

KAPITEL 4 MODELLIERUNGEN

4.1 Kinetik und Energetik des Kernantenne-RZ-Komplexes

Energietransfer in einem spektral heterogenen Antenne-RZ-Komplex

Seit 1932 von Emerson und Arnold das Konzept der Photosynthetischen Einheit (PSU) eingeführt wurde, gab es zahlreiche Versuche, den Anregungsenergie transfer zwischen den einzelnen Farbstoffmolekülen zu beschreiben (Übersicht in Knox 1996). Aus der Analogie zur Weitergabe angeregter Zustände in Festkörpersystemen rührt auch der Terminus „Exciton“ für den mobilen Anregungszustand. Tatsächlich ist immer nur ein individuelles Molekül angeregt. Bei der Weitergabe des „Anregungszustandes“ durch Resonanzenergie transfer wird der Akzeptor angeregt, während der Donator strahlungslos in den Grundzustand übergeht. Die von Förster vorgeschlagene Theorie (Förster 1946, 1948, 1965) vermag die Wahrscheinlichkeit k_{AD} (Ratenkonstante) für diesen Resonanzenergie transfer durch die Eigenschaften der beteiligten Moleküle und ihrer Umgebung zu beschreiben:

$$k_{AD} = \frac{9\mathbf{k}^2 \ln 10}{128\mathbf{p}^5 n^4 N_A \mathbf{t}_D} \cdot \frac{1}{R_{DA}^6} \int f_D(\tilde{\mathbf{n}}) \mathbf{e}_A(\tilde{\mathbf{n}}) \frac{d\tilde{\mathbf{n}}}{\tilde{\mathbf{n}}^4} \quad \text{Gl. [4.1]}$$

Dabei ist: n - Brechungsindex der Umgebung, N_A - Avogadro-Konstante, R_{DA} - Abstand von Donator und Akzeptor, \mathbf{t}_D - natürliche Fluoreszenzlebensdauer des Donators, f_D - normiertes Fluoreszenzspektrum des Donators, \mathbf{e}_A - Extinktionskoeffizient des Akzeptors, $\tilde{\mathbf{n}}$ - Wellenzahl.

Der Orientierungsfaktor \mathbf{k} zwischen den Übergangsdipolmomenten ist definiert als:

$$\mathbf{k} = \cos \mathbf{b} - 3 \cos \mathbf{a} \cos \mathbf{d} \quad \text{Gl. [4.2]}$$

wobei \mathbf{b} der Winkel zwischen Donator- und Akzeptor-Übergangsdipolmoment ist, sowie \mathbf{a} und \mathbf{d} die Winkel zwischen diesen und dem sie verbindenden Vektor \mathbf{R}_{DA} sind. \mathbf{k}^2 kann Werte zwischen null und vier annehmen. Der von Förster verwendete Wert von 2/3 ergibt sich aus einer Mittelung über alle möglichen Orientierungen. Dies impliziert die Annahme, daß sich die Übergangsdipole schnell bewegen gegen die Transferzeit. Das ist für Chlorophyll-Moleküle im Kernantenne-RZ-Komplex sicher nicht gerechtfertigt.

Das Integral in Gleichung [4.1] wird Förster-Überlapp-Integral (FOI) genannt, da es den spektralen Überlapp zwischen Fluoreszenz des Donators und Absorption des Akzeptors beschreibt. Alle Parameter in Gleichung [4.1], insbesondere der lokale Brechungsindex, die

gegenseitige Orientierung der Übergangsdipolmomente und die genaue Größe des Überlapp-Integrals lassen sich zu einem einzigen Parameter zusammenfassen, dem sogenannten Förster-Radius R_0 . Das ist der Abstand vom Donator, für den die Wahrscheinlichkeiten für Fluoreszenz und Resonanzenergietransfer gleich sind. Dann nimmt Gleichung [4.1] folgende Form an, die nur noch die Abhängigkeit der Transfer-Ratenkonstante vom Abstand zwischen Donator und Akzeptor beschreibt:

$$k_{AD} = \frac{1}{\tau_D} \cdot \left(\frac{R_0}{R_{DA}} \right)^6 \quad \text{Gl. [4.3]}$$

In (Colbow 1973) wurden die verschiedenen eingehenden Größen ausführlich diskutiert und der Förster-Radius für den Energietransfer zwischen identischen Chlorophyll-Molekülen zu 6,5 nm abgeschätzt, Van Grondelle (1985) gibt einen etwas größeren Wert von 8 bis 9 nm an. Diese Zahlen können nur Richtwerte für den *maximal* möglichen Förster-Radius (schnellstmöglicher Transfer) sein, da sowohl der Orientierungsfaktor als auch das Überlappintegral (für Pigmente mit zu großem spektralem Abstand) beliebig klein werden können.

Da das Emissionsspektrum eines Fluorophors gegen sein Absorptionsspektrum um die Stokes-Verschiebung längerwellig liegt, wird das Förster-Überlappintegral maximal werden für Energietransfer zu einem Akzeptor, dessen Absorption bezüglich der des Donators um eben diese Stokes-Verschiebung rötler liegt, also in Richtung niedrigerer Energie (Abwärtstransfer). In einem System ohne schnelle Zerfallskanäle wird sich die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Anregungszustandes auf diese Weise solange umverteilen, bis sich ein thermisches Gleichgewicht (Boltzmannverteilung) zwischen allen beteiligten Zuständen eingestellt hat. Wenn die Fluoreszenz-Emission erst aus diesem äquilibrierten Zustand erfolgt, ist es möglich, für eine bestimmte Temperatur T aus einem Absorptionsspektrum $A(\mathbf{n})$ ein Emissionsspektrum $E(\mathbf{n})$ zu errechnen (Stepanov 1957):

$$E(\mathbf{n}) = C(T) \cdot \mathbf{n}^3 \cdot \exp(-h\mathbf{n}/kT) \cdot A(\mathbf{n}) \quad \text{Gl. [4.4]}$$

Dabei ist C eine nur von der Temperatur abhängige Konstante. Diese Beziehung wurde von Stepanov zunächst für Fluorophore in Lösung abgeleitet, unlängst aber von Dau (1996) auch für gekoppelte Pigment-Komplexe verallgemeinert. Die Erfüllung von Gl. [4.4] („Stepanov-Beziehung“) kann als Kriterium für die Einstellung eines thermischen Gleichgewichts im System verwendet werden.

Im Zustand des thermischen Gleichgewichtes ist die Verteilung der Aufenthaltswahrscheinlichkeit p_i der Anregung über N Pigmente mit den Anregungsenergien E_i gegeben durch die Boltzmann-Verteilungsfunktion:

$$p_i = \frac{\exp(-E_i / kT)}{\sum_{m=1}^N \exp(-E_m / kT)} \quad \text{Gl. [4.5]}$$

Zur Aufrechterhaltung des Gleichgewichtszustandes herrscht sogenanntes detailliertes Gleichgewicht. Das heißt, es erfolgen pro Zeiteinheit genausoviel Übergänge vom Zustand i zum Zustand j wie in Rückrichtung vom Zustand j zum Zustand i .

$$k_{ij} \cdot p_i = k_{ji} \cdot p_j \quad \text{Gl. [4.6]}$$

Dabei ist die Zahl der Übergänge dem Produkt aus Besetzungswahrscheinlichkeit p_i eines Zustandes i und Übergangswahrscheinlichkeit k_{ij} für den Übergang vom Zustand i zum Zustand j proportional. Mit Gl. [4.5] ergibt sich für das Verhältnis von Aufwärts- zu Abwärts-Transferrate mit $E_i < E_j$ folgende Bedingung:

$$\frac{k_{ij}}{k_{ji}} = \exp\left(\frac{E_i - E_j}{kT}\right) \quad \text{Gl. [4.7]}$$

Das heißt, der Aufwärtstransfer ist um den Boltzmannfaktor unwahrscheinlicher („langsamer“). Für den Wert des Überlappintegrals zwischen zwei Pigmenten ist neben ihrem spektralen Abstand die Breite ihrer Spektren entscheidend. Damit die nach Förster aus dem spektralen Überlapp berechneten Raten der Gleichgewichtsbedingung Gl. [4.7] gehorchen, muß deshalb zwischen spektraler Halbwertsbreite $FWHM$ und Stokes-Verschiebung S folgende Beziehung beachtet werden (Laible 1995):

$$(FWHM)^2 = S \cdot 8 \cdot \ln 2 \cdot kT \quad \text{Gl [4.8]}$$

Für eine temperatur-unabhängige Stokes-Verschiebung ergibt sich daraus eine Wurzel-Abhängigkeit der Linienbreite von der Temperatur. Von Zucchelli et al. (1996) wurde eine solche Abhängigkeit für die *homogene* Linienbreite einzelner Pigmente hergeleitet. Die hier verwendete Gleichgewichtsbedingung fordert die Gültigkeit von Gl. [4.8] auch für die *inhomogen* verbreiterten Banden von spektralen Pools.

Die Gesamt-Anregungsabbauzeit hängt von der Größe und Zusammensetzung des Antennenkomplexes ab

Die folgende Darstellung gibt im wesentlichen die Ausführungen von Trissl (1993) wieder. Streng genommen besitzt sie nur Gültigkeit für Systeme im thermodynamischen Gleichgewicht. Dessen Etablierung im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* ist jedoch strittig. Nachdem die Anregung eine Migrationszeit t_{Mig} lang durch die Antenne weitergegeben wurde, kann sie im Reaktionszentrum (RZ) zur Ladungstrennung (charge separation, CS) verwertet werden, die mit einer intrinsischen Zeitkonstante t_{CS} erfolgt. Dieser gesamte Prozeß wird Anregungseinfang (trapping) genannt und dauert die Einfangzeit t_{Trap} , die sich aus Migrationszeit t_{Mig} und Ladungstrennungszeit t_{CS} zusammensetzt. Der umgekehrte Prozeß „detrapping“ mit der „Entkommzeit“ t_{-Trap} besteht nur aus der Ladungsrekombination in den neutralen angeregten Zustand des Reaktionszentrums mit der Rekombinationszeit t_{-CS} . Die entsprechenden Ratenkonstanten k sind jeweils die reziproken Werte zu den Lebensdauern t . Abb. [4.1] zeigt schematisch die Prozesse im Antenne-RZ-Komplex und die ihnen zugeordneten Zeiten bzw. Raten. Die Stabilisierung der Ladungstrennung durch Weitergabe eines Elektrons an den sekundären Akzeptor ist nur der Vollständigkeit halber angegeben. Sie wird in den folgenden Modellen nicht mehr berücksichtigt.

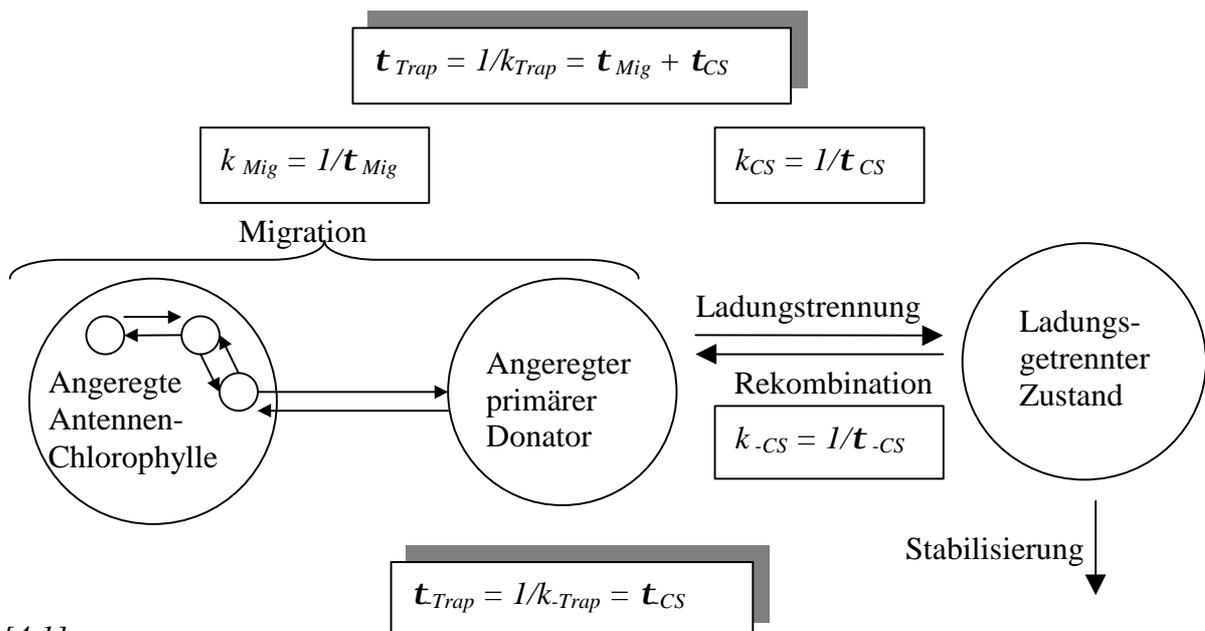


Abb. [4.1]

Schematische Darstellung der Prozesse im Antenne-RZ-Komplex und die ihnen zugeordneten Lebensdauern bzw. Ratenkonstanten

Die freie Standard-Reaktionsenthalpie des Trappingprozesses DG^0_{Trap} setzt sich aus verschiedenen Anteilen zusammen: dem Enthalpie-Anteil im RZ bei der Ladungstrennung DG^0_{RZ} , dem entropischen Anteil in der Antenne ST und der Energiedifferenz zwischen primärem Donator und dem energetisch tiefstliegenden Pigment in der Antenne mit der Energie E_R , wenn dieses tiefer liegt als der primäre Donator mit der Energie E_P : $DE_{rötest} = E_P - E_R > 0$.

$$DG^0_{Trap} = DG^0_{RZ} + ST + DE_{rötest} \quad \text{Gl. [4.9]}$$

Andererseits bestimmt die freie Standardreaktionsenthalpie einer Reaktion DG^0 das Verhältnis der Ratenkonstanten für Hin- und Rückreaktion:

$$DG^0_{Trap} = -kT \cdot \ln(k_{Trap} / k_{-Trap})$$

$$DG^0_{RZ} = -kT \cdot \ln(k_{CS} / k_{-CS}) \quad \text{Gl. [4.10]}$$

Im thermischen Gleichgewicht ist die Zustandssumme im Entropieterm ST gegeben durch die Boltzmannverteilung aus Gl. [4.5]:

$$S = k \cdot \ln \{ \sum_i S_i N_i \exp -[(E_i - E_{rötest})/kT] \} \quad \text{Gl. [4.11]}$$

Das Argument des Logarithmus in Gl. [4.11] stellt eine „effektive Antennengröße“ N_{eff} dar, nämlich die Zahl der Pigmente, die eine äquivalente homogene Antenne mit der Energie $E_{rötest}$ hätte. Für die Pigmentzusammensetzung des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes aus Tabelle [1.1] ergibt sich für N_{eff} ein Wert von 8,14 Pigmenten mit Absorptionsmaximum bei 720 nm.

Einsetzen von Gl. [4.10] und Gl. [4.11] in Gl. [4.9] ergibt:

$$-kT \cdot \ln(k_{Trap} / k_{-Trap}) = -kT \cdot \ln(k_{CS} / k_{-CS}) + kT \cdot \ln N_{eff} + DE_{rötest} \quad \text{Gl. [4.12]}$$

Der Term auf der linken Seite dieser Energiebilanz ist experimentell zugänglich und wurde von Kleinherenbrink et al. (1994) an Proben aus *Synechocystis* zu ~ 180 meV bestimmt. Einsetzen der für *Synechococcus* errechneten Werte für den Entropieterm ST mit ~ 55 meV und die Energiedifferenz $DE_{rötest}$ mit ~ 45 meV erlaubt es, die Enthalpie der intrinsischen Ladungstrennung zu ~ 280 meV abzuschätzen. Damit ergibt sich bei ZT ein Verhältnis zwischen Ladungstrennungsrate und Rekombinationsrate von $\sim 50\,000$.

Nach Entlogarithmierung von Gl. [4.12] und Ersetzen der Ratenkonstanten durch die zugehörigen Lebensdauern erhält man :

$$\mathbf{t}_{Trap} = \mathbf{t}_{CS} \cdot N_{eff} \cdot \exp (DE_{r\ddot{o}test} / kT) \quad \text{Gl. [4.13]}$$

Mit der für den PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* gemessenen Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauer von 34 ps ergibt sich daraus bei ZT eine intrinsische Ladungstrennungszeit von ~ 0,7 ps und eine intrinsische Ladungsrekombinationszeit von ~ 35 ns. Aus Gl. [4.13] ist ersichtlich, daß die meßbare Einfangzeit von drei Faktoren abhängt. Sie nimmt zu mit:

- zunehmender intrinsischer Ladungstrennungszeit
 - zunehmender effektiver Antennengröße (wesentlich durch die roten Pigmente bestimmt)
 - zunehmender Wellenlänge (abnehmender Energie) der tiefstliegenden Antennenpigmente
- Außerdem lehrt Gl. [4.13], daß die Berücksichtigung des Entropietermes in einem komplexen System die intrinsischen Ratenkonstanten um einen „Besetzungsfaktor“ verändert. Aus den intrinsischen Raten gehen auf diese Weise beobachtbare Raten hervor. Für Pigmentpools anstelle von Einzelpigmenten nimmt Gl. [4.7] beispielsweise folgende Form an:

$$\frac{k_{ij}}{k_{ji}} = \frac{N_j}{N_i} \exp \cdot \left(\frac{E_i - E_j}{kT} \right) \quad \text{Gl. [4.14]}$$

wobei N_i und N_j die Poolgrößen („statistisches Gewicht“) von Pool i und Pool j darstellen.

