

## KAPITEL 5

# DYNAMIK ANGEREGTER ZUSTÄNDE IN PHOTOSYSTEM I

## 5.1 Löscheffizienz des offenen und geschlossenen RZ

### *Unterschiedliche Löscheffizienz von P700 und P700\**

Die gezeigten Fluoreszenzinduktionsexperimente (Abb. [3.4]) belegen, daß die Photooxidation von P700 zu einer Veränderung der Löscheffizienz des primären Donators in PS I führt. Zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen waren bisher nicht in der Lage, diesen Unterschied bei ZT aufzulösen. (Holzwarth et al. 1993, Turconi et al. 1993, Dorra et al. 1998) Auf der Grundlage dieser kinetischen Daten wurde in der Vergangenheit angenommen, die Löscheffizienz von PS I mit offenem und geschlossenem RZ sei nahezu gleich (Diskussion dazu beispielsweise in Brettel 1998 oder Sétif 1992). In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals mittels ps-zeitaufgelöster Fluoreszenz-Messungen ein Unterschied in der Löscheffizienz des primären Donators in PS I für die Situationen „offenes RZ“ und „geschlossenes RZ“ aufgelöst. Sowohl die *in situ* mit der TCSPC-Anlage aufgenommenen stationären Fluoreszenzspektren als auch die Fluoreszenzlebensdauern bestätigen die leichte Zunahme in der Fluoreszenzausbeute von  $12 \pm 5 \%$  durch Schließung des RZ, die durch die Fluoreszenzinduktion gefunden wurde.

Der gefundene Induktionseffekt belegt, daß sich die Fluoreszenzeigenschaften offener PS I Proben tatsächlich von den Fluoreszenzeigenschaften geschlossener PS I Proben unterscheiden. Deshalb ist bei zukünftiger Arbeit Aufmerksamkeit geboten, in welchem Redoxzustand sich die zu untersuchende Probe befindet. PS I Proben sind bei ZT in Abwesenheit künstlicher Elektronenlieferanten schon durch geringe Lichtmengen schließbar. Das fordert besondere Vorsichtsmaßnahmen, um überhaupt den „offenen“ Redoxzustand sicherzustellen.

Auch bei der Verwendung der sogenannten „Antennen-Subtraktionsmethode“ (Hastings et al. 1994b, White et al. 1996) ist Vorsicht geboten. Dabei wird der Absorptionstransient des geschlossenen Systems vom Absorptionstransienten des offenen Systems abgezogen. Indem man annimmt, daß sich die spektralen und kinetischen Eigenschaften der Antenne für offenes und geschlossenes RZ nicht unterscheiden, hofft man auf diese Weise ein Spektrum zu erhalten, das nur die lichtinduzierten Änderungen des RZ dokumentiert. Nunmehr steht zu befürchten, daß die auf diese Weise gewonnenen Absorptionsdifferenzspektren für das RZ um den Unterschied in den Spektren der Antenne für offenes und geschlossenes System überkorrigiert sind.

***Schnelle Löschung im geschlossenen RZ durch interne Konversion***

Der Löscher in einem geschlossenen RZ, der oxidierte primäre Donator  $P700^+$ , zeigt eine breite, flache Absorption im Roten, die bis weit über 800 nm reicht, ähnlich wie die Absorption von  $Chl^+$  in organischen Lösungsmitteln (Chauvet et al. 1981). Diese Absorption ermöglicht spektralen Überlapp mit den Emissionsbanden aller Kernantennenpigmente, so daß  $P700^+$  effektiv als Akzeptor der Anregungsenergie wirken kann, obwohl die Extinktion nur ungefähr ein Zehntel der Extinktion von P700 in seinem Absorptionsmaximum ausmacht (Pålsson et al. 1998). Der spektrale Überlapp hingegen ist im Vergleich zu dem zwischen isoenergetischen Chlorophyll-Molekülen mit  $130\text{ cm}^{-1}$  Stokesverschiebung auf nur etwa ein Drittel reduziert. Die breite Absorption gestattet einen schnellen strahlungslosen Abbau von höher angeregten Zuständen in den niedrigsten angeregten Zustand von  $(P700^+)^*$ . Damit wird die Anregungsenergie irreversibel aus der Kernantenne entfernt, da die Aktivierungsenergie für den Rücktransport selbst bei ZT mehr als  $7kT$  ausmacht. Es ist also die Zeitskala der internen Konversion von höher angeregten Zuständen von  $(P700^+)^*$  zum untersten angeregten Singulett-Zustand, die die Löscheffizienz von  $P700^+$  bestimmt. Diese Relaxation im angeregten Zustand läuft im allgemeinen schneller ab als die nachfolgende interne Konversion in den Grundzustand. Trissl (1997) verwies darauf, daß für das Chlorophyll-Kation keine Fluoreszenz bekannt sei und schlug für die interne Konversion Zeiten von möglicherweise deutlich unter 100 fs vor. Die schnelle Löschrates für das geschlossene System muß verglichen werden mit dem Anregungsabbau durch Ladungstrennung in offenem PS I. Für PS I existieren bisher noch keine direkten Messungen der intrinsischen Ladungstrennungsrates. Vorgeschlagene Werte im Bereich von 0,3 ps bis 6 ps stammen aus Fluoreszenz- oder Absorptionmessungen in Kombination mit Simulationen (Holzwarth et al. 1998; Gobets et al. 1998a,b; Jennings et al. 1997, White et al. 1996, Kumazaki et al. 1994).

***Ursachen für den geringen Unterschied zwischen offenen und geschlossenen RZ***

Trissl (1997) subsumierte drei mögliche Ursachen für die nahezu identischen apparenten Fluoreszenz-Löschrates von P700 und  $P700^+$  bei ZT:

\* Der Transfer der Anregungsenergie ins RZ bzw. zu  $P700/P700^+$  stellt eine kinetische Limitierung dar (Transfer-to-the-Trap-Limit, Valkunas et al. 1995, Jennings et al. 1997, Gobets et al. 1998a,b) und beide intrinsischen Abbaurates (Ladungstrennung und interne Konversion) sind deutlich schneller als der Transfer ins RZ bzw. zu  $P700/P700^+$ , also beide im sub-ps Bereich.

\* Die kinetische Limitierung ist durch die beiden intrinsischen Abbauprozesse gegeben, die mit nahezu identischer Kinetik ablaufen, die deutlich langsamer ist als der Energietransfer (Trap-Limit, Holzwarth et al. 1998).

\* Die Ladungstrennung von P700\* ist langsamer als der Energietransfer nach P700 (also eher Trap-Limit), während für geschlossenes RZ der intrinsische Abbau schneller erfolgt als der Energietransfer zu P700<sup>+</sup> (Transfer-to-the-Trap-Limit). Letzterer ist aufgrund des geringeren Überlapps verlangsamt. Beide Effekte heben sich zufälligerweise auf, und deshalb ist für offene und geschlossene Zentren ähnliches kinetisches Verhalten beobachtbar.

Sowohl die Poolmodellierung aus Abschnitt 4.3 als auch die Strukturmodellierung aus Abschnitt 4.5 (siehe übernächster Abschnitt 5.3) legen es nun nahe, die ersten beiden Möglichkeiten, also harte kinetische Limitierungen für die Kinetik des Anregungsenergieeinfangs in offenen Zentren auszuschließen. Im dritten Fall soll sich der Charakter der Limitierung zwischen offenen und geschlossenen Zentren ändern. Wie gerade erörtert, ist der Spielraum für die Änderung der intrinsischen Transfer- und Abbauraten beim Übergang von offenen Zentren zu geschlossenen relativ eng. Auch das spricht eher für ein Zwischenregime anstelle harter kinetischer Limitierungen für die Kinetik des Anregungsenergieeinfangs.

