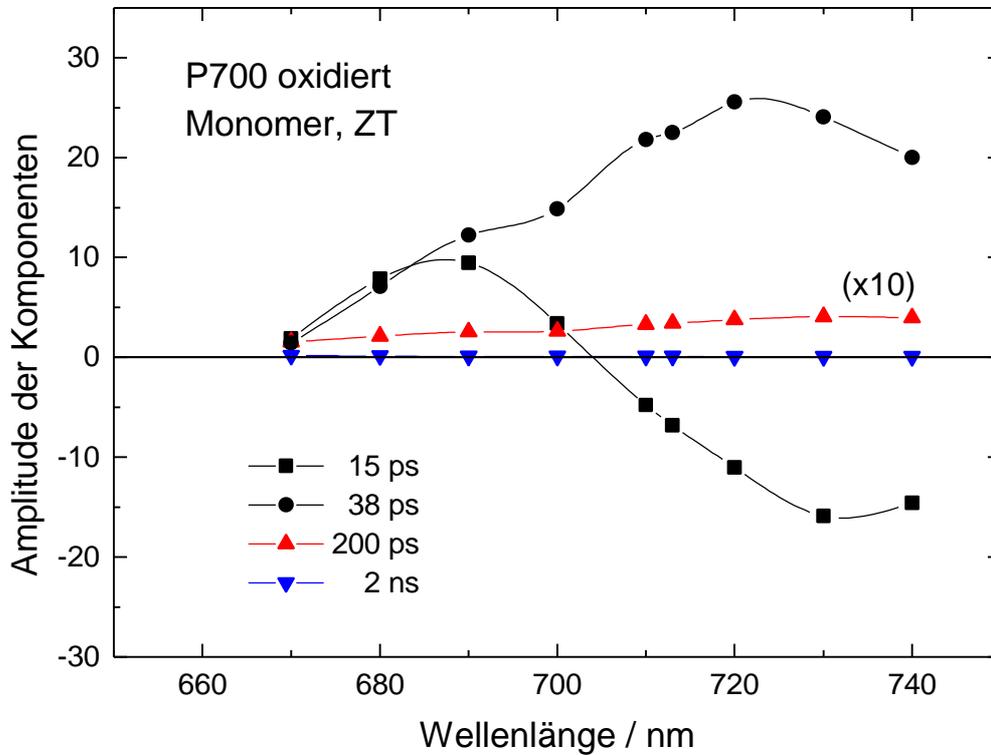


Abb. [3.20]

Abhängigkeit der Ausbeute verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für monomeres PS I mit geschlossenen RZ bei Zimmertemperatur von der Wellenlänge.

Abb. [3.20] zeigt das Ausbeutespektrum (DAYS) für monomere PS I Proben mit geschlossenen Zentren bei ZT. Der Anstieg der Ausbeute der 2 ns Komponente bei Wellenlängen < 680 nm ist hier noch drastischer ausgeprägt als für trimere Proben und erreicht über 70 %. Eventuell ist das darauf zurückzuführen, daß die monomeren Proben zusätzliche Präparationsschritte (Spaltung und Reinigung) gegenüber trimeren Proben zu erdulden hatten. Das kann zur Lockerung oder Herauslösung einiger peripherer Pigmente geführt haben. Gestützt wird diese Annahme durch die stationären Fluoreszenzspektren (nicht gezeigt), die eine etwas stärkere blaue Bande zeigen als die der trimeren Proben. Flemming (1996) findet bei der Analyse der 5 K Absorptionsspektren des monomeren Komplexes einen insgesamt verringerten Pigmentgehalt von 92 Chlorophyll-Molekülen pro P700 im Monomer anstatt 100 im trimeren Komplex. Insbesondere ist die Zahl der roten Pigmente pro Komplex um zwei auf acht im Monomer statt zehn im Trimer reduziert. Offenbar ist davon auch das Pigment betroffen, das zu der weit rotverschobenen Emission gemischter trimerer Proben bei 5 K führt (siehe Abschnitt 5.2).

Abb. [3.21]

Normiertes, korrigiertes stationäres Fluoreszenzspektrum für monomeres PS I mit völlig geschlossenen RZ (voll) sowie mit teilweise offenen und geschlossenen RZ (punktiert) bei 5 K.