Kinetische Limitierungen im Einfang der Anregungsenergie

Wie bereits im vorherigen Abschnitt gezeigt, setzt sich die Gesamt-Einfangzeit \mathbf{t}_{Trap} der Anregung im Antenne-RZ-Komplex aus mehreren Bestandteilen zusammen. In diesem Abschnitt soll näher darauf eingegangen werden, welcher Anteil wieviel beiträgt. Anders formuliert, es geht um die Frage: welcher Schritt ist limitierend? Eine ausführliche Behandlung findet sich in (Van Grondelle et al. 1994)

Im Gegensatz zu den Ausführungen nach Trissl (1993) im vorigen Abschnitt werden diesmal drei Prozesse unterschieden: Die Migration in der Antenne mit der Lebensdauer \mathbf{t}_{Mig} , der Transfer von der Antenne zum RZ mit der Lebensdauer $\mathbf{t}_{Transfer}$ und die Ladungstrennung im RZ mit der Lebensdauer \mathbf{t}_{Abbau} . Diese Lebensdauern beschreiben die *beobachtbaren* Prozesse. Davon zu unterscheiden sind die *intrinsischen* Lebensdauern \mathbf{t}_{hop} für einen einzelnen Transferschritt zwischen zwei benachbarten Antennenpigmenten, \mathbf{t}_A für den Transfer von einem

Antennenpigment zu einem RZ-Pigment, t_{-A} für den Rücktransfer von einem RZ-Pigment in die Antenne und t_{CS} für die intrinsische Ladungstrennung von P700.

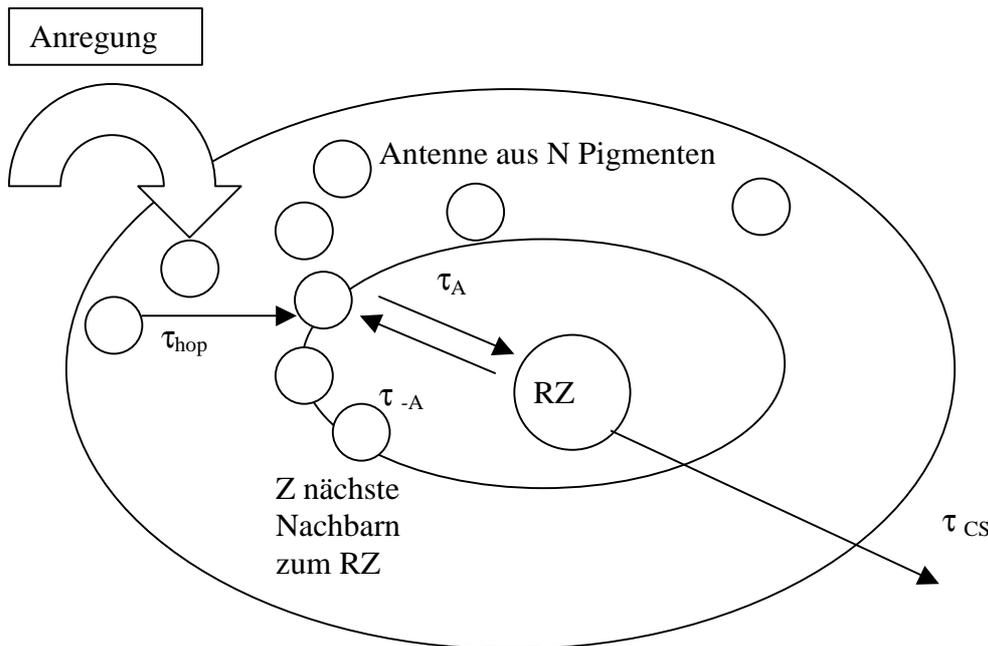
Die explizite Behandlung des Schrittes zwischen Antenne und RZ wird durch die räumliche Isolation des RZ von der Kernantenne nahegelegt.

$$t_{Trap} = t_{Mig} + t_{Transfer} + t_{Abbau} \quad \text{Gl. [4.15]}$$

Für den ersten Summanden in Gl. [4.15] („Diffusion“, „Migration“, „Transfer“, „Äquilibrierung“) gibt es Abschätzungen aus Monte-Carlo-Simulationen des Umherirrens einer Anregung auf regelmäßigen Gittern verschiedener Konstruktion. Diese ergeben, daß die Migrationszeit proportional zur intrinsischen Einzelschrittzeit t_{hop} und zur Zahl der Gitterknoten (Pigmentmoleküle) N ist. Der Proportionalitätsfaktor C ist abhängig von der Art des Gitters.

Abb. [4.2]

Schematische Darstellung der Prozesse in einem homogenen Antenne-RZ-Komplex mit ihren intrinsischen Lebensdauern



Für den zweiten Summanden in Gl. [4.15] besteht eine historisch gewachsene Begriffsverwirrung („Trapping“, „Transfer“, „Transfer-to-the-trap“). Hier wird der dritte (jüngste) Terminus benutzt. Die Zeit für den Transfer von der Antenne ins RZ $t_{Transfer}$ ist bestimmt durch die dafür nötige intrinsische Transferzeit t_A . Sie wird dadurch verkürzt, daß dieser Transfer-to-the-trap von

mehreren Pigmenten erfolgt und verlängert dadurch, daß (im Fall einer homogenen Antenne) auf jedem dieser Z Pigmente nur $1/N$ der Anregung sitzt. Es ist der Einfluß des Entropie-Termes, der die intrinsischen Lebensdauern um die Besetzungswahrscheinlichkeit des Ausgangsmoleküls zu den makroskopisch beobachtbaren verlängert. Die apparenten Lebensdauern sind *länger* als die intrinsischen, da die Besetzungswahrscheinlichkeit für alle Pigmente stets < 1 ist.

Der dritte Summand in Gl. [4.15] stellt die Ladungstrennungszeit dar. Für ihn wird häufig der Begriff „trapping“ gebraucht, was zu Verwechslungen führen kann, da ja auch der Gesamt-Anregungsabbau-Prozeß „trapping“ genannt wird. In (Van Grondelle et al. 1994) wird die Besetzungswahrscheinlichkeit des RZ mit $N(t_A/t_{-A})$ angegeben. Das ist allerdings nur gerechtfertigt für $t_A > t_{-A}$, d.h. wenn der Transfer ins RZ langsamer ist als der aus dem RZ. Für den umgekehrten Fall könnte die Besetzung des RZ > 1 werden, was zu unsinnigen Ergebnissen führt.

Einsetzen in Gl. [4.15] ergibt:

$$t_{Trap} = C N t_{hop} + N/Z t_A + N(t_A/t_{-A}) t_{CS} \quad \text{Gl. [4.16]}$$

Je nach dem, welcher dieser drei Summanden in Gl. [4.16] nun überwiegt, spricht man von Diffusions-Limitierung im ersten Fall, von Transfer-to-the-trap-Limitierung im zweiten Fall und von Trap-Limitierung im dritten Fall.

Aufgrund der beobachteten schnellen Depolarisierung der Fluoreszenz (Du et al. 1993) geht man von einer schnellen Äquilibration in der Antenne aus, zumindest innerhalb der großen blauen Pools und vernachlässigt den ersten Summanden. Dann kann man, wenn man von der Antennengröße (N) und -organisation (Z) absieht, nach Ersetzen der Lebenszeiten t durch die zugehörigen Ratenkonstanten $k=1/t$, aus Gl. [4.16] folgende Beziehung erhalten:

$$k_{Trap} = \frac{k_A \cdot k_{CS}}{k_{-A} + k_{CS}} \quad \text{Gl. [4.17]}$$

Diese Gleichung findet Verwendung zur Beschreibung kinetischer Daten. Je nach dem, welchen Summanden man im Nenner vernachlässigt, erhält man den Trap-limitierten oder den Transfer-to-the-trap-limitierten Fall. Es ist zu sehen, daß eine solche Vernachlässigung gerechtfertigt ist nur für den Fall $k_{-A} \gg k_{CS}$ oder umgekehrt, nicht aber, wie das seltsamerweise getan wird (Van Grondelle et al. 1994, White et al. 1996, Beddard 1998), für den schwächeren Fall $k_{-A} > k_{CS}$ oder umgekehrt.

4.2 Simulation der Kinetik im Kernantenne-RZ-Komplex

Beschreibung durch ein lineares Differentialgleichungssystem erster Ordnung

Die Kinetik des Anregungstransportes und –abbaues im PS I Kernantenne-RZ-Komplex läßt sich durch ein System gekoppelter Differentialgleichungen erster Ordnung beschreiben. Dabei wird die zeitliche Änderung der Population eines jeden betrachteten Zustandes (Einzelpigment, Pigmentpaar oder Pigmentgruppe, ladungsgetrennter Zustand) als Funktion der Populationen aller Zustände des Systems und der Ratenkonstanten für die Übergänge zwischen diesen Zuständen beschrieben. Da alle betrachteten Transfer- und Zerfallsprozesse erster Ordnung sind (nur den Populationen in erster Potenz proportional), handelt es sich um ein lineares Differentialgleichungssystem. Es besteht aus soviel Differentialgleichungen, wie Zustände betrachtet werden. Für ein System aus nur zwei Zuständen mit den Populationen p^1 und p^2 sieht das beispielsweise folgendermaßen aus:

$$\begin{aligned} dp^1/dt &= -(k_{11} + k_{12}) \cdot p^1 + k_{21} \cdot p^2 \\ dp^2/dt &= k_{12} \cdot p^1 - (k_{22} + k_{21}) \cdot p^2 \end{aligned} \quad \text{Gl. [4.18]}$$

Dabei ist k_{12} die Ratenkonstante für den Anregungstransfer vom Zustand 1 zum Zustand 2, k_{21} die für den umgekehrten Prozeß vom Zustand 2 zum Zustand 1, k_{11} die für alle intrinsischen Anregungsabbau-Prozesse aus dem Zustand 1 (beispielsweise Fluoreszenz, interne Konversion, etc.) und k_{22} die für alle intrinsischen Anregungsabbau-Prozesse aus dem Zustand 2 (beispielsweise zusätzlich noch Ladungstrennung). Gl. [4.18] läßt sich kompakt darstellen, wenn man einen Besetzungsvektor \mathbf{p} einführt, der als Komponenten die Populationen der einzelnen Zustände enthält. Dann nimmt Gl. [4.18] folgende Form an:

$$d\mathbf{p}/dt = T\mathbf{p} \quad \text{Gl. [4.19]}$$

Dabei ist T die Matrix der Koeffizienten in Gl. [4.18] und wird „Transfermatrix“ genannt. Es ist zu erkennen, daß alle Nicht-Diagonalelemente durch die entsprechenden Übergangswahrscheinlichkeiten zwischen den Zuständen gebildet werden (mit positivem Vorzeichen), während auf der Hauptdiagonale die Summe aller anderen Transfer-Koeffizienten einer Spalte zuzüglich der intrinsischen Zerfalls-Raten des entsprechenden Zustandes mit negativem Vorzeichen auftritt. Die allgemeine Lösung des Gleichungssystems Gl. [4.19] hat die Form einer Summe aus Exponentialfunktionen. Dabei besteht die Summe aus soviel Exponentialfunktionen, wie Zustände am System beteiligt sind.

$$\mathbf{p}(t) = \mathbf{S}_i \mathbf{A}_i \exp(\mathbf{I}_i t) \quad \text{Gl. [4.20]}$$

A_i ist dabei der Vektor der Amplituden der i -ten Exponentialfunktion über alle Zustände (Pigmente), also das zerfalls-assoziierte Spektrum (DAS) des Prozesses mit der Lebensdauer

$$\mathbf{t}_i = \mathbf{I} / -\mathbf{I}_i \quad \text{Gl. [4.21]}$$

Die \mathbf{I}_i sind dabei die Eigenwerte der Transfermatrix T , die A_i die zugehörigen Eigenvektoren.

Das Minus in Gl. [4.21] taucht auf, da die Lebensdauern nur positive Werte haben können, während alle λ kleiner als null sind. Das ist eine Eigenschaft, die aus der Konstruktion der Transfermatrix T resultiert und nun kurz am Beispiel des Zwei-Zustands-Systems aus Gl. [4.18] demonstriert werden soll.

Eigenschaften der Eigenwerte einer Transfermatrix

Wenn die Transfermatrix T formal aus den reellen Koeffizienten a bis d besteht:

$$T = \begin{array}{|c|c|} \hline a & b \\ \hline c & d \\ \hline \end{array} \quad \text{Gl. [4.22]}$$

sind ihre Eigenwerte \mathbf{I} gegeben durch:

$$\det \begin{array}{|c|c|} \hline a-\mathbf{I} & b \\ \hline c & d-\mathbf{I} \\ \hline \end{array} = 0 \quad \text{Gl. [4.23]}$$

beziehungsweise:

$$\mathbf{I} = \frac{a+d}{2} \pm \sqrt{\left(\frac{a+d}{2}\right)^2 - (ad-bc)} \quad \text{Gl. [4.24]}$$

Für die zweite Klammer unter der Wurzel ergibt sich durch Einsetzen der Werte aus Gl. [4.18]:

$$(ad-bc) = k_{11} k_{22} + k_{11} k_{21} + k_{12} k_{22} > 0 \quad \text{Gl. [4.25]}$$

Da die erste Klammer unter der Wurzel in Gl. [4.24] nicht-negativ ist, wird damit die Wurzel insgesamt stets kleiner als der Summand vor der Wurzel. Dieser letztere setzt sich aber aus den Diagonalelementen der Transfermatrix T zusammen, die den Anregungszerfall beschreiben und stets negativ sind: $-(k_{11} + k_{21} + k_{12} + k_{22}) < \mathbf{I}_1 \leq -(k_{11} + k_{21} + k_{12} + k_{22})/2 \leq \mathbf{I}_2 < 0$ qed.

Komplettes Ersetzen der Formalparameter a bis d durch die Ratenkonstanten k_{ij} in Gl. [4.24] liefert eine Formel, aus der ersichtlich ist, daß der Ausdruck unter der Wurzel insgesamt nicht-negativ ist. Damit ist auch gezeigt, daß die \mathbf{I} reell sind:

$$-\mathbf{I} = \frac{1}{2} \left(k_{11} + k_{12} + k_{21} + k_{22} \pm \sqrt{(k_{11} + k_{12} - k_{21} - k_{22})^2 + 4k_{12}k_{21}} \right) \quad \text{Gl. [4.26]}$$

Aus Gl. [4.26] kann man ersehen, daß die Lebensdauern des Systems nur von den beteiligten Ratenkonstanten abhängen, nicht jedoch von der Anfangsverteilung \mathbf{p}_0 der Anregung im System.

Beobachtete Lebensdauern für einige Spezialfälle eines Zwei-Zustands-Systems

Der Ausdruck unter der Wurzel in Gl. [4.26] kann auch umgruppiert werden, was sich als günstig erweist zur Abschätzung des Wurzeltermes für einige Grenzfälle:

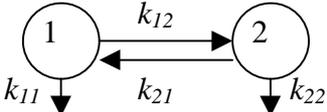
$$-I = \frac{1}{2} \left(k_{11} + k_{12} + k_{21} + k_{22} \pm \sqrt{(k_{12} + k_{21})^2 + 2(k_{12} - k_{21})(k_{11} - k_{22}) + (k_{11} - k_{22})^2} \right) \quad \text{Gl. [4.27]}$$

Je nach dem, ob die Transferraten k_{12} und k_{21} nun langsam oder schnell sind gegenüber den Zerfallsraten k_{11} und k_{22} und ob die Transferraten k_{12} und k_{21} ausgeglichen oder stark verschieden sind, lassen sich nun für den Wurzelterm in Gl. [4.27] verschiedene Näherungslösungen finden, die in Tabelle [4.1] überblicksartig aufgeführt sind.

Auch hier ist für die Güte der Beschreibung durch die Näherungslösung ausschlaggebend, wie gut die angegebenen Bedingungen erfüllt sind. In der Regel erweisen sich die mittels der vorgestellten Formeln ermittelten Lebensdauern als unbefriedigend, wenn der zu vernachlässigende Anteil weniger als eine Größenordnung vom jeweiligen Vergleichswert abweicht.