### ***Transfer-to-the-Trap –Limitierung im geschlossenen RZ***

Wie die dritte Möglichkeit im Strukturmodell realisiert sein könnte, zeigt Abb. [5.1]. Bei der Schließung des RZ durch Oxidation von P700 zu P700<sup>+</sup> bleiben die Transferraten zwischen verschiedenen Antennenpigmenten unverändert. Die Transferraten von Antennenpigmenten zu P700<sup>+</sup> werden aufgrund dessen geringerer Absorption reduziert. Auch der Rücktransfer in die Antenne wird entsprechend unwahrscheinlicher. Auf der anderen Seite erfolgt von P700<sup>+</sup> eine schnellere Löschung. Nimmt man dafür eine Ratenkonstante von 20 ps<sup>-1</sup> anstelle der 2 ps<sup>-1</sup> für die Ladungstrennung an, so erfolgt bei unveränderten Transferraten der Gesamt-Anregungsabbau mit einer Lebensdauer von 25,3 ps anstatt der 34 ps für offene Zentren. Um dies so zu kompensieren, daß sich die experimentell beobachtete Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauer von 37 ps ergibt, müssen die Transferraten von und zu P700<sup>+</sup> um den Faktor 0,36 reduziert werden. Die mit diesen Parametern erhaltenen DAXS sind in Abb. [5.1] dargestellt. Die Lebensdauer des beobachtbaren Transferspektrums und die Form der DAXS bleiben gegenüber offenen Zentren weitestgehend unverändert. Diese Einstellung der Parameter ist nicht einzig. Stärkere Veränderungen der Abbaurate können mit stärkeren Veränderungen der Transferraten kompensiert werden. Dies ist jedoch nicht uneingeschränkt möglich, da sich dabei in geringerem Maße auch die Lebensdauern

der Transferspektren ändern. Schwerer wiegt, daß umgekehrt nicht alle Veränderungen der Transferraten durch Veränderungen der Abbaurate kompensiert werden können. Reduktion der Transferraten auf ein Zehntel hat beispielsweise selbst für unendlich schnellen Abbau nur Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauern von  $\sim 70$  ps zur Folge.

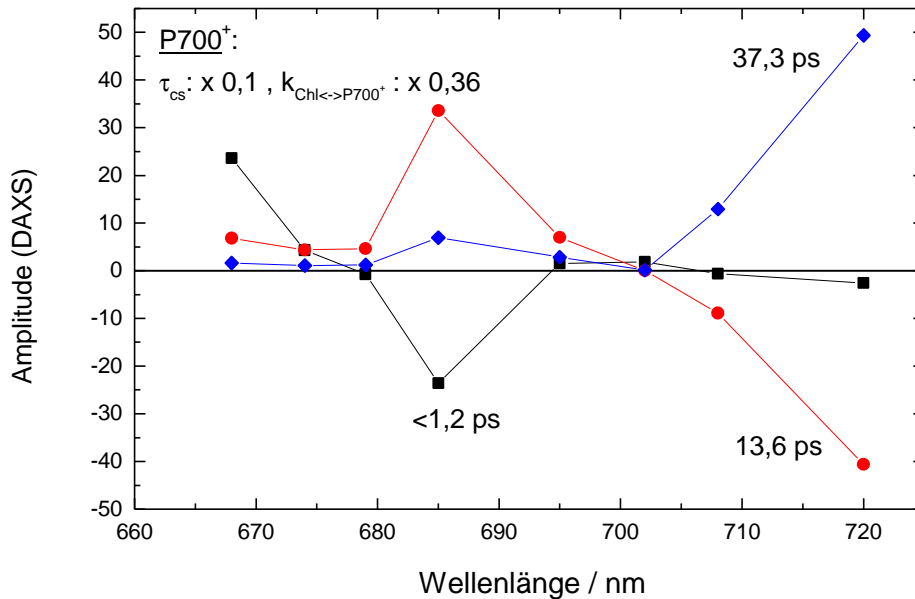


Abb. [5.1]

Lebensdauern und DAXS für ein Strukturmodell aus 89 Chlorophyll-Molekülen, modifiziert für geschlossenes RZ. Intrinsische Fluoreszenzlebensdauer: 2 ns, Försterradius: 7,4 nm. Anordnung der Pigmente wie für den Fall offener RZ in Abb. [4.14]. Veränderte Parameter: interne Konversion von (P700<sup>+</sup>)\*: 0,05 ps; Transferraten von und zu P700<sup>+</sup>\*:  $\times 0,36$

Damit kann für PS I mit geschlossenem RZ tatsächlich eine „Limitierung“ der Kinetik durch den „Transfer-to-the-Trap“ formuliert werden in dem Sinne, daß dies der Parameter ist, der für die annähernd gleiche Löscheffizienz geschlossener Zentren im Vergleich zu offenen Zentren zuständig ist, da sich die „Migrations“-geschwindigkeit nicht ändert und der Einfluß der Ladungstrennungsgeschwindigkeit auf die Gesamt-Anregungsabbaukinetik deutlich schwächer ist.

## 5.2 Rolle der „roten“ Pigmente

Wie in Abschnitt 4.1 theoretisch abgeleitet und in Abschnitt 4.3 an einem Drei-Pool-Modell sowie in Abschnitt 4.5 an einem Strukturmodell demonstriert, hat die Anzahl und die energetische/räumliche Lage der roten Pigmente im PS I Kernantenne-RZ-Komplex

entscheidenden Einfluß auf die Fluoreszenzkinetik. Einerseits kann die beobachtbare Gesamt-Anregungsabbauzeit verlängert werden, indem die Gleichgewichts-Besetzung des primären Donators sich zugunsten der energetisch tieferliegenden Pigmente verringert, andererseits können diese umgekehrt dazu dienen, die Anregung in der Nähe des primären Donators zu konzentrieren und damit seine transiente Besetzung zu erhöhen.

Zur Demonstration des Einflusses der roten Pigmente auf die Kinetik des Anregungseinfangs sind in Tabelle [5.1] die Transfer- und Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauern aufgeführt, die sich ergeben, wenn man aus dem in Abb. [4.14] gezeigten System sukzessiv alle roten Pigmente entfernt indem man sie durch A685 Pigmente ersetzt.

*Tabelle [5.1]*

*Lebensdauern der Transfer- und Gesamt-Anregungsabbau-Komponente in ps bei schrittweisem Ersatz zunächst der A720 und alsdann der A708 Pigmente durch A685 Pigmente*

Zahl der ersetzten roten Pigmente	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Transfer-Lebensdauer in ps	12,9	12,2	10,9	9,3	9,2	9,1	9,0	8,8	8,3
Abbau-Lebensdauer in ps	34,0	28,8	24,1	20,4	17,7	17,2	17,0	16,8	15,5

In diesem Abschnitt soll diese entscheidende Rolle der roten Pigmente für die Dynamik des angeregten Zustandes im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* zunächst für ZT und 5 K diskutiert werden, um dann zu einem Modell zu gelangen, das die durch Messungen und Modellierungen gewonnenen Informationen zu einem Vorschlag für die funktionale Anordnung der roten Pigmente im PS I Kernantenne-RZ-Komplex vereinigt.

### **Kein Boltzmann-Gleichgewicht im PS I Kernantenne-RZ-Komplex bei ZT**

Die Frage nach der Einstellung eines Boltzmann-Gleichgewichtes im angeregten Zustand des PS I Kernantenne-RZ-Komplex spielt eine wichtige Rolle im Streit um eine mögliche kinetische Limitierung der Dynamik des Gesamt-Anregungsabbaus (siehe Abschnitte 4.3 und 5.3). Dementsprechend kontrovers wird sie in der Literatur diskutiert (Valkunas et al. 1995; Croce et al. 1996; Jennings et al. 1997; Dorra et al. 1998; Gobets et al. 1998). Tatsächlich unterscheiden sich die drei bisher vorgeschlagenen kinetischen Regimes zur Beschreibung der Dynamik des angeregten Zustandes im PS I in dem Ausmaß, zu dem ein Gleichgewicht im Kernantenne-RZ-Komplex eingestellt ist. „Trap“-Limitierung bedeutet vollständiges Boltzmann-Gleichgewicht

zwischen Antenne und RZ, „Transfer-to-the-Trap“-Limitierung bedeutet Boltzmann-Gleichgewicht innerhalb der Antenne, nicht aber zwischen Antenne und RZ, „Transfer“-Limitierung schließlich bedeutet, daß nicht einmal innerhalb der gesamten Kernantenne ein Boltzmann-Gleichgewicht eingestellt ist, bevor im RZ die Anregung eingefangen wird.