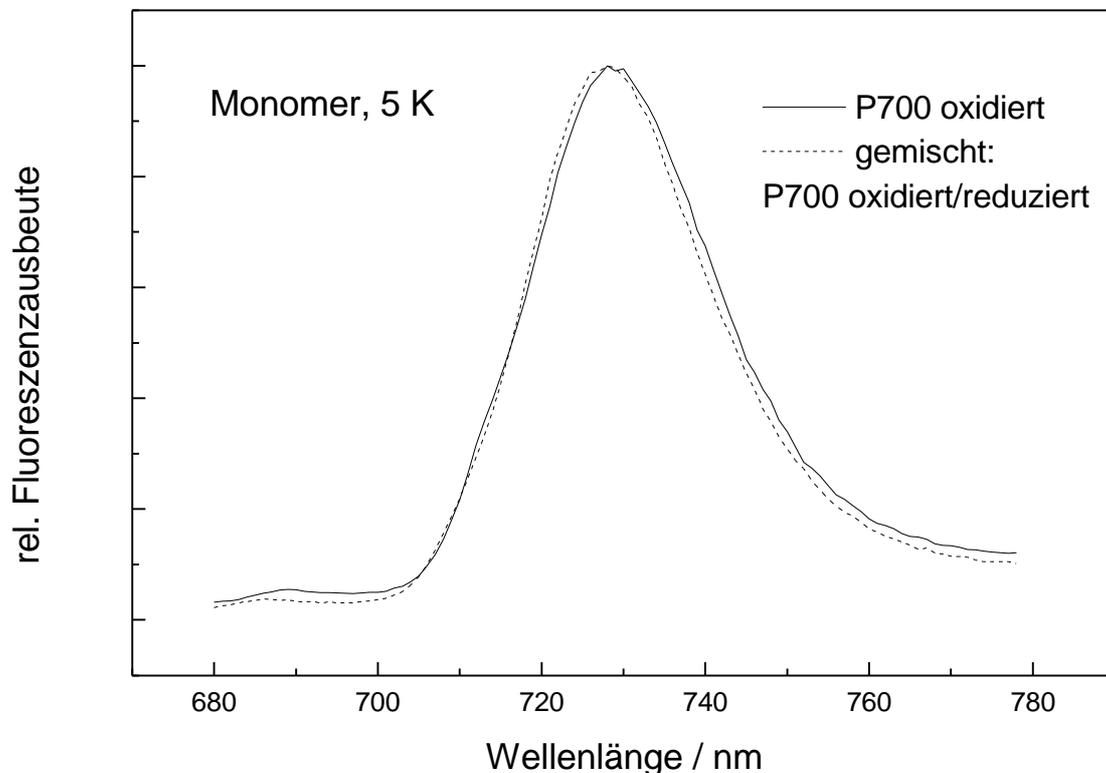


Abb. [3.21] zeigt die im Maximum auf eins normierten, *in situ* gemessenen, detektorkorrigierten stationären Fluoreszenzspektren für monomere PS I Proben mit allen RZ im geschlossenen

Zustand und für Proben, die eine Mischung aus offenen und geschlossenen RZ enthielten. Hier fällt auf, daß sich die spektrale Lage für beide Spektren wesentlich weniger unterscheidet, als das für die trimeren Proben der Fall war. Aus den DAYS (Bilder [3.24] und [3.25]) ist ersichtlich, daß dies tatsächlich auf das Fehlen der langlebigen rötesten Komponente zurückzuführen ist.