Tabelle [4.1]

Beobachtete Transfer- ($-I_1$) und Zerfallskonstanten ($-I_2$) in einem Zwei-Pool-System für einige Spezialfälle. „ \gg “ bedeutet: mindestens eine Größenordnung

System: 	der Transfer ist schnell $k_{12} + k_{21} \gg k_{11} - k_{22}$	der Transfer ist langsam $k_{12} + k_{21} \ll k_{11} - k_{22}$
der Transfer ist ausgeglichen $k_{12} - k_{21} \sim 0$	$k_{12} + k_{21} + (k_{11} + k_{22})/2$ $(k_{11} + k_{22})/2$ „gemittelter Zerfall“	$k_{11} + (k_{12} + k_{21})/2$ $k_{22} + (k_{12} + k_{21})/2$ „gemittelter Transfer“
der Transfer ist unausgeglichen $k_{12} - k_{21} \sim k_{12} + k_{21}$	$k_{11} + k_{12} + k_{21}$ k_{22} „Alles für den schnellen“	$k_{11} + k_{12}$ $k_{22} + k_{21}$ „Trennung der Pools“

Skalierung der Eigenvektoren (DAS) durch die Anfangsverteilung der Anregung

Die Eigenvektoren A_i geben, wie bereits erwähnt, die Amplitude einer jeden Exponentialfunktion für jeden der Teile des Systems an und repräsentieren damit das Prozeß-assozierte Spektrum für den Prozeß, der durch diese Exponentialfunktion beschrieben wird. Jeder der Eigenvektoren A_i der Transfermatrix T ist nur bis auf einen multiplikativen Faktor C_i genau bestimmt. Damit nimmt die Lösung in Gl. [4.20] des Differentialgleichungssystems Gl. [4.18] (wieder am Beispiel des Zwei-Komponenten-Systems) folgende Form an:

$$\begin{aligned} p^1(t) &= C_1 \cdot A^1_1 \cdot \exp(\mathbf{I}_1 t) & + & C_2 \cdot A^1_2 \cdot \exp(\mathbf{I}_2 t) \\ p^2(t) &= C_1 \cdot A^2_1 \cdot \exp(\mathbf{I}_1 t) & + & C_2 \cdot A^2_2 \cdot \exp(\mathbf{I}_2 t) \end{aligned} \quad \text{Gl. [4.28]}$$

Dabei steht der *obere* Index j für die unterschiedlichen Pigmente (Zustände), während der *untere* Index i die Prozesse (Zeiten) bezeichnet. Die C_i sind die Skalierungsfaktoren für die Eigenvektoren A_i . Zu ihrer Bestimmung betrachten wir das System zum Zeitpunkt $t=0$. Dann nehmen alle Exponentialterme auf der rechten Seite von Gl. [4.28] den Wert 1 an. Auf der linken Seite von Gl. [4.28] steht dann die Anregungsverteilung $p(0)=p_0$, also das Absorptionsspektrum des Systems und wir erhalten:

$$p_0 = S_i C_i A_i \quad \text{Gl. [4.29]}$$

Wenn man jetzt umgekehrt die A_i als Koeffizienten betrachtet, stellt Gl. [4.29] ein Gleichungssystem zur Bestimmung der unbekanntenen C_i dar mit der Lösung

$$C_i = A^{-1} p_0 \quad \text{Gl. [4.30]}$$

Dabei ist A die Matrix aus den Eigenvektoren der Transfermatrix T und A^{-1} die dazu inverse Matrix. Einsetzen der Lösung Gl. [4.30] in Gl. [4.28] liefert als konkrete Lösung für das Ausgangs-Differentialgleichungssystem Gl. [4.18] folgende Form:

$$p(t) = A L A^{-1} p_0 \quad \text{Gl. [4.31]}$$

Dabei ist L eine Matrix, die nur die Exponentialterme $\exp(\mathbf{I}_i t)$ auf der Hauptdiagonale enthält. Die DAS sind dann gegeben durch folgenden Ausdruck wobei der Stern (*) elementweise Multiplikation anstatt Matrixmultiplikation bezeichnet:

$$DAS_i = A_i *(A^{-1} p_0)_i \quad \text{Gl. [4.32]}$$

Gl. [4.32] zeigt, daß verschiedene Anfangsverteilungen p_0 zu verschiedenen DAS für ein und dieselbe kinetische Komponente führen. Diese DAS sind jedoch superpositionierbar in dem Sinne, daß das DAS, das sich als Summe der DAS für zwei verschiedene Anfangsverteilungen p_{01} und p_{02} ergibt, dem DAS gleicht, das sich aus der Anfangsverteilung $p_{01} + p_{02}$ ergibt. Deshalb muß zur Untersuchung des kinetischen Verhaltens des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes nicht die Anregung eines jeden Pigments einzeln betrachtet werden. Vielmehr kann die gleichzeitige Anregung aller Pigmente wie sie für den PS I Kernantenne-RZ-Komplex durch unspezifische Anregung bei 631 nm gegeben ist, durch die Verwendung eines Anregungsvektors p_0 , der nur Einsen enthält, modelliert werden.

Lebensdauern und DAS in Abhängigkeit von den Transfer- und Zerfallsraten

Das hier als Beispiel vorgestellte Zwei-Pool-System bietet den Vorteil einfacher Behandelbarkeit. Das drückt sich zum einen dadurch aus, daß die Eigenwerte als Lösung einer quadratischen Gleichung analytisch zugänglich sind, während komplexere Systeme größere Transfer-Matrizen nach sich ziehen, deren Eigenwerte numerisch gesucht werden müssen.

Zum anderen enthalten die DAS-Vektoren nur zwei Komponenten. Es ist aber nicht deren absolute Größe, die uns interessiert, sondern ihr Verhältnis, also ebenfalls eine analytisch ausdrückbare Zahl.

Damit haben wir einen Weg, das Verhalten eines überschaubaren kinetischen Modell-Systems in Form von vier einfachen Abhängigkeiten zu untersuchen: zwei Lebensdauern und zwei Amplitudenverhältnissen für die Spektren. Dies bietet die Möglichkeit, gezielt die Auswirkungen von Veränderung der intrinsischen Parameter wie z.B. Transferraten auf das makroskopisch beobachtbare kinetische Verhalten des Systems zu verfolgen. Dazu betrachten wir ein vollständig fiktives, nur zum Studium der kinetischen Eigenschaften dienendes Antenne-RZ-System aus zwei Pools, wie es in Abb. [4.3] dargestellt ist und variieren die Transferraten zwischen den Pools.

Da uns die Eigenschaften (Größe und Farbe) der Pools in diesem Beispiel nicht weiter interessieren, können wir sie so wählen, daß sich mit diesen Zahlen aus der Gleichgewichtsbedingung für Hin- und Rücktransferrate bei ZT der runde Faktor zehn ergibt (siehe Gl. [4.14]).

Die Veränderung der Transferraten erfolgt relativ zu den Zerfallsraten. Umgekehrt könnten für fixierte Transferraten die Zerfallsraten variiert werden. Welche der Parameter tatsächlich verändert werden, hat keinen Einfluß auf das Verhalten des Systems.

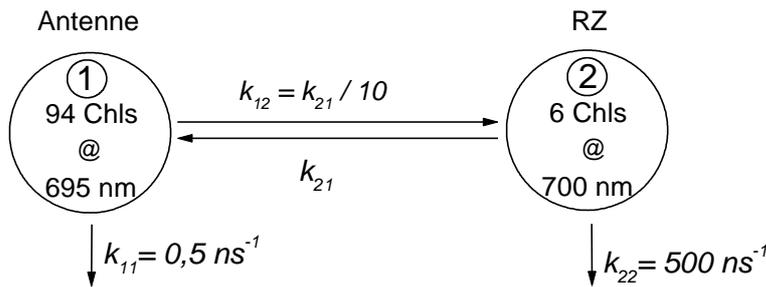


Abb. [4.3]

Schema eines fiktiven Antenne-RZ-Systems aus einer 94 Chl-Antenne mit Absorptionsmaximum bei 695 nm und langsamem Anregungsabbau $t_{11}=2\text{ ns}$ (Pool 1) und einem 6 Chl RZ mit Absorptionsmaximum bei 700 nm und schnellem Anregungsabbau $t_{22}=2\text{ ps}$ (Pool 2).

Abb. [4.4] zeigt die errechneten Lebensdauern (*a*) und die Amplitudenverhältnisse für die zugehörigen DAS (*b*) in Abhängigkeit von der Transferrate k_{21} aus dem kleinen RZ-Pool 2 zum großen Antennen-Pool 1. Beide Achsen sind in logarithmischem Maßstab dargestellt.

Zur Orientierung wurde die Horizontale $y=1$ gestrichelt eingefügt. Zusätzlich zeigen zwei vertikale Strich-Linien die Werte der Transferrate an, für die Lebensdauern und Amplituden mehr als 10% von den für die Grenzfälle „Transfer-limitiert“ oder „Trap-limitiert“ erwarteten Werten abweichen

Abb. [4.4a] zeigt, daß für die Lebensdauern des Systems tatsächlich Grenzbereiche existieren, wo die Gesamt-Abbauzeit der Anregung (*obere Kurve*) beinahe ausschließlich von den Transferraten abhängt (*linke Seite*) oder beinahe gar nicht (*rechte Seite*). Dies sind die Regimes, die entsprechend Transfer- oder Trap-limitiert genannt werden können. Dazwischen gibt es jedoch einen Bereich, wo sowohl die Transfer- als auch die intrinsischen Zerfallsraten den Gesamt-Anregungszerfall wesentlich beeinflussen. Dieser Zwischenbereich umfaßt eine Veränderung der intrinsischen Transferraten um fast zwei Größenordnungen. Interessanterweise ist es dieser Zwischenbereich, wo sich die Lebensdauern der beiden Prozesse am meisten annähern, während sie sich für die Grenzfälle schnell auseinanderbewegen.

Beide Lebensdauern sind auf beiden Pools beobachtbar, das kinetische Verhalten beider Pools ist biphasisch. In Abb. [4.4b] ist das Verhältnis der Amplituden der Emission von beiden Pools A^1/A^2 für beide Lebensdauern gezeigt. Für die schnelle Transferkomponente (*untere Kurve*) ist dieses Verhältnis immer negativ; zur bequemeren Darstellung wurde es mit -1 multipliziert.

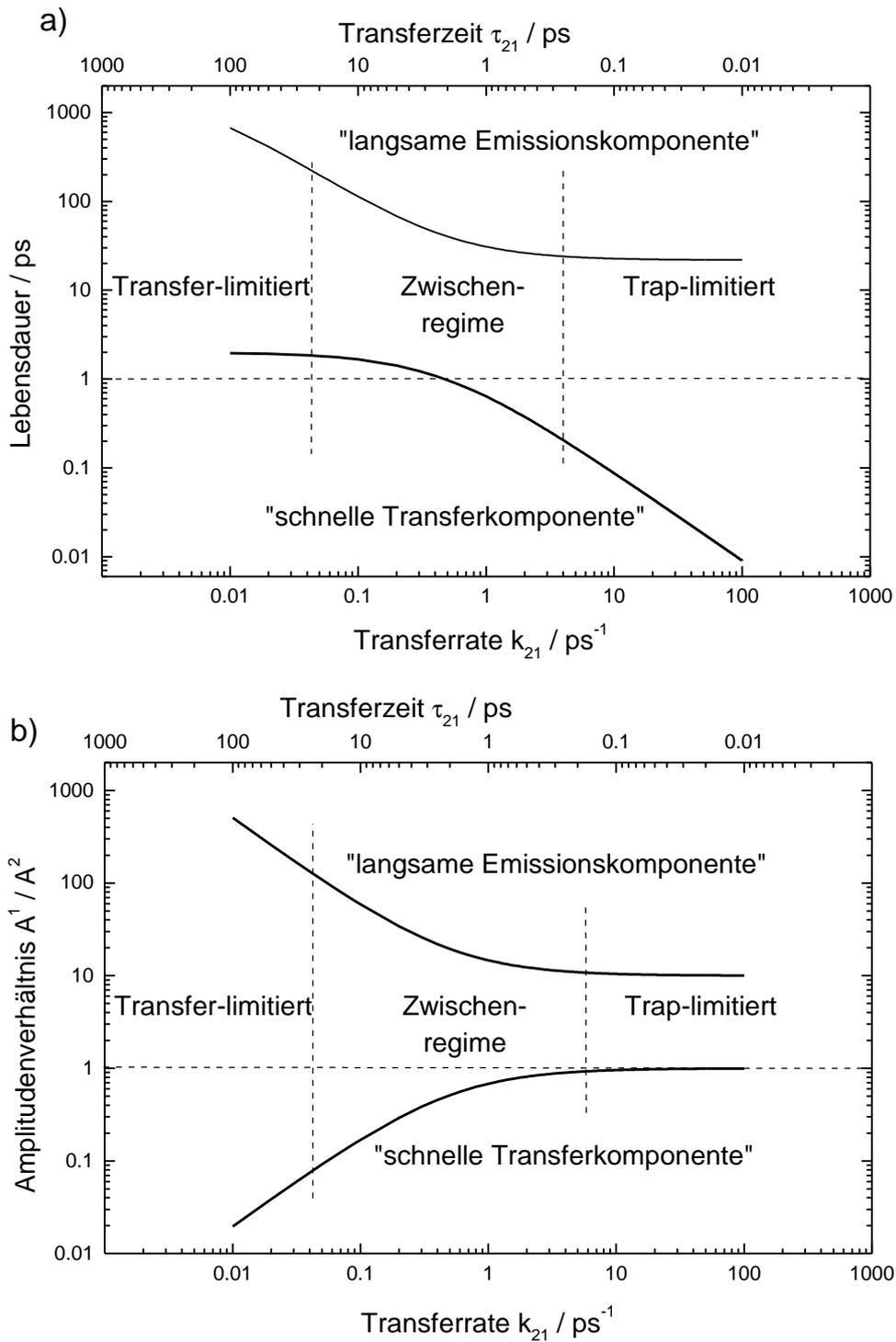


Abb. [4.4]

Abhängigkeit der Lebensdauern (a) und Amplitudenverhältnisse (b) des in Abb. [4.3] dargestellten fiktiven Zwei-Pool-Antennen-RZ-Komplexes von der Transferrate $RZ \rightarrow$ Antenne. Für die schnelle Transferkomponente ist das Amplitudenverhältnis immer negativ. Zur Darstellung wurde es mit -1 multipliziert. Ordinate und Abszisse sind in logarithmischem Maßstab dargestellt.

Im Trap-limitierten Regime (*rechte Seite*) spiegelt das Amplitudenverhältnis der langlebigen Komponente das Verhältnis der Hin- und Rücktransferraten zwischen den Pools (also 10) wider und damit eine Boltzmann-Gleichgewichtsverteilung, wie sie gemäß dem detaillierten Gleichgewicht zwischen Hin- und Rückrate erwartet wird. Für die Komponente mit der kürzeren Lebensdauer ist das Amplitudenverhältnis unter Trap-limitierten Bedingungen gleich -1 , was den konservativen Charakter des Energietransferprozesses widerspiegelt (gleiche Absolutwerte der Amplituden für Energiedonator und -akzeptor). Verläßt man das Trap-limitierte Regime indem man die Transferraten verringert (Bewegung nach links auf der Abszisse), so führt das zu einer zunehmenden Abweichung sowohl von der Boltzmann-Gleichgewichtsverteilung (A^1/A^2 nimmt für die langsame Emissionskomponente zu) als auch vom konservativen Charakter der Energietransfer-Komponente (A^1/A^2 nimmt ab). Diese Abweichungen werden durch den Umstand verursacht, daß es im System einen Zerfallskanal gibt, der schneller ist als der schnellste Transferschritt zwischen den beiden Pools.

Außerdem kann man aus Abb. [4.4] entnehmen, daß die „langsame Emissionskomponente“ immer durch den langsamsten Prozeß im System dominiert wird, sie kann also auch Transfer-dominiert sein. Umgekehrt kann die Lebensdauer eines Spektrums mit Transfer-Charakter von einem schnellen Trap-Prozeß herrühren. Der Charakter eines DAS sagt also allein noch nichts aus über den Prozeß, der seine Lebensdauer bestimmt.

Damit ist es gelungen, anhand eines, wenn auch nicht immer überschaubaren, so doch analytisch exakt lösaren und damit nachvollziehbaren Modells einige wesentliche Eigenschaften kinetischer Limitierungen herauszufinden:

- * Außer streng „limitierten“ Regimes existieren solche, wo die beobachtbare Kinetik von allen intrinsischen Prozessen wesentlich beeinflußt wird. Für solche „ausgeglichenen“ Systeme kommen sich die verschiedenen beobachteten Lebensdauern des Systems am nächsten.
- * Systeme mit im Vergleich zum Anregungsabbau schnellem Transfer, also „Trap-limitiert“ zeichnen sich durch konservative Transfer-DAS und Boltzmann-äquilibrierte Emissions-DAS aus.
- * Für Systeme mit im Vergleich zum Anregungsabbau langsamem Transfer, also „Transfer-limitiert“ verlieren Transfer-DAS ihren konservativen Charakter, was auch eine nicht-Boltzmann-äquilibrierte Emission nach sich zieht.

4.3 Pool-Modelle: keine Berücksichtigung räumlicher Information

Warum „Poolmodelle“ ?