Im Abschnitt 4.2 wurden drei verschiedene Kriterien zur Unterscheidung zwischen Systemen im Gleichgewicht und nicht äquilibrierten Systemen beschrieben. Alle drei können hier Verwendung finden:

- Die Lebensdauern von Transfer-Komponente und Gesamt-Anregungsabbau-Komponente unterscheiden sich mit ~13 ps und ~34 ps um weniger als einen Faktor drei, was sehr zugunsten eines Zwischenregimes zwischen „Transfer“- und „Trap“- Limitierung spricht.
- Der nicht-konservative Charakter des Transferspektrums (vergl. Abb. [3.10]) zwischen blauem und rotem Kernantennenteil zeigt an, daß vom roten Teil der Kernantenne ein Löschprozeß ausgeht, dessen Lebensdauer in den Zeitbereich des Anregungsenergietransfers zwischen blauem und rotem Antennenteil hineinreicht und der also die Äquilibrierung zwischen diesen beiden Antennenteilen stört. Da die experimentell ermittelten DAS auf das stationäre Fluoreszenzspektrum der Probe normiert werden (siehe Abschnitt 2.4) und die genaue Form des stationären Fluoreszenzspektrums von Probe zu Probe leicht variieren kann, ist auch eine gewisse Unsicherheit in den genauen Amplituden der DAS nicht auszuschließen. Alle bisherigen Messungen zeigen qualitativ die gleiche Nicht-Konservativität, deren Ausmaß von Probe zu Probe leicht variieren kann.
- Zur Gültigkeit der Stepanov-Beziehung (Gl. [4.4]) für den PS I-Komplex gibt es widersprüchliche Angaben. Pålsson et al. (1998) untersuchten PS I Kernantenne-RZ Komplexe aus *Synechococcus el.* und berichten, daß eine gute Übereinstimmung des Fluoreszenzspektrums mit der Kurve, die aus dem Absorptionsspektrum mittels der Stepanov-Relation gewonnen wurde, erreicht werden kann und rechtfertigen damit die Annahme einer kompletten Boltzmann-Äquilibrierung der Anregung über fast alle Antennenpigmente. Die Relevanz der Stepanovanalyse als Gleichgewichtskriterium wird dort aufgrund des enormen Einflusses entkoppelter Pigmente in Frage gestellt. Auf der anderen Seite berichten Jennings et al. (1997) und Croce et al. (1996), die PS I-200 Partikel aus Mais benutzten, über eine Abweichung des experimentell gefundenen Spektrums vom berechneten zwischen 693 nm und 700 nm, also in der Spektralregion des

RZ. Sie werteten diesen Befund dahingehend, daß das RZ vom Gleichgewicht mit der Antenne ausgeschlossen sei. Da die PS I-200 noch den zusätzlichen Antennenkomplex LHC I enthalten und damit eine andere Anregungsabbaukinetik aufweisen als *Synechococcus el.*, sind diese Ergebnisse nur bedingt vergleichbar.

Da die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Proben identisch sind mit den von Pålsson et al. (1998) untersuchten PS I Kernantenne-RZ-Komplexen, wurden hier keine Stepanov-Berechnungen durchgeführt. Stattdessen beziehen wir uns auf die dort präsentierte Abb. [2]. Beide Kurven darin stimmen weitgehend überein. Die Diskrepanz im blauen Wellenlängenbereich wurde mit der Emission von (teilweise) entkoppeltem Chlorophyll erklärt. Da der Anteil dieses entkoppelten Chlorophylls von Probe zu Probe variiert, wurden gemessene und berechnete Kurve im Fluoreszenz-Maximum normiert.

Diese Vorgehensweise ist jedoch problematisch. Von der Art der Normierung hängt es in entscheidendem Maße ab, in welchem Wellenlängenbereich Übereinstimmung oder Diskrepanz zwischen gemessenen und berechneten Kurve beobachtet wird.

Der tatsächliche Anteil des entkoppelten Chlorophylls übersteigt in keiner Probe 60 % der Gesamtfluoreszenzausbeute im untersuchten Spektralbereich (siehe Abb. [3.11]), während die gemessene Fluoreszenzamplitude in (Pålsson et al. 1998, Abb. [2]) die berechnete mehr als zweimal übersteigt. Außerdem ist es gerade die blaue Flanke des Spektrums, die als erstes ihre geringe Gleichgewichtsbesetzung erreicht (vergl. das aufsummierte „schnelle“ Spektrum in Abb. [4.14]) und damit am ehesten der Stepanov-Relation gerecht werden sollte.

Normiert man hingegen das aus der Stepanov-Beziehung berechnete Fluoreszenz-Spektrum und das gemessene unter Berücksichtigung des Anteils an entkoppeltem Chlorophyll im *blauen* Spektralbereich, so ergibt sich eine *Unterbesezung* im roten. Das ist im Einklang mit der aus dem nicht-konservativen Transferspektrum geschlossenen Löschung einiger roter Pigmente auf der Zeitskala der Äquilibration und damit schneller als das Gros der blauen Pigmente.

Auf der Basis dieser qualitativen Argumente schließen wir, daß der Anregungszustand im PS I Kernantenne-RZ-Komplex bei ZT *nicht* über die gesamte Antenne äquilibriert ist.

Streng genommen müßte für die Stepanov-Analyse ein Fluoreszenz-Spektrum des Komplexes mit *offenen* Zentren Verwendung finden, da es dessen Kinetik ist, die untersucht werden soll. Ein spektraler Unterschied der stationären Spektren für Komplexe mit offenem und geschlossenem

RZ (vergl. Abb. [3.9]) konnte bisher nicht reproduzierbar nachgewiesen werden. Das ist im Einklang mit den simulierten Spektren. In Abb. [5.2] wird die Verteilung des Anregungszustandes über die spektralen Pigmentformen, wie sie nach der Stepanov-Beziehung im thermischen Gleichgewicht erwartet wird, verglichen mit der stationären Anregungsverteilung, wie sie aus den DAXS und Lebensdauern der in Abb. [4.14] für offenes RZ und in Abb. [5.1] für geschlossenes RZ gezeigten Simulation errechnet wurde. Normiert wurde auf die Fläche unter den Kurven. Dabei ist zu erkennen, daß im blauen Spektralbereich relativ zuviel Anregung gegenüber der Gleichgewichtsverteilung vorliegt, im roten Spektralbereich hingegen relativ zuwenig. Das liegt an der besseren Löschung der am RZ konzentrierten roten Pigmente.