Die DAAS und die DAYS sind für monomere PS I Proben mit allen RZ im geschlossenen Zustand in Abb. [3.22] und Abb. [3.24] gezeigt sowie in Abb. [3.23] und Abb. [3.25] für monomere PS I Proben, die eine Mischung aus offenen und geschlossenen RZ enthielten. Für eine zufriedenstellende Beschreibung der Fluoreszenzkinetik beider Proben waren Sätze von fünf globalen Exponentialfunktionen mit sehr ähnlichen Lebensdauern erforderlich: 13 ps, 39 ps, 179 ps, 443 ps und 1,6 ns für Proben mit allen Zentren geschlossen gegenüber 14 ps, 40 ps, 173 ps, 475 ps und 1,7 ns für Proben mit offenen und geschlossenen Zentren. Es ist zu erkennen, daß die längeren Lebensdauern für Proben mit offenen und geschlossenen Zentren etwas über denen für Proben mit ausschließlich geschlossenen Zentren liegen. Die Spektren mit Lebensdauern von ~ 14 ps und 40 ps weisen Transfercharakter auf, sowohl für Proben mit offenen und geschlossenen Zentren als auch für Proben mit ausschließlich geschlossenen Zentren. Die ~ 170 ps Komponente zeigt ein Spektrum mit einem positiven Maximum bei ~ 720 nm. Für Proben mit offenen und geschlossenen Zentren hat auch diese Komponente Transfercharakter, der seinen Ausdruck in der negativen Bande mit einem Minimum um 740 nm findet. Für Proben mit ausschließlich geschlossenen Zentren ist für diese Komponente kein Transfercharakter aufgelöst. Das kann daran liegen, daß in solchen Proben die Anregung insgesamt kürzer lebt. Sie wird mit einer dominanten Lebensdauer von $\sim 0,4$ ns abgebaut. Diese Zeit ist möglicherweise zu kurz, um ein mit ~ 170 ps erfolgreiches Anwachsen der Fluoreszenz beobachten zu können.

Die Ausbeute-Spektren (DAYS) weisen, wie auch für trimere Proben beobachtet, einen deutlichen Unterschied im Ursprung der Fluoreszenzemission für Proben mit offenen und geschlossenen Zentren im Vergleich zu Proben mit ausschließlich geschlossenen Zentren aus. Auch hier stammt die Fluoreszenz für Proben mit ausschließlich geschlossenen Zentren hauptsächlich von der 443 ps Komponente, während sie für gemischte Proben zu ungefähr gleichen Teilen von der 475 ps Komponente und einer 1,7 ns Komponente stammt.

In diesem Kapitel wurden Unterschiede in der Fluoreszenzdynamik zwischen geschlossenen und offenen PS I Proben, sowie bei 5 K auch zwischen Trimeren und Monomeren gefunden.

Abb. [3.22]

Abhängigkeit der Amplitude verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für monomeres PS I mit geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge.