Der PS I Kernantenne-RZ-Komplex enthält pro Monomer ~ 100 Chlorophyll-Moleküle, pro Trimer sogar ~ 300. All diese Pigmentmoleküle unterscheiden sich in ihrer lokalen Protein-Umgebung (Pigment-Protein-Wechselwirkung) und Anordnung (Pigment-Pigment-Wechselwirkung, Orientierung). Eine konsequente kinetische Modellierung müßte all diese Information berücksichtigen. Das stößt auf zwei Probleme. Zum einen ist ein Großteil dieser Information nicht verfügbar. Zwar wurden in letzter Zeit Strukturdaten des kristallisierten PS I Kernantenne-RZ-Komplex in immer besserer Auflösung publiziert (Witt 1995, Schubert et al. 1997, Fromme & Witt 1998, Klukas et al. 1999), zur Bestimmung der Lage der Übergangsdipolmomente reichen diese jedoch (noch) nicht aus. Für die Berechnung von Pigment-Protein- oder Pigment-Pigment-Wechselwirkungen sind ebenfalls räumliche Informationen mit besserer Auflösung Voraussetzung (Beddard 1998a). Dieses erste Problem kann gelöst werden durch weitere Verbesserung der Strukturdaten.

Ein zweites Problem stellt sich von kinetischer Seite: Im vorigen Abschnitt 4.2 sahen wir, daß die kinetische Modellierung so viele Lebensdauern und zugehörige Spektren ergibt, wie unterschiedliche Spezies betrachtet werden. Die experimentell ermittelten DAS bei ZT (siehe Abschnitt 3.3) enthalten jedoch nur vier Komponenten, zwei davon mit sehr geringen Amplituden und überall positiv, also möglicherweise von Pigmenten, die vom Komplex kinetisch abgekoppelt sind. Zur Beschreibung einer solchen de facto Zwei-Komponenten-Kinetik reicht ein Zwei-Zustands-Modell aus. Kompliziertere Modelle können aufgestellt werden, ergeben aber zusätzliche, nicht unmittelbar am Experiment überprüfbare Lebensdauern und Spektren. Außerdem weicht die Einführung zusätzlicher Parameter die Aussagekraft des Modells auf. Deshalb blieb bis in die jüngste Zeit die Beschreibung der Kinetik angeregter Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex auf sogenannte „Pool“- oder „connected boxes“- Modelle beschränkt. Dabei wird der gesamte Komplex mehr oder weniger willkürlich in mehrere Untereinheiten, die „Pools“ aufgeteilt, die sich durch ihre spektralen Eigenschaften unterscheiden. *Zwischen verschiedenen Pools* erfolgt der Anregungsenergieaustausch auf einer experimentell zugänglichen Zeitskala, während die spektral-räumliche Äquilibrierung *innerhalb eines Pools* als sehr schnell angenommen wird. Das ist dadurch gerechtfertigt, daß im Experiment keine schnelleren Zeiten

aufgelöst wurden. In letzter Zeit zeichnet sich jedoch ab (Gobets et al. 1998a,b, Savikhin et al. 1999), daß kinetische Komponenten im Subpikosekundenbereich auflösbar sind.

Historischer Überblick

Das erste derartige „connected boxes“-Modell des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes wurde von Holzwarth et al. (1993) vorgeschlagen. Es wurde notwendig, weil in dieser Arbeit erstmals bei ZT ein Transferspektrum aufgelöst wurde. Abb. [4.5] zeigt dieses Modell, das durch seine Einfachheit besticht:

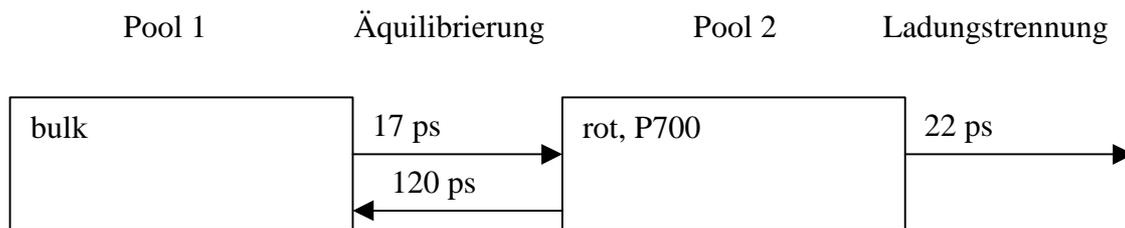


Abb. [4.5]

Zwei-Pool-Modell des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes aus (Holzwarth et al. 1993) mit Trap-Limitierung

Die Äquibrierung zwischen beiden Pools ergibt ein Transferspektrum mit 12 ps Lebensdauer, die Abfolge von Äquibrierung und Ladungstrennung einen Gesamt-Anregungsabbau („Trapping“) mit einer Lebensdauer von 35 ps und überall positivem Spektrum. Problematisch blieb die physikalische Zuordnung der beiden Pools. Gemäß Gl. [4.14] ergibt deren Größe und Energie das Verhältnis von Hin- und Rückrate des Transfers zwischen ihnen. Andererseits müssen sie zusammen Absorptions- und Emissionsspektrum des Komplexes widerspiegeln. Da sich dies nur unbefriedigend quantifizieren ließ, wurden die Teilung vorgenommen in eine „Haupt(,bulk‘)antenne“ mit ~ 90 Chlorophyll-Molekülen und Absorption um 680-690 nm, sowie einen kleinen „roten“ Pool mit Absorption um 710 nm, der auch den primären Donator P700 enthalten soll. Zwischen diesen Pools erfolgt dann die beobachtbare langsame Äquibrierung der Anregungsenergie mit 12 ps. Für die Äquibrierung innerhalb der Pools wurde mittels transients Absorption eine Zeitobergrenze von 3 ps bestimmt. Beide Prozesse sind schneller als die Ladungstrennung mit 22 ps. Daraus schließen (Holzwarth et al. 1993), daß die Kinetik Trap-limitiert sei.

Zur Erklärung der gleichen Daten aus (Holzwarth et al. 1993) schlugen Valkunas et al. (1995) ein erweitertes Modell vor, das drei anstelle von zwei Pools enthielt. Schematisch ist es in Abb. [4.6] dargestellt. Dabei wurde der primäre Donator P700 aus der Antenne herausgelöst und als extra

„Pool“ betrachtet. Das geschah in Anlehnung an die Struktur und Kinetik des bakteriellen LH1-RZ-Komplexes, wo sich der Abstand zwischen Antennen-Pigmenten untereinander einerseits und Antennen-Pigmenten und primärem Donator andererseits sehr stark unterscheidet, was eine kinetische Limitierung beim Schritt von der Antenne zum primären Donator zur Folge hat. So eine kinetische Trennung von Antenne und RZ ist für das PS I aufgrund der derzeit aufgelösten Struktur nicht auszuschließen.

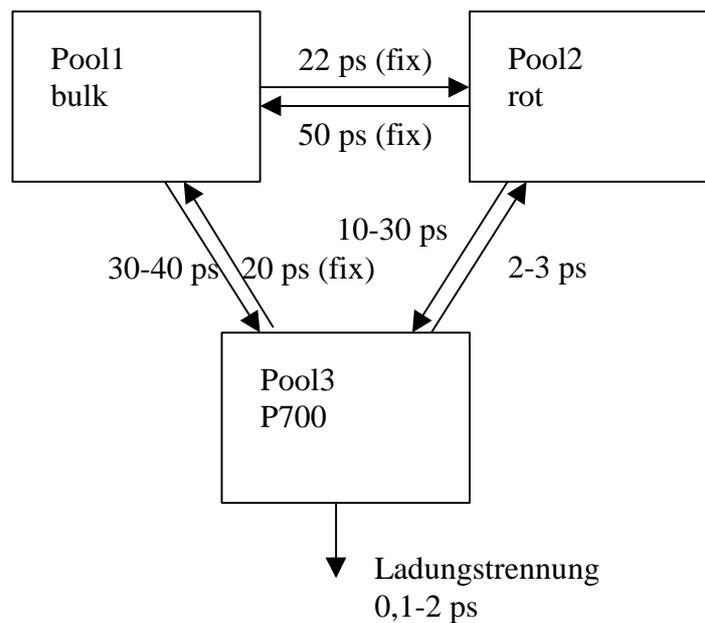


Abb. [4.6]

Drei-Pool-Modell des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes aus (Valkunas et al. 1995) mit Transfer-to-the-Trap-Limitierung

Das in Abb. [4.6] gezeigte System zeichnet sich dadurch aus, daß es ebenfalls nur zwei „beobachtbare“ Lebensdauern aufweist. Die zu erwartende dritte kinetische Komponente beschreibt den intrinsischen Zerfall der Anregung aus Pool 3 und hat zu geringe Amplitude und Lebensdauer, um registriert zu werden. Die Transfer-Lebensdauer 12 ps stammt wie im vorigen Modell von der Äquilibrierung zwischen den Antennen-Pools. Die Gesamtzerfalls-Komponente mit einer Lebensdauer von 34 ps setzt sich nun allerdings aus dieser Äquilibrierung und dem Transfer von beiden Antennen-Pools zum Trap, nämlich P700 zusammen. Dieser Schritt ist „limitierend“ und die nachfolgende Ladungstrennung beeinflusst den gemessenen Gesamtzerfall nur geringfügig. Tatsächlich sind die beiden Prozesse, Äquilibrierung und Transfer-to-the-trap, jedoch vergleichbar schnell (vergl. die Raten von Pool 1 zu Pool 2 und von Pool 1 zu Pool 3), so daß dieses Modell eher eine allgemeine „Transfer-Limitierung“ darstellt.

Weitere zwei Jahre später wurde das vorstehende Drei-Pool-Modell mit „Transfer-to-the-trap“-Limitierung (Abb. [4.6]) von Jennings et al. (1997) erweitert und verfeinert zu einem Vier-Pool-Modell mit „pertubated equilibrium“ (siehe Abb. [4.7]).

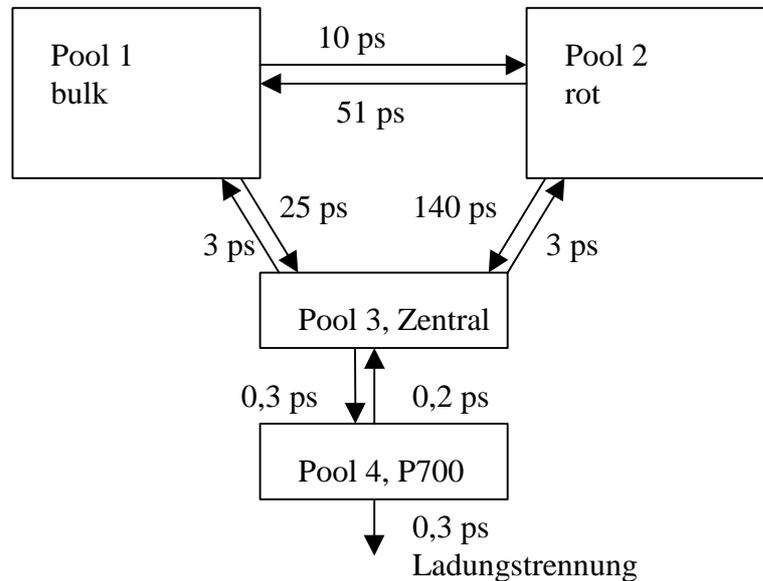


Abb. [4.7]

Vier-Pool-Modell des PS I Antenne-RZ-Komplexes aus (Jennings et al. 1997) mit „Pertubated Equilibrium“

Die inzwischen verfügbare Struktur ergab, daß P700 tatsächlich vom Gros der Antennen-Pigmente isoliert ist, jedoch durchaus einige (4-6) Chlorophyll-Moleküle in seiner unmittelbaren Umgebung aufweist. Diese wurden nun in einen extra „Zentral“-Pool zusammengefaßt, der einerseits im Kontakt mit der Hauptantenne steht, andererseits aber von P700 so schnell entvölkert wird, daß sich hier keine Gleichgewichts-Besetzung ausbilden kann. Abb. [4.7] zeigt schematisch das Modell und die vorgeschlagenen Transferzeiten.

Dieses Modell soll die Kinetik des Anregungszustandes in einem PS I Komplex aus Mais beschreiben, der noch die peripheren Antennen und damit insgesamt etwa 200 Chl pro P700 enthält. Das hat Auswirkungen auf die Größe der Antennen-Pools (1 und 2) und die gemessene Gesamt-Anregungsabbauzeit (80-120 ps anstatt ~ 35 ps), nicht jedoch auf die Prozesse direkt im RZ, also Pool 3 und Pool 4.

Croce et al. (1996) fanden im Bereich um 695 nm eine Differenz zwischen gemessenem Fluoreszenzspektrum und dem mittels Stepanov-Relation Gl. [4.4] aus dem Absorptionsspektrum errechneten Fluoreszenzspektrum. Die Größe dieser „Gleichgewichtsstörung“ von 5 bis 6 Chl wurde als ein Kriterium für das kinetische Modell in Abb. [4.7] benutzt. Es stellte sich heraus, daß die Störung nur dann genügend groß wird, wenn der Transfer Zentralpool? P700 schneller

ist als die Ladungstrennung von P700 aus (sonst entsteht die Unterbesetzung auf P700). Das aber bedeutet, daß der Transfer zum P700 nicht limitierend ist. Andererseits muß die intrinsische Ladungstrennung schnell genug sein, damit sich auf P700 kein „Stau“ ausbildet. Damit ist der Einfluß der letzten Schritte (ab Pool 3) auf die Gesamt-Anregungsabbauzeit gering gegen den der vorhergehenden. Die Limitierung liegt also, wie beim vorigen Modell (Abb. [4.6]) postuliert, im „Transfer-to-the-trap“. Doch während bei Valkunas et al. (1995) der Schritt zu P700 limitierend war, ist es jetzt bei Jennings et al. (1997) der Schritt zum „Zentralpool“.

Andererseits schlug Trissl (1997) vor, daß möglicherweise gerade der Schritt zum P700 limitierend sein könnte. Das würde erklären, wieso offene und geschlossene Zentren mit annähernd gleicher Effizienz die Fluoreszenz löschen, obwohl unterschiedlich schnelle intrinsische Abbaukanäle zu vermuten sind.

Damit stehen drei einander teilweise widersprechende Versuche nebeneinander, den kinetischen Verlauf von Äquilibrierung und Abbau des angeregten Zustandes im PS I Kernantenne-RZ-Komplex mittels Poolmodellen zu erklären. Aufgrund des vorhandenen Datenmaterials ist eine eindeutige Entscheidung gegen den einen oder für einen anderen Vorschlag nicht zu fällen. Die vorgeschlagenen Modelle sind zu wenig aussagekräftig, bzw. es existieren zu wenig Daten, die eine Entscheidung zulassen. Zu beachten ist, daß alle vorgestellten Modelle nur zur Beschreibung von Messungen bei ZT benutzt wurden. Das Auftreten von zusätzlichen kinetischen Komponenten bei Tieftemperaturmessungen (siehe Abschnitt 3.4) weist jedoch darauf hin, daß

- mehrere Pools in die Beschreibung einbezogen werden können und
- die bei tiefer Temperatur geänderte Kinetik den Pool-Modellen zusätzliche Bedingungen auferlegt, die zu ihrer Unterscheidung nützlich sein können.

Drei-Pool-Modell zur Beschreibung der Dynamik angeregter Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex mit offenem und geschlossenem RZ bei ZT und 5 K

Das hier vorgestellte (Abb. [4.8]) Drei-Pool-Modell knüpft an die im vorigen Abschnitt (historischer Überblick) vorgestellten Pool-Modelle an. Es soll jedoch wesentlich mehr leisten: Ein Satz von Parametern soll, physikalisch sinnvoll modifiziert, den PS I Kernantenne-RZ-Komplex in vier unterschiedlichen Zuständen beschreiben: offene und geschlossene RZ, bei ZT und 5 K. Als Kriterien sollen sowohl Fluoreszenzkinetik als auch –ausbeuten beschrieben werden können.