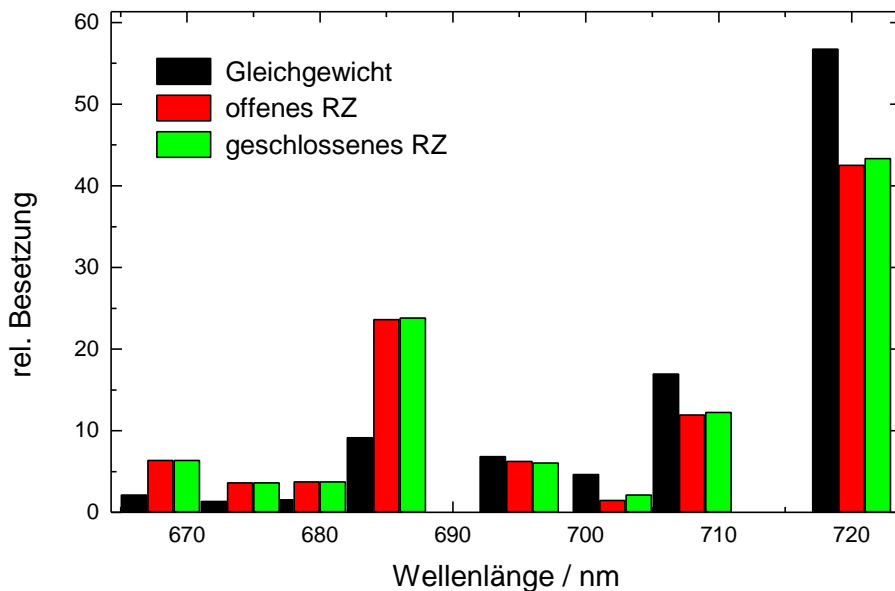


Abb. [5.2]

Im thermischen Gleichgewicht erwartete Verteilung des Anregungszustandes über die spektralen Pigmentformen (links) und die aus den DAXS und Lebensdauern der in Abb. [4.14] (offenes RZ, mitte) und Abb. [5.1] (geschlossenes RZ, rechts) gezeigten Simulation errechnete stationäre Anregungsverteilung. Normiert wurde auf die Fläche unter den Kurven.

### **Kein Boltzmann-Gleichgewicht im PS I Kernantenne-RZ-Komplex bei 5 K**

Der Effekt der zunehmenden Fluoreszenzausbeute bei abnehmender Temperatur ist für PS I lange bekannt. Er wurde bisher der Anwesenheit der roten Pigmente im Komplex zugeschrieben (Satoh & Butler 1978, Wittmershaus et al. 1992). Mit abnehmender Temperatur reicht die zur Verfügung stehende thermische Energie nicht mehr aus für den Aufwärts-Energietransfer und die Anregung bleibt gefangen auf den energetisch tiefstliegenden Pigmenten. Von da würde die



Anregung mit einer Fluoreszenzlebensdauer von  $\sim 2$  ns, vergleichbar mit der für isolierte Antennenkomplexe (Ide et al. 1987) zerfallen. Für Proben mit offenem RZ wäre eine solche Erklärung noch mit einem Kernantenne-RZ-Komplex im thermischen Gleichgewicht vereinbar. Es wurde jedoch kürzlich berichtet (Schlodder et al. 1998), daß in solchen Proben auch bei 5 K noch Ladungstrennung stattfindet mit einer Ausbeute von  $\sim 50$  %. Das ist in klarem Widerspruch zu einer Gleichgewichtseinstellung vor Anregungseinfang, da in diesem Fall nur ein verschwindender Anteil der Anregung in der Lage sein sollte, das RZ zu erreichen.

Für Proben mit geschlossenem RZ scheint eine thermische Äquilibration des Anregungszustandes über den Kernantenne-RZ-Komplex ebenfalls ausgeschlossen, da die breite Absorption von P700<sup>+</sup> stets spektralen Überlapp selbst für die energetisch tiefstliegenden Pigmente gewährleistet (siehe Abschnitt 5.1) und damit die gesamte Fluoreszenzemission mit einer einzigen Lebensdauer löschen sollte. Die Messungen (siehe Abb. [3.15]) jedoch zeigen, daß auch für geschlossenes RZ Verringerung der Temperatur auf 5 K zu einer  $\sim 10$ -fachen Zunahme der Fluoreszenzausbeute (siehe Abb. [3.7]) führt und gleichzeitig zum Auftreten mehrerer neuer kinetischer Komponenten.

Die Spektren der Transferkomponenten zeigen auch bei 5 K eine ausgeprägte Nicht-Konservativität (siehe Abb. [3.15]) im gleichen Sinne wie für ZT.

Damit kann auch für Tieftemperatur eine Äquilibration der Anregung über den PS I Kernantenne-RZ-Komplex ausgeschlossen werden.

### ***Die „instantane“ Anregungsverteilung bei 5 K impliziert eine spezielle Anordnung der roten Pigmente im PS I Komplex***

Wie bereits erwähnt (siehe Abschnitt 2.4) ergibt die Summe der Amplituden aller Komponenten an jeder Wellenlänge einen Eindruck über die Verteilung des Anregungszustandes zum Zeitpunkt „ $t=0$ “. Zu diesem Zeitpunkt haben die durch die Exponentialterme beschriebenen Abklingprozesse noch nicht eingesetzt. Praktisch sind jedoch bereits eine ganze Reihe schneller Prozesse abgelaufen, die der Zeitauflösung unseres Experimentes nicht zugänglich sind. Diese Anfangs-Anregungsverteilungen bei 5 K sind in Abb. [5.3] dargestellt für Monomere (unten), Trimere (oben), Proben mit allen RZ geschlossen (links) und Proben mit einem Anteil an offenen RZ (rechts).

In allen vier Teilbildern ist deutlich eine Bande mit Maximum um 712 nm (F712) auszumachen, eine weitere Bande mit Maximum um 735 nm (F735) fehlt bei den monomeren Proben völlig und ist bei geschlossenen Trimeren gegenüber den gemischten Trimeren reduziert. Das Fehlen

weiterer Banden erleichtert die Zuordnung dieser beiden Banden zu den aus dem 5 K Absorptionsspektrum bekannten Pools A708 und A720. Wenn man annimmt, daß Abb. [5.3] die Anregungsverteilung zu einem Zeitpunkt wiedergibt, an dem die *intramolekulare* thermische Relaxation bereits abgeschlossen ist, folgt daraus eine Stokesverschiebung von  $\sim 4$  nm für A708 und von  $\sim 15$  nm für A720. Andererseits ist aus dem 5 K DAYS für gemischte Proben (Abb. [3.18]) ersichtlich, daß der rötteste Pool stark inhomogen verbreitert ist, also nicht alle A720 Pigmente auch zu F735 gehören. Vielmehr wurde in den teilweise offenen Proben eine Fluoreszenz F750 gefunden. Würde diese F750 auch dem A720 Pool zugeschrieben werden, hätte das eine enorme Stokesverschiebung zur Folge.

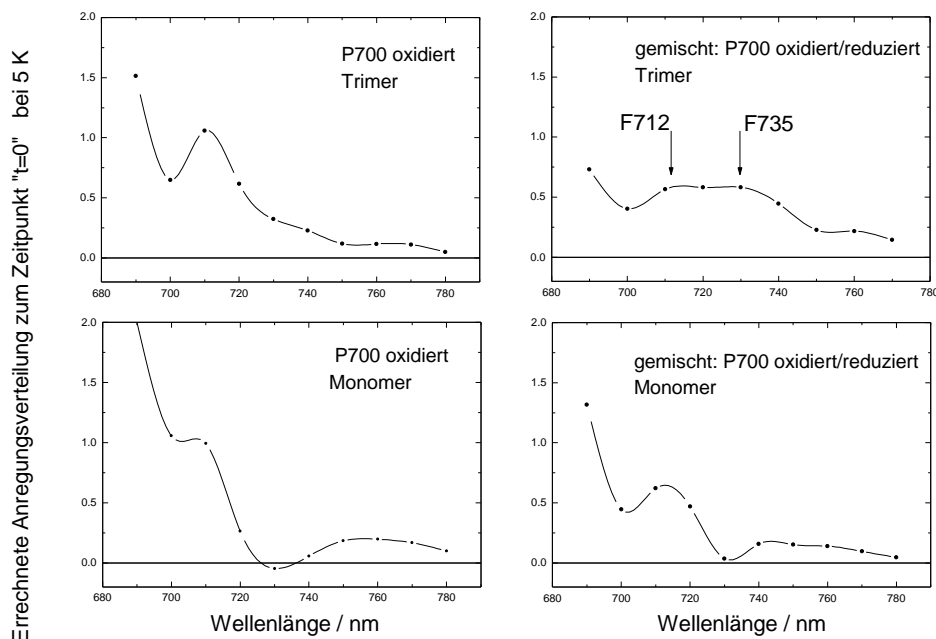


Abb. [5.3]

Aus der Summe der Zerfallsamplituden errechnete Anfangsverteilung des Anregungszustandes über die Pigmente des Kernantenne-RZ-Komplexes für trimeres und monomeres PS I mit völlig geschlossenen RZ sowie mit teilweise offenen und geschlossenen RZ bei 5 K.