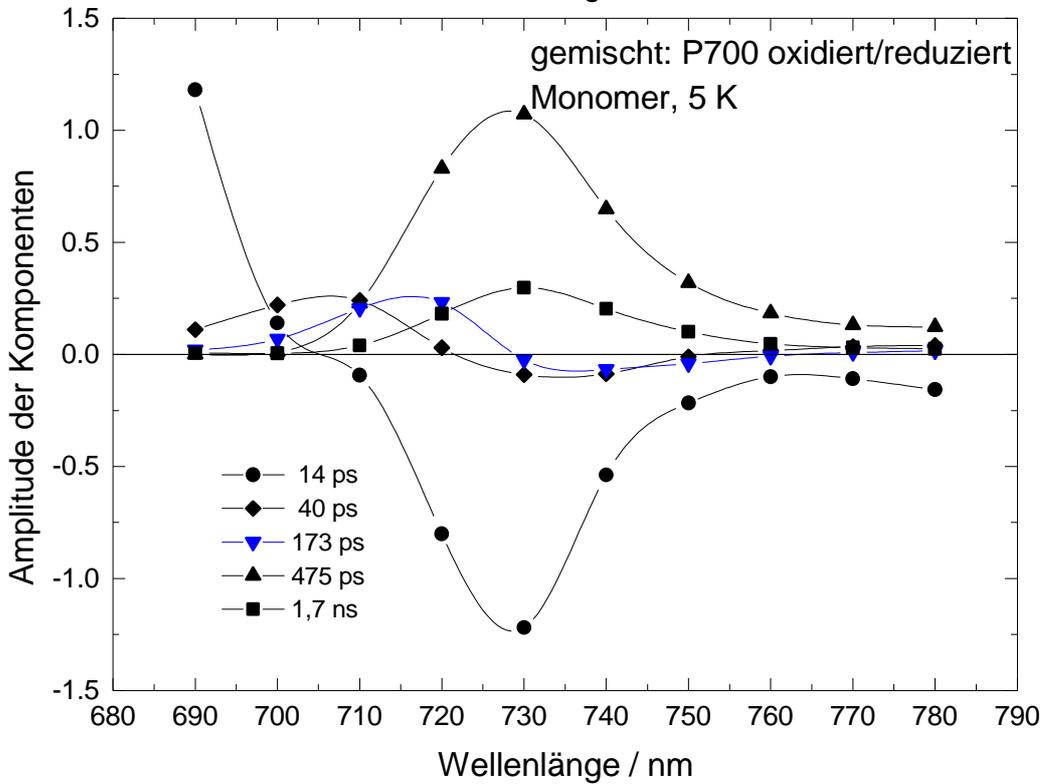
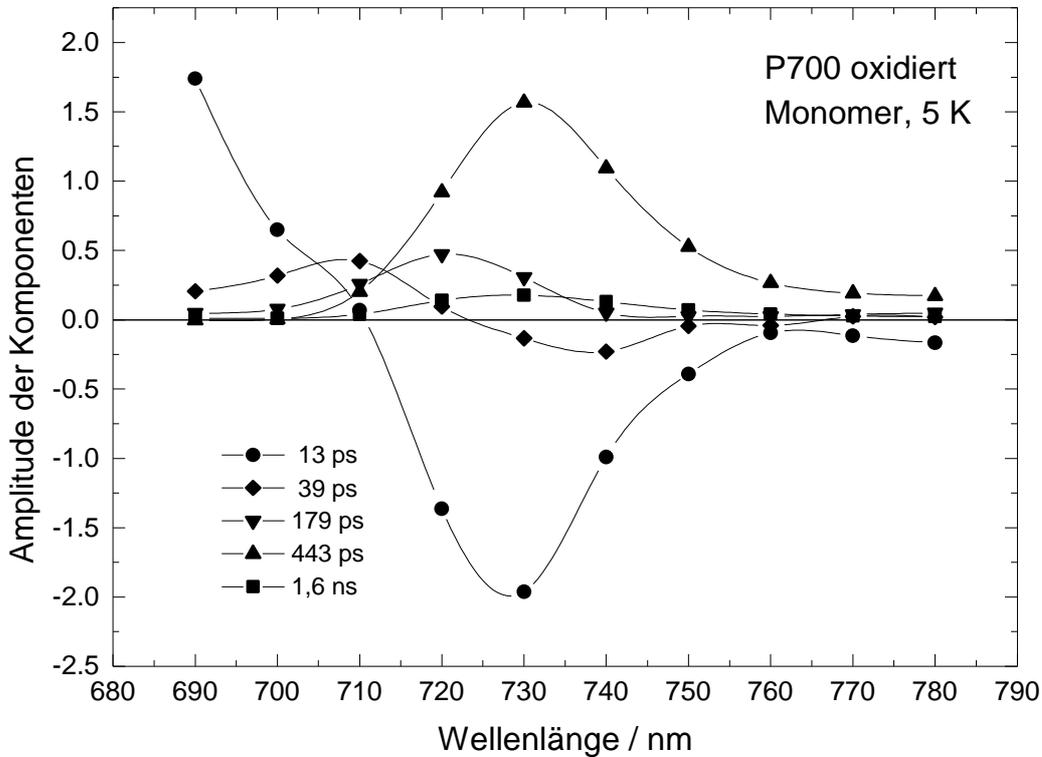


Abb. [3.23]

Abhängigkeit der Amplitude verschiedener Zerfallskomponenten (DAAS) für monomeres PS I mit offenen und geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge.

Abb. [3.24]

Abhängigkeit der Ausbeute verschiedener Zerfallskomponenten (DAYS) für monomeres PS I mit geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge.