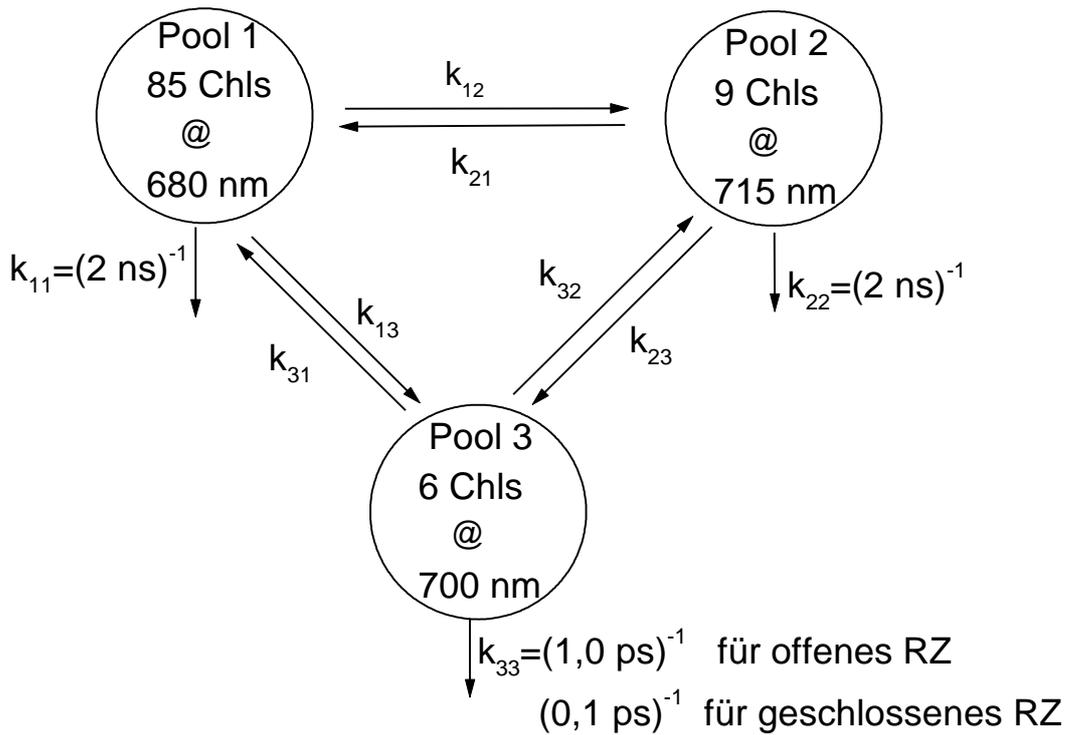


Abb. [4.8]

Drei-Pool-Modell des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes

Andererseits soll das Modell aber so einfach wie möglich aufgebaut sein. Dafür mußten verschiedene Kompromisse eingegangen werden. Die Fluoreszenz bei 5 K zeigt zum Beispiel mehrere Komponenten mit Emissionsmaxima bei Wellenlängen zwischen 720 nm und 750 nm (Vergl. Bilder [3.15] bis [3.18]). Jeder dieser Komponenten könnte (müßte) ein eigener Pool zugeschrieben werden. Es fehlen jedoch die Transfer-Komponenten für die Energie-Umverteilung zwischen diesen Pools. Zum anderen wächst die Zahl der anzupassenden Parameter (intrinsische Transferzeiten) quadratisch mit der Anzahl der involvierten Pools. Damit wird die Aussagekraft des Modells natürlich geringer. Deshalb bleibt das vorliegende Modell auf drei Pools begrenzt.

Ein besonderes Problem ist mit dem Oxidationszustand des primären Donators verbunden. Die spektralen Eigenschaften von P700 und P700⁺ unterscheiden sich stark. Das Absorptionsspektrum des Chlorophyll-Kations weist eine flache, breite Bande auf, die sich bis über 800 nm erstreckt (siehe Diskussion, Abschnitt 5.1). Deshalb kann der oxidierte Donator P700⁺ eigentlich nicht Teil eines Chl-Pigmentpools sein. Ein Herauslösen aus dem RZ-Pool jedoch hätte das Auftreten von sechs neuen Ratenkonstanten zur Folge. Ein solches Modell mit

gesonderter Betrachtung von $P700^+$ wird in (Byrdin et al. 1998) diskutiert. Hier soll ein anderer Weg beschrrieben werden und die Veränderungen im spektralen Überlapp zwischen Antennen-Chlorophyll-Molekülen und $P700$ bzw. $P700^+$ bei der Modifizierung der Ratenkonstanten für den Transfer vom und zum RZ-Pool Berücksichtigung finden.

Das Modell besteht aus drei Pools, davon zwei Antennenpools, einem „blauen“ (Pool 1) aus 85 Chl mit maximaler Absorption bei 680 nm und einem „roten“ (Pool 2) aus 9 Chl mit maximaler Absorption bei 715 nm. Aus diesen beiden Antennenpools kann die Anregung mit einer intrinsischen Lebensdauer t_{11} und t_{22} von 2 ns (Ide et al. 1987) abgebaut werden. Der RZ-Pool (Pool 3) wird von 6 Chl mit maximaler Absorption bei 700 nm gebildet, zwei der Moleküle bilden dabei $P700$. Die Größe dieses Pools wird von der Röntgenstruktur nahegelegt. Es sei wiederholt, daß in der Gegenwart von $P700^+$ der RZ-Pool in zwei funktionelle Unter-Pools zerfällt, da der spektrale Überlapp zwischen $P700^+$ und dem restlichen RZ-Chl deutlich reduziert ist und nicht länger von ultraschneller Energie-Äquilibration innerhalb des RZ ausgegangen werden kann. Aus dem RZ-Pool kann die Anregung für offenes RZ durch Ladungstrennung intrinsisch zerfallen mit einer Lebensdauer t_{33} von 1 ps oder durch interne Konversion mit einer Lebensdauer t_{33} von 0,1 ps für geschlossenes RZ (siehe Diskussion, Abschnitt 5.1).

Die Ratenkonstanten für Hin- und Rücktransfer wurden für ZT durch die Gleichgewichtsbedingung (Gl. 4.14) gemäß Größe und Energie der Pools aneinander gekoppelt, für 5 K wurden aufgrund des drastisch reduzierten kT alle Aufwärts-Raten der Einfachheit halber auf null gesetzt. Damit ist die Zahl der freien Parameter pro Zustand auf drei Transferraten reduziert. Alle Abwärtsraten wurden beim Übergang zu 5 K um den Faktor zwei bis drei reduziert (Bandenverschmälerung führt zu verringertem spektralem Überlapp). Außerdem wurden beim Übergang zu geschlossenen Zentren die Raten zum RZ-Pool etwas willkürlich um die Hälfte reduziert, um dem geringeren Überlapp zu $P700^+$ Rechnung zu tragen. Die Rück-Raten bleiben davon unbeeinflusst, da der Rück-Transfer hauptsächlich von den nicht- $P700$ RZ-Pigmenten erfolgt. Der Rück-Transfer von $P700^+$ ist aufgrund der schnellen Löschung durch interne Konversion unwahrscheinlich.

Das Modell ergibt drei Lebensdauern mit den zugehörigen DAS für die Dynamik des angeregten Zustandes. Zweierlei Kriterien für die „besten“ Ratenkonstanten fanden Anwendung. Zum einen sollten die drei Lebensdauern t_i und ihre Spektren A_{ij} die dominanten Komponenten der experimentell beobachteten Kinetik (siehe Bilder [3.10, 3.15, 3.16]) wiedergeben. Zum anderen sollte die Gesamtfluoreszenzausbeute, definiert als $S_j A_j \cdot t$ der Abbau-Komponente (wobei j die

Summation über alle Pigment-Pools anzeigt), die Ergebnisse der Fluoreszenzinduktions-Messungen (siehe Bilder [3.4] und [3.7]) beschreiben, also (fast) gleiche Ausbeute für offenes und geschlossenes RZ bei ZT, sowie bei 5 K eine ~10-fache Zunahme für geschlossenes RZ und eine ~20-fache Zunahme für offenes RZ gegenüber ZT.

Tabelle [4.2] listet die optimalen Werte für die eingehenden Parameter (intrinsische Transferzeiten t_i) des Modells und die sich daraus ergebenden apparenten Größen (Lebensdauern t_i mit zugehörigen DAS) sowie die aus Lebensdauer und Spektrum der „langsamen Emission“ errechnete Fluoreszenzausbeute für die unterschiedlichen Bedingungen auf.

Das Ergebnis der Anpassung des Modells (Tabelle [4.2]) an die Messungen weist folgende grundlegende Züge auf: eine erste, ultraschnelle Komponente mit einer Lebensdauer <1 ps (d.h. jenseits der Zeitauflösung unserer Apparatur) beschreibt hauptsächlich den ultraschnellen Anregungsabbau mittels Ladungstrennung aus dem Zustand P700* oder mittels strahlungslosem Zerfall aus einem höher angeregten Zustand von P700⁺. Eine zweite Komponente mit einem nicht-konservativen Transferspektrum und Lebensdauern von 12-17 ps bei ZT und 28–33 ps bei 5 K gibt im wesentlichen die Entvölkerung des „blauen“ Kernantennen-Pools sowohl in den „roten“ Kernantennen-Pool als auch in den RZ-Pool wieder. Eine dritte Komponente mit Lebensdauern von 40 ps bei ZT sowohl für offenes als auch für geschlossenes RZ und 1.8 ns für offenes RZ und 480 ps für geschlossenes RZ bei 5 K mit einem überall positiven Spektrum schließlich beschreibt den Gesamt-Anregungsabbau.

Im einzelnen stellt sich das Bild für die vier unterschiedlichen Bedingungen folgendermaßen dar: Bei ZT wird der zehn mal schnellere intrinsische Anregungsabbau auf P700⁺ kompensiert durch eine zweifache Verlangsamung des Transfers in den RZ-Pool (zu P700⁺), was zu beinahe identischen Lebensdauern und DAS führt. Dies weist klar darauf hin, daß der Gesamt-Anregungsabbau bestimmt ist sowohl vom Transfer aus dem „roten“ Kernantennen-Pool (über den „blauen“) in den RZ-Pool als auch vom intrinsischen Anregungsabbau im RZ-Pool. Die experimentell beobachtete Abweichung vom konservativen Charakter des Transfer-DAS wird vom Modell-DAS qualitativ wiedergegeben. Diese Abweichung ist auch der Grund dafür, daß das Emissions-DAS sich zu mehr als den 100 Anregungsquanten summiert. Was im Transfer zuviel am „roten“ Pool ankommt, muß dort auch „zuviel“ zerfallen. Die Summe aller Spektren beachtet das Erhaltungsgesetz. Die gute Übereinstimmung zwischen Modellrechnung und experimentellen Ergebnissen legt nahe, daß die ZT-Kinetik des Anregungszerfalls im PS I

Kernantenne-RZ- Komplex tatsächlich weder eine „Trap-“ noch eine „Transfer-“ limitierte Situation darstellt, sondern eher im Zwischenregime liegt.

Tabelle [4.2]

Werte der intrinsischen Parameter (Transfer-Lebensdauern τ_{ij} , zwei Indices) und Ergebnisse (DAS und apparente Lebensdauer t_i , ein Index) für das in Abb. [4.8] dargestellte Drei-Pool-Modell für die unterschiedlichen Bedingungen. Die letzte Zeile enthält die relative Fluoreszenzausbeute, berechnet als das Produkt aus Amplitude und Lebensdauer der „langsamen Emissionskomponente“.

Bedingungen		ZT	ZT	5 K	5 K
		offenes RZ	geschl. RZ	offenes RZ	geschl. RZ
Intrinsische Lebensdauern in ps	τ_{12} / τ_{21}	40 / 120	40 / 120	100 / -	40 / -
	τ_{13} / τ_{31}	20 / 4	40 / 4	40 / -	200 / -
	τ_{23} / τ_{32}	1 / 17	1 / 35	3 / -	2 / 600
Ultraschnelle Zerfalls- Komponente	Lebensdauer t_1 in ps	0.44	0.089	0.75	0.10
	Amplitude A1	-0,42	-0,13	-10^{-4}	-10^{-5}
	bei Pool # A2	-1,7	-0,52	-1,1	-0,28
	A3	3,8	5,8	4,4	6,0
Schnelle Transfer- Komponente	Lebensdauer t_2 in ps	12	17	28	33
	Amplitude A1	60	59	85	85
	bei Pool # A2	-64	-64	-40	-75
	A3	-0,35	-0,033	1,6	0,028
Langsame Emissions- Komponente	Lebensdauer t_3 in ps	40	40	1800	480
	Amplitude A1	25	27	0,10	0,25
	bei Pool # A2	75	74	50	85
	A3	2,5	0,25	0,0033	0,014
	$S=A1+A2+A3$	103	101	50	85
rel. Fluoreszenzausbeute = $S \cdot t_3$		4000	4000	89 000	40 000

Bei 5 K unterscheiden sich die Fluoreszenzausbeuten für Proben mit offenem und geschlossenem RZ ungefähr um den Faktor zwei (vergl. Abb. [3.7]). Die entsprechenden Lebensdauern der Komponenten mit dem größten Ausbeuteanteil unterscheiden sich mit 400 ps bzw. 1,3 ns, (vergl. Abb. [3.15] und [3.16]) jedoch stärker als um einen Faktor drei. Die Spektren lassen auch erkennen, daß beide Emissionen vom „roten“ Pigmentpool stammen. Um Konsistenz zwischen Lebensdauer- und Ausbeutenverhältnis zu erlangen, muß man schlußfolgern, daß in PS I mit geschlossenem RZ mehr Anregungen den „roten“ Pigmentpool erreichen als in PS I mit offenem RZ (Änderung der Amplitude). Das läßt sich folgendermaßen erklären: In PS I mit offenem RZ garantiert der reduzierte Donator P700 guten spektralen Überlapp mit den übrigen RZ-Pigmenten und kann demgemäß etwa die Hälfte der Anregungen aus der Kernantenne löschen, ehe sie von den „roten“ Pigmenten eingefangen werden können. In PS I mit geschlossenem RZ ist der Überlapp zu P700⁺ reduziert wegen dessen im Vergleich zu P700 geringerer Absorption und der im Vergleich zu ZT verringerten Bandbreiten. Im Ergebnis dessen kann sogar jener Teil der Anregungsenergie, der den RZ-Pool erreicht, leichter zurückfließen in die Kernantenne, d.h. zu den „roten“ Pigmenten als vorwärts zu P700⁺. Auf diese Weise wird in geschlossenem PS I ein größerer Teil der Anregung auf den „roten“ Pigmenten eingefangen. Das Modell macht klar, daß aufgrund der veränderten Absorptionseigenschaften von P700⁺ (im Vergleich zu P700) sich die Identität des langsamsten Äquilibrierungsschrittes unterscheidet für PS I mit geschlossenem RZ und PS I mit offenem RZ. Für offenes RZ ist die Äquilibrierung zwischen „blauem“ Kernantennen-Pool und RZ-Pool schneller als die Äquilibrierung zwischen einerseits diesen beiden Pools und andererseits dem „roten“ Kernantennen-Pool. Im Gegensatz dazu ist für geschlossenes RZ die Äquilibrierung zwischen „blauem“ und „rotem“ Kernantennen-Pool schneller als die Äquilibrierung zwischen jedem dieser beiden und dem RZ-Pool. Diese Änderung im Charakter der 5 K Kinetik ist es, die sich in den geänderten Werten für die Transferlebensdauern t_{12} und t_{13} in Tabelle [4.2] ausdrückt. Die entscheidende Rolle, die den geänderten spektralen Eigenschaften von P700⁺ bzw. P700 zukommt, unterstreicht, was das vorliegende Modell vom „Transfer-to-the-trap“-limitierten Modell unterscheidet, wie es von Valkunas et al. (1995) in Abb. [4.6] und von Jennings et al. (1997) in Abb. [4.7] vorgeschlagen wurde. Dort erfolgte der Ausschluß von P700 bzw. der RZ-Pigmente aus dem Äquilibrium aufgrund ihrer isolierten *Lokalisierung* bezüglich der Kernantennen-Pigmente – hier läuft ein beachtlicher Teil des Anregungsenergietransfers durch das RZ mit Ausnahme von P700⁺, aufgrund seiner modifizierten *spektralen* Eigenschaften.

4.4 Hybridmodell: acht homogene äquidistante Pigmentpools

Weshalb „Hybridmodell“ ?

Die Pools der im vorigen Abschnitt (4.3) behandelten Modelle stellten relativ abstrakte Gebilde dar. Sie faßten spektral ähnliche Pigmente zusammen, ohne daß diese spektralen Eigenschaften einen direkten Einfluß auf die Transfer-Raten zwischen den Pools ausübten. Das ist auch nicht möglich, da sich die Inter-Pool-Transferraten ihrerseits auf komplizierte Weise aus den Inter-Pigment-Transferraten zwischen Pigmenten unterschiedlicher Pools zusammensetzen.

In diesem Abschnitt soll die rein phänomenologische Pool-Modellierung aus Abschnitt (4.3) deshalb dahingehend modifiziert werden, daß die Transfer-Raten von den spektralen Eigenschaften der Pool-Pigmente ausgehend *vorwärts* berechnet werden. Die Pools werden dabei als zu Massenpunkten komprimiert und äquidistant angeordnet gedacht, d.h. die räumliche Information wird vernachlässigt. Dieser Modellierungsschritt stellt eine Zwischenstufe beim Übergang zur Modellierung einzelner Pigmente (Pools der Größe 1) unter Verwendung räumlicher Information dar. Deshalb werden solche Modelle hier als „Hybridmodelle“ bezeichnet.

Alle Modelle mit expliziter Berechnung der Försterraten aus den individuellen Pigmentspektren müssen auf ZT beschränkt bleiben, da über deren Form bei niedrigen Temperaturen noch weniger experimentelle Daten vorliegen als bei ZT.