Das deutliche Fehlen der F735 Emission für Monomere deutet auf den Verlust einiger dieser Pigmente für die Monomer-Präparation hin. Dies ist im Einklang mit der Bestimmung des Chlorophyllgehaltes pro P700 und der Zerlegung des 5 K Absorptionsspektrums für Monomere, die 92Chl/P700 und nur 3 statt 5 Chl im A720 Pool ausweisen (Flemming 1996). Die in dieser Arbeit verwendeten Monomere wurden gewonnen durch eine Mutation, die die Bildung der für die Trimerisierung notwendigen L-Untereinheit verhindert (siehe Abschnitt 2.1). Es liegt also

nahe anzunehmen, daß die im Monomer fehlenden A720 Pigmente von der L-Untereinheit gebunden oder stabilisiert wurden, also im Bereich der Trimerisierungsdomäne anzusiedeln sind. Der Unterschied in der Intensität der F735 Bande zwischen teiloffenen und ganz geschlossenen trimeren PS I Proben ist mit den unterschiedlichen Lösch-Eigenschaften von P700 und P700<sup>+</sup> zu erklären: Während P700<sup>+</sup> bei dieser Wellenlänge noch deutliche Absorption zeigt und damit spektralen Überlapp zur F735 Emission ermöglicht, also die Anregung mittels Abwärts-Energietransfer akzeptieren und abbauen kann, ist das für den reduzierten primären Donator P700 nicht möglich, seine Absorption ist in diesem Wellenlängenbereich bereits stark abgefallen. Um spektralen Überlapp zu gewährleisten, muß Aufwärts-Energietransfer erfolgen, der thermische Aktivierung erfordert. Bei einer Temperatur von 5 K steht zuwenig thermische Energie für einen effektiven Ablauf dieses Prozesses zur Verfügung.

Anders verhält sich das mit der Löschung der A708-Bande. Hier ist sowohl für Monomere als auch für Trimere zu beobachten, daß die Amplitude der F712 Bande im geschlossenen System stärker ausgeprägt ist als im gemischten System, das auch offene Zentren enthält. Die F712 Bande wird also von offenen Zentren *besser* gelöscht als von geschlossenen. Dies läßt sich erklären durch die ungewöhnliche Ausdehnung des P700 Absorptionsspektrums in den roten Bereich wie sie beispielsweise aus dem Nulldurchgang im P700/P700<sup>+</sup> Absorptionsdifferenzspektrum in Abb. [3] in (Pålsson et al. 1998) ersichtlich ist. Offenbar liegt für 712 nm die Absorption von P700 noch deutlich über der von P700<sup>+</sup>, was eine gute direkte Löschung der Anregungsenergie von den A708 Pigmenten selbst bei 5 K ermöglicht. Fände dieser Umstand in der Struktur/Spektral-gestützten Modellierung Berücksichtigung, könnte die Notwendigkeit vermieden werden, die A695 Pigmente als spektrale Brücke im RZ zwischen A708 und P700 einzufügen, was ja in gewissem Widerspruch zu einer vorgeschlagenen Absorption von A<sub>0</sub> um 685 nm ist (Kumazaki et al. 1994, Hastings et al. 1994b).

Daß diese Löschung bereits zu einem so frühen Zeitpunkt erfolgt („t=0“), zeigt, daß sie auch schnell ist. Dies suggeriert eine Lage der A708 Pigmente in unmittelbarer Nähe des RZ. Das ist im Einklang mit der sich aus der Strukturmodellierung ergebenden *funktionellen* Positionierung der A708 Pigmente am RZ.

Für eine Lokalisierung der A708 Pigmente in unmittelbarer Nähe, aber nicht im RZ selber, sprechen zwei weitere Befunde: PS I Proben aus Spinat wie die von Kumazaki et al. (1984) verwendeten, wurden durch Waschung mit Äther auf einen Gehalt von bis zu 11 Chl/P700 reduziert. Dennoch zeigen solche Proben noch Absorption > 700 nm. Das läßt auf eine Ursache

dieser Absorption im zentralen Teil des Komplexes, also in großer Nähe zum RZ, schließen. Andererseits werden die im  $P700/P700^+$  Absorptionsdifferenzspektrum (z.B. in Pålsson et al. 1998) beobachteten „scharfen Banden“ mit elektrochromen Verschiebungen der Absorption von Chlorophyll-Molekülen erklärt, die sich nahe genug an P700 befinden, um die dort auftauchende Ladung zu spüren. All diese spektralen Veränderungen sind aber auf der *kurzwelligeren* Seite von P700 zu finden. Deshalb scheint es angebracht, A708 nicht im RZ, sondern eher auf der Position der verbindenden Chlorophylle („Linker“) zu vermuten, bzw. in deren unmittelbarer Umgebung.

### ***Die Kinetik bei 5 K erlaubt die Bestimmung des Abstandes von F735 zum Löscher***

Die DAS und Lebensdauern der Fluoreszenzkinetik bei 5 K weisen eine Reihe interessanter Unterschiede zwischen Proben mit ausschließlich geschlossenen RZ und Proben mit offenen und geschlossenen RZ auf. Zu ihrer Erklärung müssen gewisse Annahmen gemacht werden über die Anordnung der roten Pigmente, da sie die Kinetik bei tiefen Temperaturen entscheidend beeinflussen.

In Proben, die offene RZ enthalten, verteilt sich bei 5 K jener Teil der Anregung, der nicht während des Umverteilungsprozesses mit einer Lebensdauer von 18 ps ins RZ gelangte, also etwa 50 %, auf die verschiedenen langwelligen Pigmente im Kernantenne-RZ-Komplex (> 95 % der Amplitude F735 und < 5 % der Amplitude F750). Von dort zerfällt dieser Teil der Anregung mit einer Fluoreszenz-Lebensdauer im ns-Bereich, vergleichbar mit der in isolierten Antennenkomplexen. Offenbar enthält die für F735 gemessene Lebensdauer von 1,3 ns noch einen Löschkanal, der für die F750 Pigmente nicht mehr zugänglich ist, so daß sich deren Lebensdauer auf 4,1 ns verlängert (vergl. Abb. [3.18]). Möglicherweise befinden sich die F750 Pigmente weiter von P700 entfernt. Das bei dieser Analyse verwendete Zeitfenster von 4,5 ns ist zu kurz, um die Lebensdauer von 4,1 ns noch zuverlässig bestimmen zu können.