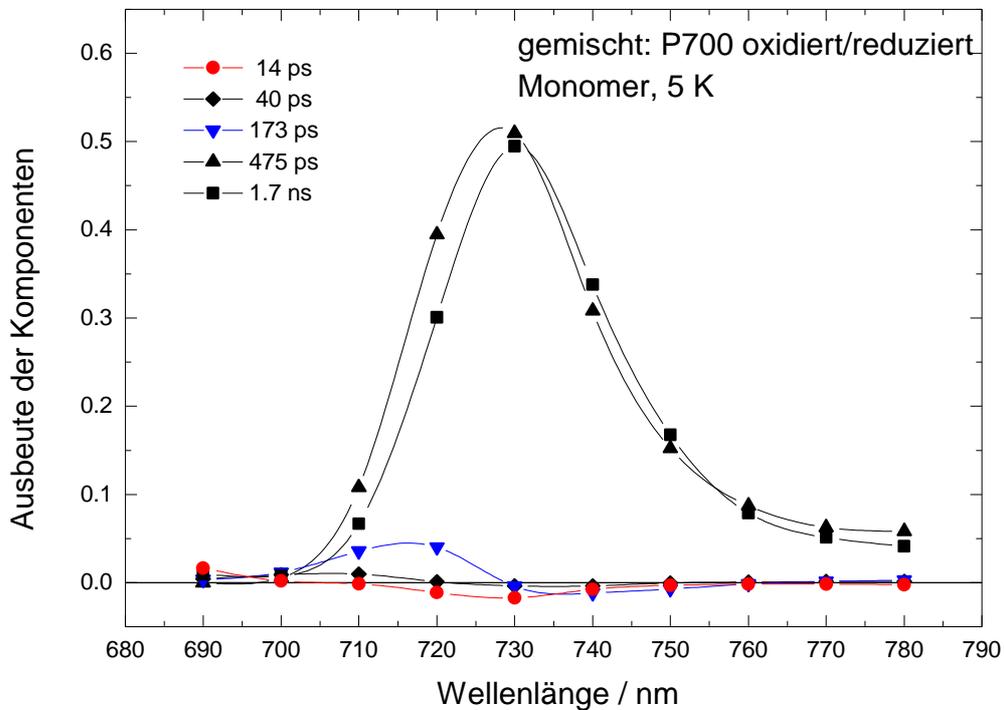
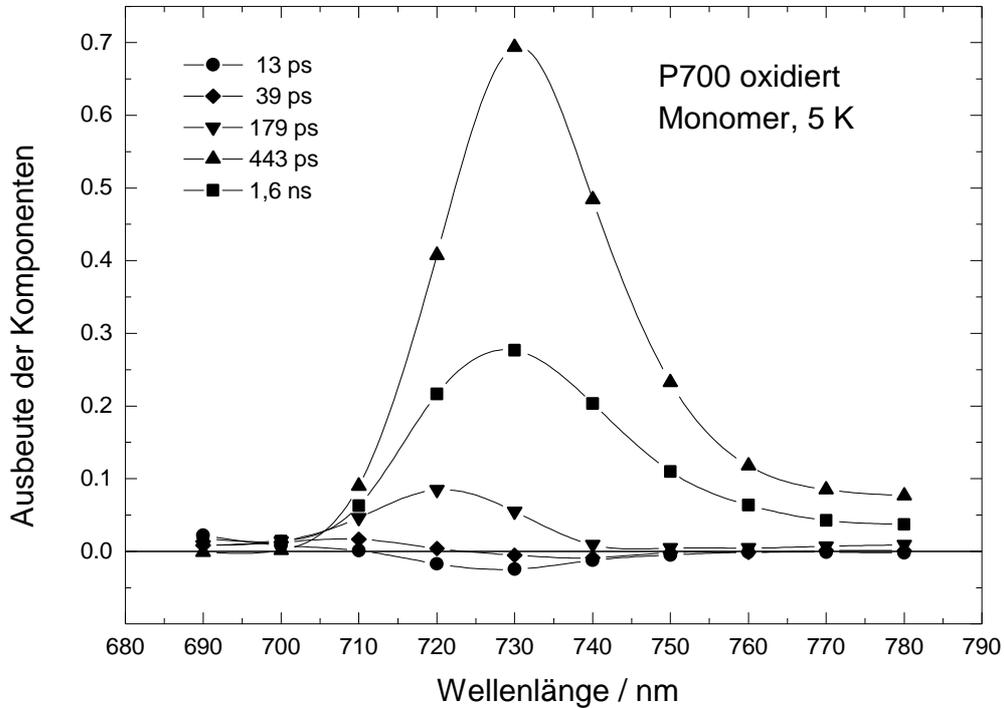


Abb. [3.25]

Abhängigkeit der Ausbeute verschiedener Zerfallskomponenten (DAYS) für monomeres PS I mit offenen und geschlossenen RZ bei 5 K von der Wellenlänge.