Berechnung der Förster-Transferraten

Die spektrale Abhängigkeit der Ratenkonstante für den Pigment-Pigment-Anregungsenergieübertrag in Gl [4.1] ist gegeben durch den Überlapp zwischen Emission des Donators und Absorption des Akzeptors, das Förster-Überlapp-Integral (FOI). Zu seiner Berechnung müssen Lage (Absorptions- bzw. Emissionsmaximum) und Form der Spektren (Absorption und Fluoreszenz) bekannt sein. Für die Definition der spektralen Lage der Pools wird die Zerlegung des Tieftemperatur-Absorptionspektrums aus Tabelle [1.1] benutzt. Die genaue spektrale Form eines einzelnen Chlorophyll-Moleküls in einer Protein-Matrix ist weder in Absorption noch in Emission bekannt. *In vitro* Spektren von Chl a in Lösung sind nur bedingt aussagekräftig, da bekannt ist, daß das Chl-Spektrum sensibel ist auf die Umgebungsbedingungen (vergl. Abschnitt 3.1). Hoffnung besteht, seit es kürzlich gelungen ist, aus dem Cyanobakterium *Synechocystis PCC6803* einen Cytochrom b_6f -Komplex zu isolieren, der nur ein einziges Chl a enthält und daran erste Spektren zu gewinnen (Peterman et al. 1998).

Vorerst jedoch muß man sich auf Modell-Spektren stützen. Dafür gibt es verschiedene Ansätze. Colbow (1973) simulierte das Chl a Absorptionsspektrum durch eine einfache Gaußbande und das zugehörige Emissionsspektrum durch eine Stokes-verschobene identische Gaußbande. Shipman & Housman (1979) verfeinerten diesen Ansatz, indem sie das *in vitro* Chl a Absorptionsspektrum als Summe von vier Gaußbanden beschrieben (Shipman et al. 1976) und das Emissionsspektrum daraus mittels Spiegelung gewannen. Laible (1995) schließlich modifizierte die von (Shipman & Housman 1979) vorgeschlagene Gaußbanden-Zusammensetzung, indem er statt der für die Emission unwesentlichen Q_X Bande den für die Erfüllung der Stepanov-Beziehung notwendigen $Q_Y(1-0)$ Übergang berücksichtigte. Das Emissionsspektrum wurde danach mittels der Stepanov-Relation (Gl. [4.4]) aus dem Absorptionsspektrum gewonnen. Alternativ versuchten (Zucchelli et al. 1998) eine analytische Beschreibung der Bandenform als Funktion von Phononen-Hauptfrequenz n_m und Kopplungsstärke S . Für diese Parameter gibt es Anhaltspunkte aus Lochbrennexperimenten (Gillie et al. 1989, 1989a) und Studien zur thermischen Bandenverbreiterung (Zucchelli et al. 1996, Croce et al. 1998). Emissionsspektren wurden wiederum als Spiegelbilder der Absorptionsspektren gewonnen.

Da es sich bei dieser Betrachtung immer um die Spektren *einzelner* Chl Moleküle handelt, ist davon auszugehen, daß der Emission eine komplette Thermalisierung vorausgeht. Damit ist das Fluoreszenzspektrum am besten durch die Stepanov-Beziehung beschrieben, die nur bei (Laible 1995) Verwendung fand. Deshalb wurde diesem Ansatz zur Berechnung des Förster-Überlapp-Integrals ungeachtet der semi-empirischen Bandenform der Vorzug gegeben.

Im Ansatz von (Laible 1995) wird zur Berechnung der FOI die Stokes-Verschiebung zwischen Absorptionsmaximum und Emissionsmaximum eines Pigmentes als expliziten Parameter berücksichtigt (siehe Gl. [3.34] in Laible 1995). Aus dem Fehlen experimenteller *in vivo* Chl a Absorptions- und Emissionsspektren folgt auch das Fehlen unmittelbar spektroskopisch bestimmter Angaben zur Größe der Stokes-Verschiebung. Da die Stokes-Verschiebung auf die Vibrationsrelaxation im angeregten Molekül zurückzuführen ist, läßt sich ihre Größe jedoch aus der Temperaturabhängigkeit der homogenen Bandenbreite ermitteln. Außerdem ist die Stokes-Verschiebung proportional zu den der Lochbrennspektroskopie zugänglichen Größen Phononen-Hauptfrequenz n_m und Kopplungsstärke S (Cattaneo et al. 1995). Die von Gillie et al. (1989, 1989a) gefundenen Werte für n_m und S ergeben Werte von 1,5 nm Stokes-Verschiebung für Chl aus der Antenne und von ~ 20 nm für die P700-Chlorophylle.

Colbow (1973) benutzte für seine Abschätzung des Förster-Radius‘ eine Stokes-Verschiebung von ~ 2 nm.

Andererseits sind Stokesverschiebung und spektrale Bandbreite über die Bedingung für das detaillierte Gleichgewicht miteinander verknüpft (Gl. [4.8]). Das ergibt für die in (Laible 1995) verwendete Bandenform eine Stokesverschiebung von 130 cm^{-1} , bzw. ~ 7 nm. Nur die Verwendung dieses Wertes garantiert die Relaxierung des ungestörten Komplexes in den Zustand des thermischen Gleichgewichtes. Deshalb wurde für die Simulation darauf zurückgegriffen. Problematisch dabei ist die Verwendung einer uniformen Stokes-Verschiebung und Bandbreite für alle Pools, obwohl unabhängige Quellen darauf hinweisen, daß sowohl P700 als auch die „roten“ Pigmente breitere Banden aufweisen (spektrales Lochbrennen: Gillie et al. 1989, 1989a, Fluoreszenzanregungsspektroskopie: Gobets et al. 1994, Absorptionsdifferenzspektroskopie: Pålsson et al. 1998, Zerlegung des 5 K Absorptionsspektrums: Flemming 1996). Mögliche Konsequenzen dieser Vereinfachung werden am Ende der Arbeit (Abschnitt 5.4) diskutiert werden. Tabelle [4.3] zeigt die unter diesen Voraussetzungen errechneten Werte für das Förster-Überlapp-Integral zwischen den acht in Tabelle [1.1] aufgeführten spektralen Pigmentformen.

nach→ von ↓	A668	A674	A679	A685	A695	A702	A708	A720
A668	1	1.21317	1.15342	0.90377	0.5151	0.39022	0.36511	0.42634
A674	0.61079	1	1.1975	1.15927	0.73914	0.50225	0.39661	0.38212
A679	0.33268	0.68201	1	1.21118	0.97462	0.67229	0.48857	0.365
A685	0.13671	0.34167	0.62328	1	1.19163	0.94324	0.68795	0.39817
A695	0.02827	0.07676	0.17317	0.40526	1	1.21651	1.1203	0.64114
A702	0.01099	0.02627	0.05916	0.15597	0.58124	1	1.20635	0.93756
A708	0.00588	0.01183	0.02422	0.06301	0.28961	0.64775	1	1.16304
A720	0.00223	0.0038	0.00608	0.01204	0.05197	0.15304	0.34776	1

Tabelle [4.3]

Werte für das Förster-Überlapp-Integral (FOI) zwischen den acht in Tabelle [1.1] aufgeführten spektralen Pigmentformen berechnet nach (Gl. [3.34]) aus (Laible 1995) mit 130 cm^{-1} Stokes-Verschiebung.

Die Skalierung wurde so gewählt, daß das FOI für den Transfer zwischen isoenergetischen Pigmenten gleich eins wird. Dadurch können die Werte aus Tabelle [4.3] später direkt zur Skalierung der aus dem Abstand ermittelten Transferraten benutzt werden. Verwendet man die

Werte aus Tabelle [4.3] selbst als Transferraten in ps^{-1} , so entspricht das bei einem Försterradius von 6,5 nm einem Interpigmentabstand von 1,3 nm (vergl. Gl. [4.3]). Die Zahlen gelten für den Transfer vom Pigment in der ersten Spalte zum Pigment in der ersten Zeile, so daß in der rechten oberen Hälfte der Tabelle die FOI für den Abwärts-Transfer stehen und in der linken unteren Hälfte die FOI für den Aufwärts-Transfer. Der beste Überlapp besteht erwartungsgemäß zwischen Pigmenten, deren Absorptionsmaxima sich um die Stokes-Verschiebung unterscheiden, nämlich A695 und A702.

Ergebnisse

Die an diesem Modell durchgeführten Berechnungen sollen vorwiegend als Demonstration dienen, was kinetische Modellierung leisten kann, wie modellierte DAS aussehen und wie sie auf Veränderung der Parameter reagieren. Biologisch relevante Aussagen sind bei kompletter Vernachlässigung des räumlichen Aspektes nicht zu erwarten.

Da bei der Modellierung hier grundsätzlich mit nicht-selektiver, also stöchiometrischer Anregung gerechnet wird, ist zum Zeitnullpunkt die Anregung gemäß den Poolgrößen aus Tabelle [1.1] verteilt. Abb. [4.9] zeigt diese Verteilung symbolisch in stehenden Säulen. Nach Einstellung eines thermischen Gleichgewichtes sollte sich die Anregung gemäß dem Boltzmanngesetz Gl. [4.5] in der Antenne umverteilt haben. In Abwesenheit von schnellen Abbauprozessen wie Ladungstrennung wird die Emission aus diesem Boltzmann-verteilten Zustand erfolgen. Diese Besetzungsverteilung ist für ZT symbolisch in Abb. [4.9] durch hängende Säulen dargestellt.

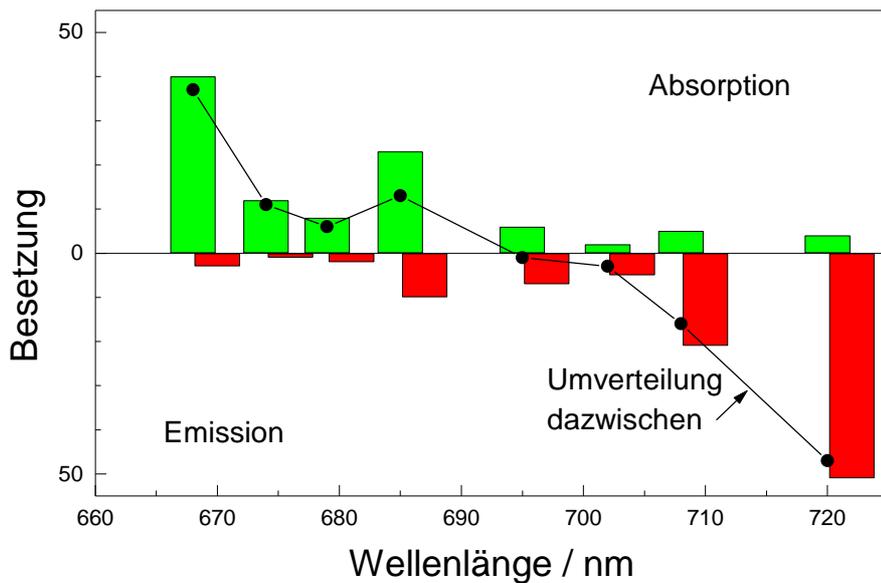


Abb. [4.9]

Symbolische Darstellung der Verteilung des Anregungszustandes im PSI Kernantenne-RZ-Komplex zum Zeitpunkt der Anregung (stehende Säulen, Absorption) und nach Einstellung des thermischen Gleichgewichtes (hängende Säulen, Emission)

Die verbundenen Punkte zeigen das DAXS eines unendlich schnellen Umverteilungsprozesses.

Zwischen Ausgangszustand (Absorption) und Endzustand (Emission) muß also eine Anregungsumverteilung vor sich gehen, die durch die kinetische Modellierung beschrieben werden soll. Würde diese Umverteilung unendlich schnell vor sich gehen, hätte das zu diesem Umverteilungsprozeß gehörige DAS den im Abb. [4.9] durch die Punkte dargestellten Verlauf, d.h. die Differenz zwischen Absorption und Emission. Es sei hier noch einmal daran erinnert (vergl. Abschnitt 2.4), daß die modellierten DAS sich auf die Absorptionswellenlänge beziehen, also Anregungsspektren darstellen und zum Vergleich mit gemessenen DAS erst Stokes-verschoben und Gauß-verbreitert werden müssen. Deshalb werden die modellierten Spektren hier DAXS genannt, „Decay-Associated eXcitation Spectra“.

Tatsächlich wird sich die Umverteilung mit endlicher Geschwindigkeit vollziehen und zwar mit sieben unterschiedlichen Zeitkonstanten mit ihren zugehörigen DAXS. Dabei hängen die Zeitkonstanten von den Ratenkonstanten für den Pool zu Pool-Transfer ab und die zugehörigen DAXS außerdem noch von der Anfangsverteilung der Anregung, wie sie in Abb. [4.9] gezeigt ist (siehe Abschnitt 4.2). Benutzt man die in Tabelle [4.3] aufgeführten Werte für die FOI als Pool zu Pool-Transferraten in ps^{-1} und läßt außerdem von jedem Pool einen intrinsischen Zerfall mit einer Fluoreszenzlebensdauer von 2 ns zu, so erhält man die in Abb. [4.10] dargestellten DAXS. Die Lebensdauer zu jedem DAXS ist der Übersichtlichkeit halber am Minimum eines jeden DAXS vermerkt.

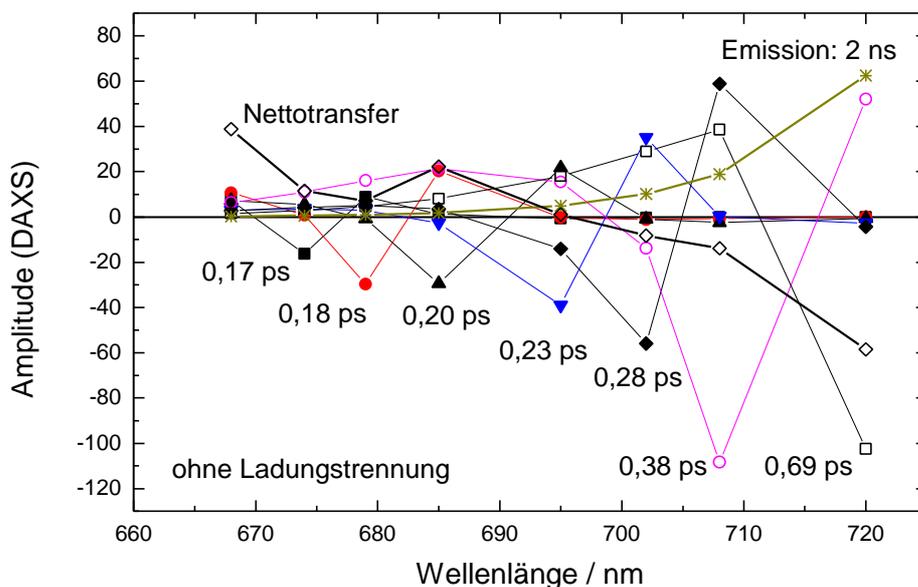


Abb. [4.10]

Lebensdauern und DAXS für ein Hybridmodell aus acht homogenen äquidistanten Pigmentpools unter Verwendung der FOI aus Tabelle [4.3] als Transferraten in ps^{-1} , intrinsischer Fluoreszenzlebensdauer von 2 ns und ohne Ladungstrennung. Näheres siehe Text

Zusätzlich ist ein Spektrum dargestellt, das man als Summe der sieben schnellen Transfer-Spektren erhält. Die Identität dieses mit „Nettotransfer“ gekennzeichneten Spektrums (offene Karos) mit dem DAXS für den Nettotransfer in Abb. [4.9] zeigt die prinzipielle Konsistenz dieser Modellierung. Außerdem lassen sich an Abb. [4.10] einige weitere interessante Eigenschaften des Energietransfers ablesen:

- Alle DAXS, außer dem mit der größten Lebensdauer, haben Transfercharakter, d.h. wechseln ihr Vorzeichen. Jedes der Transfer-DAXS hat ein positives Maximum und ein negatives Minimum, die bei benachbarten Wellenlängen liegen, wobei jedem Pigmentpool, außer dem „blauesten“, das Minimum eines der Transfer-DAXS zuzuordnen ist. Dabei gehören zu längerwelligen Pools größere Absolut-Amplituden im Minimum und längere Lebensdauern.
- Die längstlebige Transferkomponente wird nur beim „röttesten“ Pool negativ und gibt den Abwärtstransfer von *allen anderen* Pools wieder. Alle anderen Transfer-DAXS geben im wesentlichen Aufwärts-Transferprozesse zwischen benachbarten Pools wieder, haben kürzere „Reichweite“ und kürzere Lebensdauern.
- Das Spektrum mit der größten Lebensdauer ist überall positiv und gibt den Gesamt-Anregungsabbau aus dem (mehr oder weniger) äquilibrierten Zustand wieder. Im vorliegenden Fall des Fehlens schneller Abbauprozesse zeigt der Vergleich mit Abb. [4.9] vollständige Äquilibrierung.
- Summierung aller DAXS *an jedem Pool* gibt die ursprüngliche Anregungsverteilung (Absorptionsspektrum)
- Summierung der individuellen DAXS *über alle Pools* ergibt in Abwesenheit schneller Abbauprozesse null für die Transfer-DAXS (Konservativität der Transfer-DAXS) und 100 für das Emissions-DAXS.