In Proben mit geschlossenem RZ dominiert bei 5 K eine Komponente mit einer Lebensdauer von 400 ps die Fluoreszenzabklingkinetik (~ 70% der Amplitude, siehe Abb. [3.15]). Diese Komponente ist auch in gemischten Proben aus ~ 50 % offenen und ~ 50% geschlossenen RZ vorhanden, trägt dort aber nur ~ 50 % der Gesamtamplitude bei (siehe Abb. [3.16]). Diese drastische Reduzierung der Amplitude der ~ 400 ps Komponente belegt, daß diese Komponente den Löschprozeß der Anregung von den F735 Pigmenten durch den oxidierten primären Donator  $P700^+$  beschreibt. Damit ist eine Möglichkeit gegeben, den Abstand zwischen den beteiligten

Pigmenten, nämlich F735 und P700<sup>+</sup> mittels Förstertheorie abzuschätzen. Die beobachtete Löschrates von  $(0,4 \text{ ns})^{-1}$  addiert sich aus der Löschrates für Fluoreszenz ( $\sim 1,5 \text{ ns})^{-1}$  und direkter Löschung durch P700<sup>+</sup>, wofür sich ein Wert von  $(0,5 \text{ ns})^{-1}$  ergibt. Legt man die in der Strukturmodellierung gefundenen Werte (Försterradius  $\sim 7,4 \text{ nm}$ , Überlapp mit P700<sup>+</sup> im Vergleich zu P700 auf ein Drittel verringert) zugrunde, entsprechen 0,5 ns einem Abstand von  $\sim 3,5 \text{ nm}$  zwischen P700 und F735. Das ist in etwa der Abstand zwischen RZ und dem Ring der Kernantennen-Pigmente, also weder besonders weit innen noch weit außen auf der Peripherie des PS I Komplexes. Die gefundene Zahl stellt jedoch nur einen minimalen Abstand zu P700 dar, da sie den Transfer vom *nächsten* der F735 Pigmente ins RZ beschreibt, also den limitierenden Schritt. Zusammen mit den weiter oben beschriebenen Befunden und dem Resultat aus der Strukturmodellierung, daß die roten Pigmente sich alle in gewissem Kontakt miteinander befinden sollten, folgt eine Anordnung der F735 Pigmente in einer Art „loser Kette“ zwischen Trimerisierungsdomäne und dem „Linker“-Chlorophyll am RZ.

Die vorgeschlagene Anordnung der A708 Chlorophylle direkt am RZ als Anregungsenergie – Konzentratoren für P700 und der A720 Chlorophylle als Kette hin zur Trimerisierungsdomäne

- könnte erklären, daß bei 5 K etwa die Hälfte der Anregungen das RZ erreicht, während die andere Hälfte zu A720 gelangt (Schlodder et al. 1998),
- wäre vereinbar mit den bei ZT und 5 K gemessenen Fluoreszenzabkling-Kinetiken und der Abhängigkeit der Fluoreszenzausbeute von der Temperatur,
- erscheint plausibel im Kontext eines Inter-Monomer Anregungsenergieaustausches, wie er im nächsten Abschnitt beschrieben wird.

### **Effekt der Konnektivität zwischen Monomeren in einem Trimer**

Untersuchungen zur Heterogenität des Elektronentransfers in dem in dieser Arbeit verwendeten PS I Kernantenne-RZ-Komplex (Schlodder et al. 1998) ergaben, daß bei 5 K selbst unter ständiger Beleuchtung nur  $\sim 50 \%$  der RZ geschlossen werden können. Für die anderen 50 % ist das wegen schneller Ladungsrekombination in den Grundzustand  $\{P700, A_0\}$  nicht möglich (siehe Einleitung). Das Endniveau der Fluoreszenz gemischter Proben  $F_f$  (Kreis in Abb. [3.7]) lag bei 5 K niedriger als der erwartete Mittelwert für Proben mit ausschließlich offenem RZ (Dreiecke in Abb. [3.7]) und Proben mit ausschließlich geschlossenem RZ (Quadrate in Abb. [3.7]). Das kann durch die trimere Organisation der verwendeten Proben erklärt werden. Im vorherigen Abschnitt wurde eine Anordnung einiger der röttesten Pigmente (A720) in der

Trimerisierungsdomäne der monomeren Untereinheit vorgeschlagen. Die auf einer solchen, für das Trimer zentralen, Position gefangene Anregung kann durchaus in der Lage sein, den oxidierten Donator P700<sup>+</sup> eines benachbarten Monomers mit geschlossenem RZ zu erreichen, wenn das eigene RZ noch offen ist und keinen spektralen Überlapp zu roten Pigmenten bereitstellt. Auf diese Weise führt Fluoreszenz-Löschung zwischen unterschiedlichen Monomeren zu einem scheinbar höheren Anteil an PS I mit geschlossenem RZ. Die Abweichung der Fluoreszenzausbeute der gemischten Proben vom erwarteten Mittelwert weist auf eine mäßige Konnektivität zwischen PS I Monomeren innerhalb eines Trimeres hin. Diese Konnektivität in gemischten Proben mit offenem/geschlossenem RZ ist möglicherweise auch der Grund für eine insgesamt komplexere Anregungsabbau-Kinetik (vergl. Abb. [3.18]). Da sich diese nicht einfach als Linearkombination der Kinetik des ausschließlich offenen und des ausschließlich geschlossenen Zustandes darstellen läßt, ist es auch nicht möglich, die reinen Zustände aus dem gemischten rechnerisch zu extrahieren. Ist man an einem rein offenen Zustand interessiert, wird es sich nicht vermeiden lassen, stärkere Redoxkomponenten wie Dithionit zu verwenden (vergl. z.B. Karapetyan et al. 1997). Das kann allerdings zu Rekombinationsfluoreszenz führen.

### 5.3 Kinetische Modelle zwischen Transfer- und Trap- Limitierung

#### *Historischer Überblick*

Bereits im Abschnitt über die verschiedenen vorgeschlagenen Pool-Modelle (Abschnitt 4.3) wurde angedeutet, daß bis jetzt keine Einigkeit besteht über die Existenz und die Identität eines limitierenden Schrittes in der Dynamik angeregter Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex. Zu dieser anhaltenden Unklarheit haben verschiedene Faktoren beigetragen:

Ungenau definierte Begriffe, unvorsichtig benutzte Annahmen, mangelnde Kriterien und unzureichende experimentelle zeitliche und spektrale Auflösung. Der letzte Punkt stellt ein generelles Problem dar, da die Elementarschritte der betrachteten Prozesse sich im (Sub-) Pikosekundenbereich abspielen, spektral auf wenige Nanometer verteilt. Das bleibt auch heute noch eine Herausforderung an Auflösungsvermögen, Dynamikbereich, Signal/Rausch-Verhältnis und Reproduzierbarkeit experimenteller Techniken. Die ersten drei Probleme jedoch sind historischen Ursprungs und lösbar.

Am Anfang der Debatte um eine mögliche kinetische Limitierung in der Dynamik angeregter Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex stehen die Vorschläge von Owens et al. (1986) „nearly diffusion-limited“ und Holzwarth et al. (1993) „essentially trap-limited“. Bereits die Begriffswahl zeigt das Dilemma: bei gutem Willen haben beide Aussagen eine Schnittmenge, obwohl sie sich so kontradiktionär anhören. Tatsächlich ist auch das Datenmaterial, auf dem die Schlüsse fußen, eher kompatibel zu nennen. Ein direkter Vergleich ist erschwert, da Owens et al. (1986) noch keine Energietransfer-Komponente auflösen konnten und ihre Daten im Rahmen eines Gittermodells von Pearlstein (1982) auswerteten, während Holzwarth et al. (1993) ein makroskopisches Pool-Modell verwendeten, das keine offensichtliche Beziehung zu intrinsischen Parametern aufweist (siehe Abb. [4.5]). Dennoch finden sich vergleichbare Parameter: Owens et al. (1986) errechneten eine „first passage time“ von 20 ps, Holzwarth et al. (1993) schrieben ihre „Transferzeit“ von 12 ps einer „Äquilibration der anfangs angeregten A685 Pigmente mit den langwelligen“ inklusive RZ zu. Die Emissionszeitkonstante wurde von Owens et al. (1986) „mittlere Anregungslebensdauer“ genannt und zu 42 ps bestimmt, Holzwarth et al. (1993) nannten sie „beobachtbare Ladungstrennungszeit“ und fanden 36 ps. Eine Gegenüberstellung dieser Daten zeigt, daß sehr vergleichbare Meßergebnisse in unterschiedlicher Weise interpretiert wurden. Es muß allerdings daran erinnert werden, daß dies die ersten Interpretationsversuche waren und zu diesem Zeitpunkt noch keine Strukturdaten zur Verfügung standen.

Doch auch in jüngerer Zeit und mit verfügbaren Strukturdaten finden sich noch immer beide Standpunkte: Croce et al. (1996) fanden am PS I-200 Komplex, daß die Dynamik angeregter Zustände durchaus einer diffusions-limitierten Situation ähneln kann, während White et al. (1996) an einem PS I-45 Komplex eher zu einer Trap- Limitierung neigten. Aufgrund der unterschiedlichen Größe der untersuchten Teilchen sind beide Angaben nicht unmittelbar vergleichbar, aber auch der Wechsel im Charakter des limitierenden Schrittes für unterschiedliche PS I Teilchen spricht eher für ein Zwischenregime als für harte Limitierungen.

Außerdem existiert seit 1995 (Valkunas et al. 1995, Jennings et al. 1997, Gobets et al. 1998a,b) der Vorschlag einer „Transfer-to-the-Trap“- Limitierung, der seither die reine Diffusions-Limitierung zu ersetzen scheint.

Melkozernov et al. (1997) veränderten mittels zielgerichteter Mutationen an *Chlamydomonas reinhardtii* das Redoxpotential von P700 und veränderten damit auch die Reaktionsenthalpie für die intrinsische Ladungstrennung um 40 meV. Das verändert die Gleichgewichtskonstante für die zugehörige Hin- und Rückreaktion. An den so behandelten Proben wurde eine um den Faktor zwei verlängerte Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauer gemessen. Das zeigt, daß diese beeinflußt wird von der Geschwindigkeit der intrinsischen Ladungstrennung, nicht jedoch, wie stark dieser Einfluß ist im Vergleich zu dem anderer Prozesse.

Parallel zu besserer Auflösung der Experimente wurden die Modellierungstechniken verfeinert (Trinkunas & Holzwarth 1996, Beddard 1998, siehe Abschnitt 4.5). Beide zitierten Arbeiten kommen zu dem Schluß, daß im Rahmen der experimentellen Genauigkeit sowohl „Transfer (-to-the-Trap)“ als auch reine „Trap“- Limitierung die gemessenen Daten zu beschreiben in der Lage sind und die Unterscheidung zwischen den verschiedenen Regimes zusätzliche Experimente erfordert. Insbesondere schlugen (Trinkunas & Holzwarth 1997) eine Messung der Temperaturabhängigkeit der Fluoreszenz-Lebensdauern in einem breiten Temperaturbereich vor, um aufgrund der Form dieser Abhängigkeit eine Entscheidung treffen zu können.

### ***Wohlausgewogene Kinetik statt limitierender Regimes***

Hier nun soll ein Kompromißvorschlag unterbreitet werden: nicht einer der beiden Schritte ist limitierend oder mal einer, dann wieder der andere, sondern keiner von beiden, sie sind aufeinander abgestimmt!

Dazu muß man definieren, was man unter „Limitierung“ verstehen will. Theoretisch sind es stets alle intrinsischen Ratenkonstanten, die Eingang nehmen in die Berechnung aller beobachtbaren Lebensdauern. Wie in Abschnitt 4.2 gezeigt, kann es jedoch Konstellationen geben, für die der



Einfluß der einen oder anderen intrinsischen Ratenkonstante marginal wird oder gar eine einzige Ratenkonstante derart bestimmend wird, daß eine beobachtbare Lebensdauer nur noch von dieser einzigen Ratenkonstante abzuhängen scheint. Im letzteren Fall ist es gerechtfertigt, von „Limitierung“ zu sprechen. Als Kriterium für eine solche Limitierung könnte dienen, wie stark sich andere intrinsische Ratenkonstanten ändern müßten, um beispielsweise 10 % Änderung der betreffenden beobachtbaren Lebensdauer zu erzielen.

Glücklicherweise erweist es sich als nicht notwendig, solch strenge und beliebige Kriterien einzuführen. Es zeigt sich, daß die beobachtbare Lebensdauer des Anregungsabbaus als Funktion von intrinsischer Transfargeschwindigkeit (Försterradius) und intrinsischer Ladungstrennungsrate in dem hier betrachteten Parameterbereich gleichermaßen sensibel ist auf Änderung *beider* Größen. Das ist ersichtlich in Tabelle [5.2], wo zum Zwecke der Demonstration dieser Abhängigkeit beide Parameter unabhängig voneinander um einen Faktor zwei herauf- und herabgesetzt wurden. Zusätzlich wurden zum Test der vorgeschlagenen „Transfer-to-the-Trap“- Limitierung die folgenden Transferraten gesondert betrachtet:

- zwischen P700 (P) und allen Antennenpigmenten für den direkten „Transfer-to-the-Trap“
- zwischen den „Linker“ (L) Pigmenten und allen Antennenpigmenten für den indirekten „Transfer-to-the-Trap“

Es zeigt sich, daß der Einfluß von verlangsamtem/beschleunigtem intrinsischem \* Gesamt-Transfer, \* Transfer-to-the-Trap, \* Trapping, \* „Transfer ohne Trap“ auf die beobachtbare Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauer tatsächlich in dieser Reihenfolge abnimmt, wobei sich die Werte um maximal 25% voneinander unterscheiden.

Damit ist gezeigt, daß von „Limitierung“ durch irgendeinen der Schritte nicht die Rede sein kann. Interessant ist, daß es innerhalb des Transfer-Einflusses tatsächlich die Kanäle zum RZ sind, die den größeren Anteil beitragen (vergl. z.B. jede der beiden letzten Zeilen in Tabelle [5.2] mit der drittenletzten). Wenn man annimmt, daß dies auf die räumliche Separierung des RZ von der Kernantenne zurückzuführen ist, ist auch ein Einfluß auf die Rücktransferraten vom RZ in die Antenne zu erwarten. Ein experimenteller Zugang zur Messung dieser Raten würde eröffnet, wenn es gelänge, selektiv nur P700 anzuregen und dann die Fluoreszenz der Antenne zu beobachten. Selektive Anregung von P700 bei ZT scheiterte bisher an der spektralen Bandbreite der Antennenpigmente, die stets, wenigstens zum Teil, mitangeregt werden (White et al. 1996).

Intrinsische Ratenkonstanten		Apparente Lebensdauern in ps		
Mit welcher Zeit	passiert was	langsamstes Transfer-spektrum	Gesamt-Anregungs-Abbau	
Ladungstrennung: 2 ps <sup>-1</sup> Försterradius: 7,4 nm		*1	12,9	34,0
trap		*2	12,9	29,0
Transfer	alle		6,5	22,0
	nur P und L		10,3	24,3
	außer P und L		7,8	29,1
trap		/2	12,9	44,0
Transfer	alle		25,6	57,0
	nur P und L		15,5	47,7
	außer P und L		20,4	38,4

Tabelle [5.2]

Abhängigkeit der beobachtbaren Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauer und der Lebensdauer des langsamsten Transferspektrums von den um den Faktor zwei variierten intrinsischen Ratenkonstanten für Ladungstrennung („trap“), und Förstertransfer („Transfer“), letztere separat für die Transferraten zu P700 („P“) und die Linker-Chlorophylle („L“) und ohne sie.

Im Strukturmodell wurde der optimale Wert für die intrinsische Ladungstrennungszeit zu 0,5 ps bestimmt. Diese Zeit liegt unter den 0,7 ps, die aus den Gleichgewichts-Thermodynamik-Betrachtungen im Abschnitt 4.1 gefunden wurden. Für diese Betrachtungen mußte eine Trap-Limitierung vorausgesetzt werden, damit sich der Komplex im thermodynamischen Gleichgewicht befinden kann. Die geringe Abweichung beider Werte voneinander zeigt einmal mehr, daß einerseits keine Trap-Limitierung vorliegt, andererseits aber auch keine extremen Ungleichgewichtszustände herrschen, sondern ein ausgewogenes kinetisches Zwischenregime.