Diese letzte Eigenschaft ändert sich mit dem Auftreten von schnellen Abbauprozessen wie z.B. Ladungstrennung. Das ist in Abb. [4.11] demonstriert, wo von Pool 6 (A702) aus ein schneller Anregungsabbau durch Ladungstrennung mit $1 ps^{-1}$ hinzugefügt wurde.

Der Vergleich von Abb. [4.10] mit Abb. [4.11] zeigt folgendes:

- Form und Lebensdauer der meisten Transferspektren ändern sich nur geringfügig.

- Die Lebensdauern der „betroffenen“ (d. h. mit ausgeprägter Amplitude bei A702) DAXS verkürzen sich.

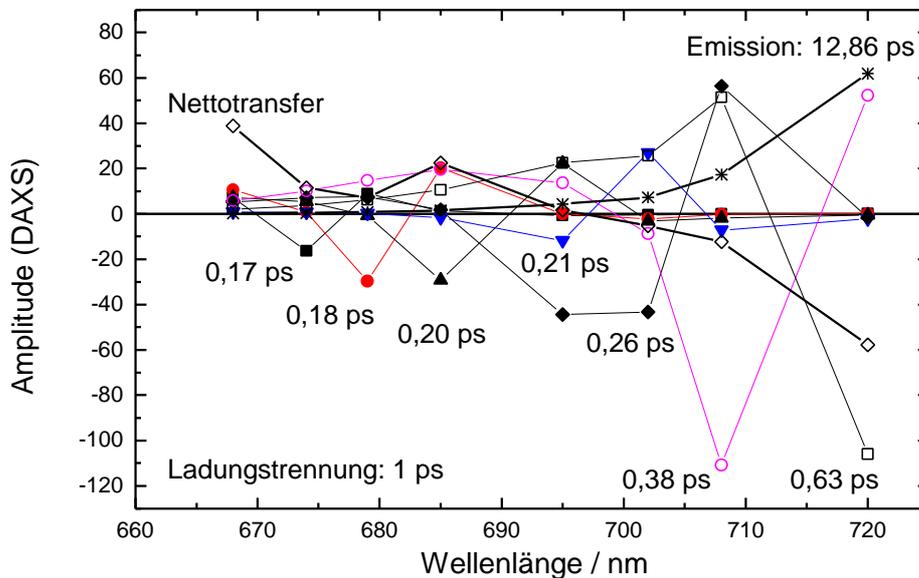


Abb. [4.11]

Lebensdauern und DAXS für ein Hybridmodell aus acht homogenen äquidistanten Pigmentpools unter Verwendung der FOI aus Tabelle [4.3] als Transferraten in ps^{-1} , mit intrinsischer Fluoreszenzlebensdauer von 2 ns und Ladungstrennung von Pool 6 (A702) mit 1 ps^{-1}

- Die Amplituden der „betroffenen“ DAXS werden so verändert, daß die Transfer-DAXS jetzt Netto-Summen ergeben, die Konservativität des Transferspektrums also gestört ist. Entsprechend verändert sich die Gesamt-Amplitude der Emissions-Komponente (in diesem Fall 93,8 anstatt 100). Die Summe über alle DAXS über alle Pools bleibt 100 (Energieerhaltung).
- Die Amplitude der „Emissions“-Komponente nimmt ab für die Pools, die guten Kontakt zum „Ausfluß“ (Ladungstrennung von P700*) haben, dort verringert sich die transiente Besetzung (A695: 4,33 statt 4,96; P700: 7,24 statt 10,22; A708: 17,3 statt 18,8).
- Die Lebensdauer der Emissions-Komponente wird verkürzt, jedoch nicht linear mit der Ladungstrennungsrates (10 ps^{-1} : 4,4 ps; 1 ps^{-1} : 12,9 ps und $0,1 \text{ ps}^{-1}$: 96 ps).

Die Geschwindigkeit der Transferprozesse ist in diesem Modell gegeben durch die Absolutwerte der Förster-Raten aus Tabelle [4.3]. Sie erhalten ihren physikalischen Sinn nur durch die Skalierung bezüglich der Zeitkonstanten der intrinsischen Abbauprozesse: Fluoreszenz und Ladungstrennung. Deshalb beeinflußt eine Skalierung der Werte für die Transferraten die

apparenten Lebensdauern der Transfer-Spektren nahezu linear, während die Gesamt-Abbaulebensdauer auch von den intrinsischen Zerfallsraten bestimmt ist.

Aus diesem einfachen Modell ist ersichtlich, wie ein realistischeres Modell zur Beschreibung der gemessenen Fluoreszenz-Kinetik angepaßt werden müßte:

- 1) Skalierung der intrinsischen Transferraten dergestalt, daß apparente Transfer-Lebensdauern in den Bereich der Lebensdauer des gemessenen Transfer-DAS fallen.
- 2) Anpassung der intrinsischen Ladungstrennungsrate dergestalt, daß die apparente Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauer in den Bereich der Lebensdauer des gemessenen Gesamt-Anregungsabbau-DAS fallen.
- 3) Anordnung der individuellen Pigmente dergestalt, daß die errechneten DAXS in ihrer Form in den Bereich der gemessenen DAS fallen.
- 4) da capo al fine

Diese Strategie soll im nächsten Modellierungsschritt (Abschnitt 4.5) verfolgt werden

4.5 Struktur-Modelle: Berücksichtigung räumlicher Information

Warum „Strukturmodelle“?

Wie in der Einleitung (Abschnitt 1.3) bereits kurz erwähnt, besteht keine experimentelle Möglichkeit, den *räumlich* aufgelösten Chlorophyll-Molekülen *spektrale* Eigenschaften zuzuordnen. Andererseits wird gerade durch das Zusammenwirken der räumlichen und der spektralen Verteilung der Pigmente im Kernantenne-RZ-Komplex die Kinetik des Energietransfers bestimmt. Es stellt sich daher die Frage: Wie sind die spektral unterschiedlichen Pigmente räumlich angeordnet? Verkürzt ausgedrückt: Was liegt wo? Die nächstliegende Annahme ist eine Trichter („funnel“-)Anordnung: blaue Pigmente außen, rötliche nach innen zu und P700 als „Falle“ oder „Trap“ am Ausfluß des Trichters in der Mitte. Es wurden aber auch eine Reihe von anderen möglichen Anordnungen vorgeschlagen wie hierarchisch gegliedert („cluster“, „domains“, „subunits“, Den Hollander et al. 1983) oder völlig zufällig („random“, „pebble“, Owens et al. 1988). Welche dieser Anordnungen die Natur gewählt hat, kann geprüft werden durch eine Simulierung des Energietransfers, die räumliche und spektrale Aspekte gleichzeitig berücksichtigt - sogenannte „Struktur-Modelle“. Dabei gehen in die Berechnung der Energietransfer-Raten zwischen einzelnen Pigmenten sowohl ihr Abstand und, so zugänglich, ihre gegenseitige Orientierung als auch das spektrale Förster-Überlapp-Integral ein.

Historischer Überblick

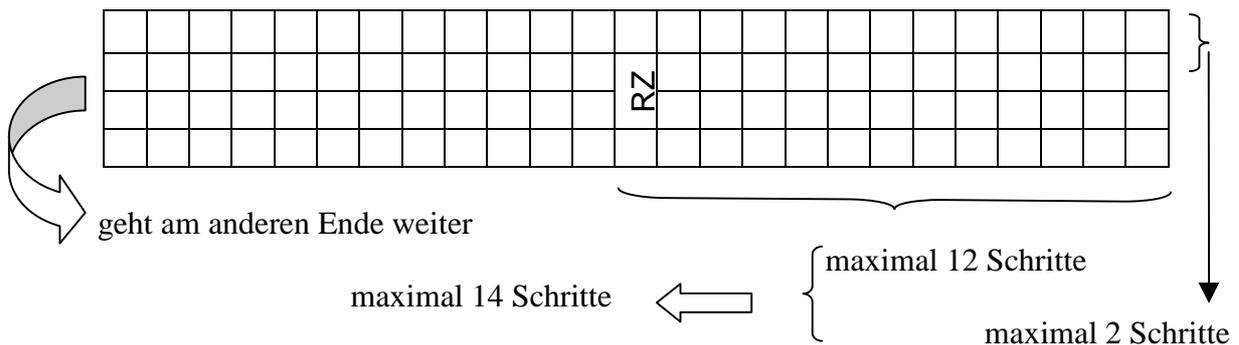
Die Trichter-Anordnung (Seely 1973) ist nicht nur schön anzuschauen, sondern auch logisch: Sie garantiert den schnellen und sicheren Einfang der Anregungsenergie. Für ein solches Modell spricht die Poolgrößenverteilung: die blauerer (peripheren) Pools enthalten mehr Pigmente, die röteren (zentralen) weniger, wie es für äquidistante Punkte auf konzentrischen Zylinderschalen erwartet würde. Unter der Annahme einer Migrations-Limitierung (schnelle Ladungstrennung) würde man bei einer Trichteranordnung der Pigmente erwarten, daß der Anregungszustand um so schneller abgebaut wird, je röter (näher zum Ausfluß) man anregt. Owens et al. (1989) maßen mit Anregung bei 680 nm und Detektion bei 695 nm eine Anregungs-Zerfallszeit von 40 ps gegenüber 37 ps für die umgekehrten Bedingungen: Anregung bei 695 nm und Detektion bei 680 nm. Das ist nur ein geringer Unterschied in der Lebensdauer des Gesamt-Anregungsabbaus. Bei einem zeitaufgelösten Photospannungsexperiment an Thylakoidmembranen aus Erbsen mit 213 Chl/P700 (Trissl et al. 1993) wurde die Anregungswellenlänge zwischen 701 nm und 717 nm variiert und eine konstante Abbaupzeit von 70 ± 20 ps gefunden. Diese Ergebnisse müssen jedoch nicht zwangsläufig gegen eine Trichteranordnung sprechen, wenn man umgekehrt annimmt, daß die meiste Zeit zur Ladungstrennung verbraucht wird, also Trap-Limitierung vorliegt und der Transport durch den Trichter schnell ist.

Solange die Koordinaten der Antennen-Pigmente noch nicht oder nur unzureichend bekannt waren, mußte eine hypothetische Anordnung angenommen werden. Dafür fanden „regelmäßige Gitter“ (regular lattices) Verwendung. Diese konnten die verschiedensten Formen (Kreis, Rechteck, Sechseck...), Topographien (eben, zylindrisch, kuglig...) und Anordnungen (drei, vier, acht...Nachbarn) haben. Ein „zufälliges Herumirren“ (random walk) auf diesen Gittern kann mit Hilfe der Diffusionsgleichung beschrieben oder mit Monte-Carlo-Methoden simuliert werden (Pearlstein 1982). Ein kleines Beispiel soll hier zeigen, wie mittels eines primitiven Gittermodells eine Migrationslimitierung des Anregungseinfangs gerechtfertigt werden könnte: Bei einer Gesamt-Anregungsabbaupzeit von 40 ps und einer Einzelschrittzeit von 200 fs (Du et al. 1993) könnte das Herumirren maximal 200 Schritte dauern. Für einen Random Walk ist die mittlere überwundene Distanz der Wurzel aus der Zeit (also der Schrittzahl) proportional. Im vorliegenden Beispiel sind das 14 Gitterplätze. Das ist aber genau die Zahl der Schritte, die maximal nötig ist, um auf einem zylindrischen Gitter von 25×4 Gitterplätzen einen bestimmten Platz (RZ) zu erreichen (siehe Abb. [4.12]).

Ein solches Gitter wiederum beschreibt in groben Zügen die Geometrie der PS I-Kernantenne (vergl. Abb. [1.2]). Umgekehrt würde das zeigen, daß selbst in einer spektral homogenen Antenne die Anregung innerhalb von 40 ps das RZ erreicht haben könnte, also ein Trichter-Effekt gar nicht nötig ist, um schnellen Anregungs-Einfang sicherzustellen.

Abb. [4.12]

Gitterschema für eine zylindrische 100 Chl-Antenne mit RZ in der Mitte



Ernsthaftere Modellierungen wurden von Trinkunas & Holzwarth (1994) auf einem ebenen 10x10 Chl-Gitter durchgeführt, wobei sie den Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* in sieben spektrale Pools (5xA654,1 nm, 23xA667,3 nm, 38xA678,3 nm, 22xA686,7 nm, 7xA700 nm inkl.RZ, 4xA712,2 nm und 1xA724 nm) aufteilten. Die aus der Simulation erhaltenen Zeitverläufe wurden mit den experimentell gemessenen (Holzwarth et al. 1993) verglichen. Aufgrund dieser Kriterien gelangten die Autoren zu dem Schluß, daß eine trichterförmige Anordnung der Pigmente gemäß ihres Absorptionsmaximums nicht geeignet ist, die gemessene Kinetik zu reproduzieren. Bezüglich der „roten“ Pigmente des Modells (A712 und A724) wurde gefunden, daß einige in der Nähe von P700 liegen sollten, aber nicht als direkte Nachbarn. Für die intrinsische Ladungstrennung wurde eine Zeitkonstante von 0,4 ps vorgeschlagen. Später verbesserten die Autoren ihr Modell, indem sie ein räumliches Gitter annahmen (4x5x5 Chl Würfelgitter) und einen genetischen „Mutation-Selektions“-Algorithmus hinzufügten, kamen aber zu ähnlichen Ergebnissen (Trinkunas & Holzwarth 1996): einige rote Pigmente in der Nähe von P700, die röttesten eher weit weg von P700 und eine intrinsische Ladungstrennung mit einer Zeitkonstante von 0,5 ps. Für eine Unterscheidung von Migrations- oder Trap-Limitierung erwiesen sich die experimentellen Daten als unzureichend aufgelöst.

Im gleichen Jahr untersuchten White et al. (1996) mittels transienter Absorption einen PS I Komplex mit 45 Chl/P700 aus Spinat und benutzten anschließend die Koordinaten der 45 bis

dahin aufgelösten Chlorophyll-Moleküle aus *Synechococcus el.*, um die erste wirklich strukturgestützte kinetische Modellierung für PS I durchzuführen. Auch hier konnte die beobachtete Kinetik zufriedenstellend beschrieben werden, eine Entscheidung zwischen unterschiedlichen Modellen fällt aber schwer. Die Autoren bevorzugten schließlich ein Trichtermodell mit Trap-Limitierung und fanden eine intrinsische Ladungstrennungszeit von 1,6 ps.

Der nächste Schritt war die Verwendung der Koordinaten von 89 Chlorophyll-Molekülen, wie sie von Schubert et al. (1997) publiziert wurden und in der Datei „2pps.pdb“ der Brookhaven Protein Databank zugänglich sind. Ein erster Versuch wurde von Gobets et al. (1998a,b) unternommen, wobei allerdings nur drei spektrale Typen Verwendung fanden: Antenne (A680), P700 und rote Pigmente (2xA708 für *Synechocystis*, 4xA708 und 4xA715 für *Synechococcus el.*). Die zu modellierenden kinetischen Daten wurden mittels einer Schmierkamera mit einer Zeitauflösung von einigen hundert Femtosekunden gemessen. Mit ihrem einfachen Ansatz konnten Gobets et al. (1998a,b) die Kinetik des Anregungsabbaus erfolgreich reproduzieren. Für die roten Pigmente wurde eine periphere Lage vorgeschlagen, eine Lokalisation an der „Linker“-Position wurde ausgeschlossen. Die intrinsische Ladungstransfer-Lebensdauer ergab sich zu 0,5 ps (*Synechocystis*) bzw. 0,62 ps (*Synechococcus*), die Kinetik wurde als „Transfer-to-the-trap“-limitiert bezeichnet.

Technische Umsetzung

Hier wird nun erstmalig ein weitestgehend vollständiges Strukturmodell beschrieben. An struktureller Information fließt aus den bekannten Gründen allerdings derzeit nur die Abstandsinformation ein, während die Orientierungen in einem späteren Schritt berücksichtigt werden müssen.

Der in die Försterformel (Gl. [4.1]) eingehende Abstand zwischen Donator- und Akzeptordipol wurde für jedes Paar von Chlorophyll-Molekülen ermittelt als die Distanz zwischen den zentralen Magnesiumatomen. In Tabellenform ergeben diese Abstände eine symmetrische 89x89 Matrix, in der die Pigmente nach ihrer Reihenfolge in der Strukturdatei „2pps.pdb“ angeordnet sind. Aufgrund dieser Abstandsinformation kann mittels der modifizierten Förster-Formel (Gl. [4.3]) eine Transferrate von jedem Pigment zu jedem anderen errechnet werden. Zugrunde gelegt wurden dabei zunächst ein Försterradius R_0 von 6,5 nm (Colbow 1973) und eine natürliche Fluoreszenzlebensdauer t_D von 15 ns (Flemming 1996). Die sich ergebende Ratenmatrix beschreibt die Transferraten von jedem Chlorophyll zu jedem anderen, wie sie sich in einem

spektral *homogenen* Kernantenne-RZ-Komplex ausschließlich aufgrund des Abstandes zwischen den Pigmenten ergeben, also für isoenergetische Pigmente. Die spektrale Information über die Wahrscheinlichkeit des Überganges von einem Pigment auf das nächste in einem spektral *inhomogenen* Kernantenne-RZ-Komplex ist in der Förster-Überlapp-Tabelle [4.3] enthalten. Bläht man diese entsprechend der Größe der spektralen Pools ebenfalls auf die Größe 89x89 auf, so erhält man eine Ratenmatrix, die die Transferraten von jedem Chlorophyll zu jedem anderen beschreibt, wie sie sich in einem spektral *inhomogenen*, räumlich äquidistanten Kernantenne-RZ-Komplex ausschließlich aufgrund der spektralen Lage der Pigmente ergäbe. Diese Ratenmatrix ist, gemäß der Asymmetrie des Energietransfers, asymmetrisch. Elementweise Multiplikation von Abstands-Raten-Matrix und Spektral-Raten-Matrix liefert schließlich Förster-Transferraten, die beiden Informationen gerecht werden. Durchmischung (Zeilen *und* Spalten in gleicher Weise) einer der Matrizen bezüglich der anderen hat eine neue räumlich-spektrale Zuordnung der Pigmente zur Folge. Die so erhaltene Ratenmatrix enthält auf der Hauptdiagonale die Ratenkonstanten für den Energietransfer von jedem Pigment zu sich selber, also ausschließlich Singularitäten. Ersetzt man diese durch die entsprechenden Zerfallsraten, also die Spaltensummen zuzüglich der intrinsischer Zerfallsraten und das alles mit negativem Vorzeichen, so erhält man die Transfermatrix T . Für den primären Donator P700 (immer Positionen 1 und 2) enthält die Hauptdiagonale außer der Rate für den strahlenden Zerfall mittels Fluoreszenz auch die Ratenkonstante k_{CS} für den intrinsischen Abbauprozess. Die negativen reziproken Eigenwerte der Transfermatrix T ergeben die apparenten Lebensdauern des derart beschriebenen Systems und die mit der Anregungsverteilung gewichteten Eigenvektoren ergeben die zugehörigen DAXS (siehe Abschnitt 4.2). Die allermeisten dieser DAXS haben sehr geringe Lebensdauern und/oder verschwindende Amplituden (vergl. Abb. [4.10]) Für eine aussagekräftige Darstellung und die Möglichkeit des Vergleiches mit gemessenen DAS wurden zunächst alle Amplituden für *spektral gleiche* Pigmente, also alle Pigmente eines Pools, addiert. Damit besitzt jedes DAXS nur noch acht Punkte, die den Absorptionsmaxima aus der Poolzerlegung entsprechen. Alsdann wurden alle DAXS mit einer zugehörigen Lebensdauer von weniger als einer Pikosekunde zu einem einzigen Spektrum zusammengefaßt, das keine eindeutige Lebensdauer mehr besitzt. Dieses Spektrum beschreibt ausschließlich Umverteilungsprozesse, die schneller ablaufen als unsere Apparatur aufzulösen vermag. Diese Kollektiv-Amplitude wurde zusammen mit den Amplituden der übrigen langsameren DAXS gegen die Absorptionswellenlänge der Pigmentpools aufgetragen. Dabei zeigt sich, daß selbst mehrere der „langsamen“ DAXS nur sehr geringe

Amplitude aufweisen. War das der Fall, wurden solche DAXS der Übersichtlichkeit halber aus der Darstellung entfernt. Die letztlich resultierenden Bilder können mit den experimentell ermittelten DAS verglichen werden, wenn sie zuvor (geistig) Stokes-verschoben und Gauß-verbreitert werden (siehe Abschnitt 2.4). Diese Prozeduren sind einer gewissen Willkür nicht bar und wurden deshalb nicht vorgenommen, um die Eigenschaften der simulierten DAXS nicht zu verwischen.

Folgende Parameter konnten verändert werden, um Form und Lebensdauern der simulierten DAXS zu beeinflussen:

- Herauf-(Herab-)Skalierung der Raten-Matrix bezüglich der Fluoreszenz-Abklingdauer (2 ns) bewirkt eine Beschleunigung (Verlangsamung) des Transfers, was physikalisch einer Vergrößerung (Verringerung) des Försterradius mit der sechsten Wurzel des Skalierungsfaktors entspricht. Eine Verdoppelung der Ratenkonstanten vergrößert den Försterradius beispielsweise um $\sim 12\%$.
- Erhöhung (Verringerung) der intrinsischen Ladungstrennungsrate bewirkt in gewissen Grenzen eine Beschleunigung (Verlangsamung) des beobachtbaren Gesamt-Anregungsabbaus.
- Veränderte spektral/räumliche Zuordnung der Pigmente beeinflusst Form und Lebensdauer der DAXS in mannigfacher und nicht vorhersagbarer Weise. Damit ist diese Zuordnung der interessanteste Modellparameter, gleichzeitig aber auch der am schwierigsten erschöpfend auszutestende ($89! / \{34! \cdot 23! \cdot \dots\} \sim 10^{50}$).

Ergebnisse

Die kombinierte Spektral/Struktur-gestützte Simulierung des Anregungstransfers und -abbaus im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* zeigt folgende interessante Eigenschaften:

- * Anordnung aller roten Pigmente an der Peripherie des Komplexes führt für Transferzeiten im Bereich einzelner Pikosekunden zu deutlich zu langen Lebensdauern in der Größenordnung ~ 100 ps für den Gesamt-Anregungsabbau (siehe Abb. [4.13]). Das ändert sich auch nicht für schnellere intrinsische Ladungstrennung, da damit hauptsächlich die transiente Besetzung von P700 verringert wird, was die Gesamt-Anregungsabbaudauer wieder verlängert (Für den Extremfall vernachlässigbaren Rücktransfers durch ultraschnelle Löschung mittels interner Konversion in P700⁺* wird die beobachtbare Lebensdauer der Anregung völlig unabhängig vom Wert der intrinsischen Löschrates).

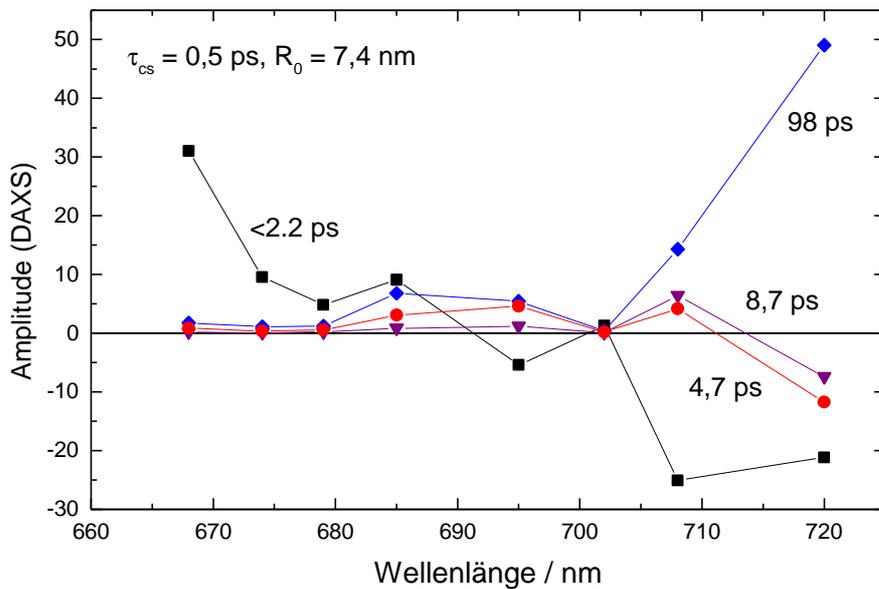


Abb. [4.13]

Lebensdauern und DAXS für ein Strukturmodell aus 89 Chlorophyll-Molekülen. Intrinsische Fluoreszenzlebensdauer: 2 ns, Ladungstrennung von P700: 0,5 ps, Försterradius: 7,4 nm. Alle A708 und A720 Pigmente sind am äußeren Rand des Komplexes lokalisiert.

* Eine Gesamt-Anregungsabbaukinetik im Bereich der experimentell beobachteten ($\sim 40 \text{ ps}$) läßt sich nur erreichen, indem die transiente Besetzung von P700 erhöht wird. Dafür ist es notwendig, mindestens vier A708 Pigmente in der unmittelbaren Umgebung ($< 2 \text{ nm}$) der verbindenden „Linker“ Chlorophylle zu lokalisieren (siehe Abb. [4.14]). Die nicht-P700-Chlorophylle im RZ müssen dem A695 Pool zugeordnet werden, um einen spektralen Überlapp vom Linker zum P700 zu gewährleisten. Unter diesen Bedingungen können durch Einstellen des Försterradius‘ auf 7,4 nm und der intrinsischen Ladungstrennungsdauer auf 0,5 ps beobachtbare Transfer-Lebensdauern von $< 1,2 \text{ ps}$ und $12,9 \text{ ps}$ sowie eine Lebensdauer für den Gesamt-Anregungsabbau von $34,0 \text{ ps}$ gewonnen werden mit DAXS, die die Tendenz zeigen, das gemessene Verhalten des PS I Komplexes wiederzugeben, nämlich fehlende Konservativität des Energietransfers und fehlende Boltzmann-Äquilibration vor der Emission (siehe Abb. [4.14]). Die A708 Pigmente sind dann transient geringer besetzt, als im thermischen Gleichgewicht erwartet (12 statt 17 entspricht etwa 70 %).

Diese Eigenschaft der roten Pigmente, Anregungen in der Nähe des RZ zu konzentrieren, wurde auch in früheren Simulationen schon gefunden (vergl. z.B. Jia et al. 1992; Laible et al. 1994, Trinkunas & Holzwarth 1996,1997).

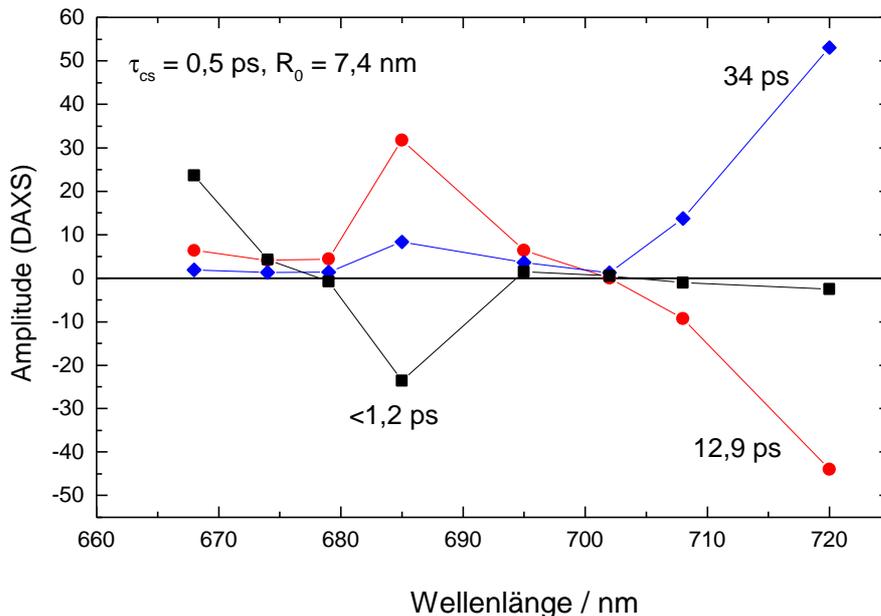


Abb. [4.14]

Lebensdauern und DAXS für ein Strukturmodell aus 89 Chlorophyll-Molekülen. Intrinsische Fluoreszenzlebensdauer: 2 ns, Ladungstrennung von P700: 0,5 ps, Försterradius: 7,4 nm. Ein „Linker“ und seine Nachbar-Chl in der Antenne sind A708, die RZ-Chl zwischen Linker und P700 sind A695 und alle A720 Pigmente sind zusammen in der Trimerisierungsdomäne am Rand des Komplexes lokalisiert.

* Alle „roten“ Pigmente (A708 und A720) müssen sich in „gutem Kontakt“ (<math>< 3 \text{ nm}</math>) miteinander befinden, um in einen einzigen, gemeinsamen, langsamen Transferprozeß eingebunden werden zu können. Anderenfalls würden isolierte rote Pigmente „Pseudofallen“ bilden, was zu mehreren parallelen Transferprozessen führen würde mit Lebensdauern > 5 ps, die experimentell beobachtbar sein sollten (vergl. Abb. [4.15]). Ansonsten hat die exakte Lage der röttesten Pigmente keinen systematischen Einfluß auf die Kinetik.

Abb. [4.15] zeigt das Auftauchen eines zweiten Transferspektrums mit einer Lebensdauer, die im Bereich der Zeitauflösung der Anlage liegt, bei der Entfernung eines der A720 Pigmente von den drei anderen. Die spektrale Form des 11,3 ps DAXS unterscheidet sich von der des 14,3 ps DAXS. Dennoch haben sie wesentliche Züge gemeinsam: Positives Maximum bei 695 nm, negatives Minimum bei 720 nm. Es ist anzuzweifeln, ob solche DAXS mittels Globalanalyse der experimentellen Daten voneinander getrennt werden können. Auch frühere Modellierungen litten unter dem zu geringen spektralen und/oder zeitlichen Auflösungsvermögen des Experimentes. In unserem Fall gibt es Hinweise, daß mehrere Transfer-Komponenten existieren könnten.

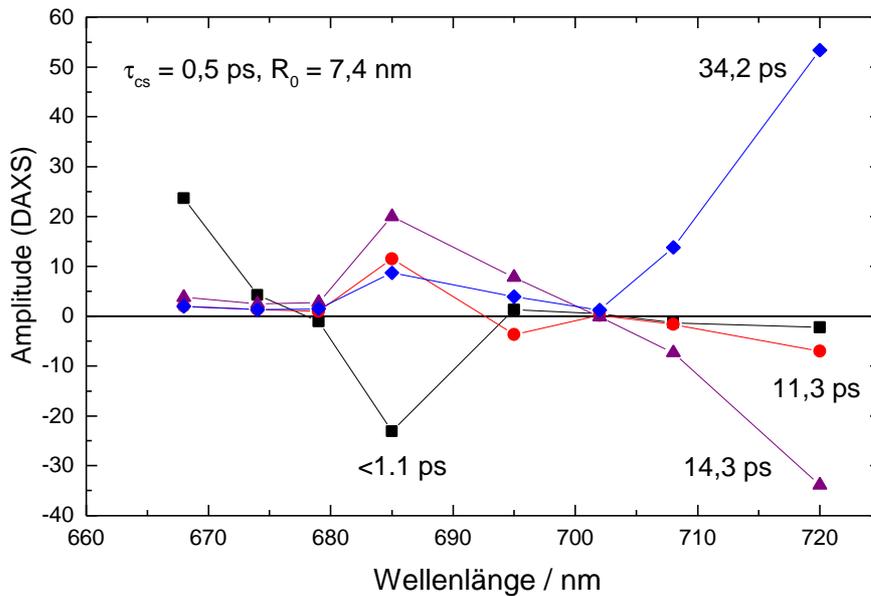


Abb. [4.15]

Lebensdauern und DAXS für ein Strukturmodell aus 89 Chlorophyll-Molekülen. Intrinsische Fluoreszenzlebensdauer: 2 ns, Ladungstrennung von P700: 0,5 ps, Försterradius: 7,4 nm. Ein „Linker“ und seine Nachbar-Chl in der Antenne sind A708, die RZ-Chl zwischen Linker und P700 sind A695, drei A720 Pigmente sind zusammen am Rand des Komplexes lokalisiert, während eines sich in ~4 nm Abstand von den drei anderen A720 Pigmenten befindet.

Im Falle offener RZ war es nicht möglich gewesen, eine globale Lebensdauer für den/die Transferprozesse zu finden. Eine solche Wellenlängenabhängigkeit der Lebensdauer kann auf mehrere Transferprozesse mit maximalen Amplituden bei unterschiedlichen Wellenlängen hinweisen. Das ist jedoch nicht das Problem bei der Auseinanderhaltung der beiden simulierten Spektren, sie sind spektral ähnlich. Messungen mit höherer Zeitauflösung ergaben ebenfalls mehrere Transferspektren mit unterschiedlichen zugehörigen Lebensdauern. Gobets et al. fanden mit unspezifischer Anregung an *Synechocystis* ~ 1 ps und ~ 5 ps (1998a) und an *Synechococcus* el. ~ 3 ps und ~ 10 ps (1998b). Savikhin et al. (1999) fanden mittels transientser Absorption an *Synechocystis* sogar drei Transfer-Komponenten mit Lebensdauern von 0,4 ps, ~ 2 ps und 6,5 ps. Diese hingen allerdings sensibel vom Zeitfenster und der Zahl der Komponenten für die Anpassung ab. Außerdem ist für *Synechocystis* bekannt, daß die Zahl der roten Pigmente geringer ist als für *Synechococcus*. Hier besteht weiterer Klärungsbedarf. Bis dahin muß die Bedingung einer gemeinsamen Anordnung aller roten Pigmente als vorläufig angesehen werden.

In diesem Kapitel wurde das bisher vollständigste Struktur/Spektral-Modell vorgestellt. Die Simulation experimenteller Daten damit läßt Schlüsse über Aufbau und Dynamik von PS I zu.