## 5.4 Grenzen und Verbesserungen des Modells

### ***Zuverlässigkeit der gefundenen Werte für die intrinsischen Parameter***

Das in dieser Arbeit vorgestellte Struktur/Spektral-basierte Modell für die Beschreibung der Dynamik angeregter Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* konnte die beobachtete Fluoreszenzlebensdauern und Spektren bei ZT für offene und geschlossene RZ richtig beschreiben. Da relativ viele Parameter für relativ wenige Anpassungsgrößen zur Verfügung stehen, stellt sich die Frage: Wie zuverlässig sind die Aussagen, die sich auf das vorgestellte Modell gründen?

Dazu sei noch ein letztes mal ein Blick in die Vergangenheit geworfen. Frühere Modelle waren entweder räumlich homogen (Gittermodelle von z.B. Trinkunas & Holzwarth 1994, 1996), spektral relativ homogen (Strukturmodell von Gobets et al. 1998a,b) oder in der Zahl der betrachteten Chlorophyll-Moleküle begrenzt (45 Chl/P700 bei White et al. 1996). Eine *Differenzierung*, wie sie die Einführung von Inhomogenität durch neue Pigmente, Koordinaten, spektrale Spezies darstellt, führt zur *Aufspreizung* des Bereiches, über den sich die intrinsischen Ratenkonstanten erstrecken können. Einige von ihnen werden schneller werden, andere langsamer als in homogenen Modellen. Welchen *Einfluß* diese neuen Ratenkonstanten auf die beobachtbaren Lebensdauern nehmen, hängt in starkem Maße von der Anordnung der Pigmente ab. Es wurde jedoch noch kein Algorithmus vorgeschlagen, wie diese vielen Anordnungen sinnvoll und erschöpfend zu untersuchen seien. Ein Test von ~ 50 zufälligen räumlich/spektralen Anordnungen zeigt für die beobachtbare Gesamt-Anregungsabbau-Lebensdauer eine relativ breite Verteilung, die aber die Form einer Normalverteilung zu haben scheint mit einem Mittelwert um 100 ps, also deutlich langsamer als experimentell gefunden. Die Lebensdauern der Transferspektren streuen ebenfalls über einen sehr breiten Zeitbereich. Welche davon beobachtbare Amplituden aufweisen ist unvorhersagbar. Das ist aber entscheidend dafür, wie der Transfer-Parameter, nämlich der Försterradius, skaliert werden muß, um Übereinstimmung mit den experimentellen Spektren zu erzielen. Davon hängt dann auch die Anpassung der intrinsischen Ladungstrennungsrate ab. All das besagt zweierlei:

- Es ist nicht auszuschließen, daß auch andere räumlich/spektrale Zuordnung der Pigmente gefunden werden können, die die Fluoreszenzkinetik ebenfalls beschreiben und andere Parameter ergeben.

- Es ist zu erwarten, daß mit der weiteren *Differenzierung* durch Berücksichtigung weiterer Einflußgrößen eine Neuanpassung der Modellparameter erforderlich wird.

Dennoch sind das Modell und die daraus geschlossenen Werte für Försterradius und Ladungstrennungszeit nicht wertlos. Sie besitzen Gültigkeit *unter der Voraussetzung der hier verwendeten räumlich/spektralen Zuordnung der Pigmente*. Diese wurde aber nicht willkürlich vorgenommen, sondern unter Berücksichtigung mehrerer experimenteller Befunde und in dem Bestreben, diese zu reproduzieren. In diesem Sinne ist die in der Einleitung angesprochene Selbstkonsistenz erreicht.

### ***Mögliche (nötige) Verbesserungen***

Völlig unberücksichtigt blieb in dieser Struktur/Spektral-gestützten Modellierung die gegenseitige *Orientierung* der Übergangsdipolmomente. Bei der angestrebten Auflösung des nächsten PS I Strukturmodelles (Jordan 2000) werden auch die Orientierungen der Pigmentmoleküle in der Porphyrin-Ebene festgelegt sein. Nimmt man an, daß diese Geometrie im angeregten Zustand keine wesentlichen Änderungen erfährt, sind damit die Richtungen sowohl des Absorptions- als auch des Emissions- Übergangsdipolmomentes zugänglich. Deren explizite Verwendung würde sich durch die elementweise Multiplikation der bisherigen Ratenmatrix mit einer „Orientierungsmatrix“ relativ leicht implementieren lassen. Als Effekt wird eine weitere Aufspreizung des Bereiches der beobachtbaren Lebensdauern erwartet (siehe voriger Abschnitt).

Im Abschnitt 4.4 (Hybridmodelle) wurde auf das Problem der *spektralen Breite* der Pigmente bzw. Pigmentpools hingewiesen. Sie wurde im vorliegenden Modell als für alle Pigmente gleich angenommen. Es gibt aber experimentelle Befunde, die für eine größere spektrale Breite der roten Pigmente und insbesondere von P700 sprechen (Gillie et al. 1989, Gobets et al. 1994, Schlodder et al. 1998). Berücksichtigung dieser Heterogenität wäre möglich durch die Neuberechnung der Förster-Überlapp-Integrale. Dabei ist Aufmerksamkeit geboten, damit die errechneten Ratenkonstanten konsistent bleiben mit der zur Aufrechterhaltung des detaillierten Gleichgewichtes notwendigen Bedingung Gl. [4.7]. Als Effekt wird, ähnlich wie bei Berücksichtigung der unterschiedlichen Orientierungen, einerseits eine Aufweitung der Skala der beobachtbaren Lebenszeiten erwartet. Andererseits kann der verbesserte spektrale Überlapp zwischen Antenne und P700 einige bisher rigide räumliche Einschränkungen bezüglich der Anordnung der roten Pigmente lockern.

Zur Zerlegung des 5 K Absorptionsspektrums wurden in dieser Arbeit symmetrische Gaußbanden verwendet, während für die Berechnung der FOI eine kompliziertere Bandenform aus vier Gaußbanden Verwendung fand. Diese scheinbare Inkonsistenz ist jedoch nicht bedeutsam, da die Bandenzerlegung selbst keinen Einfluß auf die Werte der FOI und damit der Transferraten hat, sondern nur auf die relative Größe der Pigmentpools. Verwendung einer komplizierteren Bandenform zur Zerlegung des 5 K Absorptionsspektrums könnte zu leichten Modifikationen der relativen Poolgröße insbesondere auf der blauen Flanke des Spektrums führen. Die absolute Größe der Pigmentpools kann sich ändern mit der Zahl der in der Röntgenstruktur gefundenen Chlorophyll-Moleküle. Dies hätte Auswirkungen nur für die kleineren rötlichen Pools A695, A708 und A720. Hier kann es entscheidend sein, ob es nun vier Pigmente sind, die die Anregung am RZ konzentrieren oder doch fünf.

Eine letzte mögliche Erweiterung des Modells sei noch vorgeschlagen bezüglich des ladungsgetrenten Zustandes  $\{P700^+, A_0^-\}$ . Seine Einbeziehung hätte den Vorteil, daß man Aussagen gewänne über dessen transiente Besetzung sowie Bildungs- und Zerfalls- Kinetik. Diese Werte sind der Fluoreszenzspektroskopie nicht mehr zugänglich, da es sich um einen nicht-strahlenden Zustand handelt. Dennoch gibt es experimentelle Anhaltspunkte aus transienten Absorptionsmessungen. Problematisch ist auch, daß ein weiterer unsicherer Parameter eingeführt werden müßte, die intrinsische Rate der Ladungsstabilisierung zum Zustand  $\{P700^+, A_1^-\}$ . Unlängst wurde dafür von Brettel & Vos (1999) ein Wert von 30 ps gemessen.

**In diesem Kapitel wurden die Messungen aus Kapitel 3 und die Modelle aus Kapitel 4 gegenübergestellt. Der Unterschied in der Dynamik der angeregten Zustände für offene und geschlossene Zentren konnte erklärt werden. Die entscheidende Rolle der roten Pigmente für diese Dynamik wurde herausgestellt. Es wurden intrinsische Parameter gefunden, die auf ein wohlausgewogenes kinetisches Zwischenregime anstelle harter Limitierungen hinweisen.**