

KAPITEL 6

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit sind Messungen und Modellierungen zur Dynamik angeregter Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus dem thermophilen Cyanobakterium *Synechococcus el.* beschrieben, die im Rahmen eines dreijährigen Promotionsprojektes am Institut für Experimentalphysik der Freien Universität Berlin und am Max-Volmer-Institut der Technischen Universität Berlin entstanden.

Messungen

Durch Fluoreszenzinduktion, stationäre Fluoreszenzspektroskopie und zeitaufgelöste Fluoreszenz im ps-Zeitbereich gelang es nachzuweisen, daß bei Zimmertemperatur offene Reaktionszentren (reduzierter primärer Donator P700) angeregte Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex um $12 \pm 5 \%$ besser löschen als geschlossene Reaktionszentren (oxidiertes primäres Donator P700⁺). Die Ursache hierfür liegt in einer geringfügig größeren Lebensdauer des Anregungsabbaus im geschlossenen System, die im wesentlichen auf den verringerten spektralen Überlapp zwischen Antennen-Pigmenten und primärem Donator zurückzuführen ist. Bei 5 K löscht umgekehrt der oxidierte primäre Donator P700⁺ in geschlossenen Zentren die Fluoreszenz etwa doppelt so effizient wie der reduzierte primäre Donator P700 in offenen Zentren. Das ist zu erklären durch den Abwärtsenergietransfer aus der Antenne zu P700⁺, der ermöglicht wird durch die breite Absorption des oxidierten primären Donators P700⁺ im Wellenlängenbereich bis über 800 nm hinaus.

Die pikosekunden-zeitaufgelösten zerfallsassoziierten Spektren bei Zimmertemperatur unterscheiden sich nicht wesentlich für trimere und monomere PS I Komplexe. Es können vier kinetische Komponenten aufgelöst werden, wovon die beiden langlebigen sehr geringe Amplituden aufweisen und Pigmenten zugeschrieben werden, deren Energietransfer zum RZ erschwert ist (entkoppelte Chl). Die Komponente, die den Hauptteil der Amplitude und Ausbeute trägt, wird dem Gesamt-Anregungsabbau zugeschrieben und zeigt in offenen Zentren eine Lebensdauer von 34 ± 1 ps, in geschlossenen Zentren hingegen 37 ± 1 ps. In geschlossenen Zentren kann eine schnellere Energietransfer-Komponente aufgelöst werden mit einer Lebensdauer von 13 ± 2 ps, deren Spektrum nicht-konservativ ist in dem Sinne, daß der positive Flächenanteil bei Wellenlängen < 700 nm geringer ist als der negative Flächenanteil bei

Wellenlängen > 700 nm. In offenen Zentren ist die Lebensdauer der schnellsten kinetischen Komponente nicht global beschreibbar und weist überall negative Amplituden auf.

Die pikosekunden-zeitaufgelösten zerfallsassoziierten Spektren bei 5 K zeigen Unterschiede für trimere und monomere PS I Komplexe. In Trimeren mit teilweise offenem RZ konnte erstmalig eine langlebige Fluoreszenz-Komponente gefunden werden mit einem Emissionsmaximum bei ~ 750 nm. Sie fehlt in Trimeren mit geschlossenem RZ und in Monomeren. Ihre Existenz weist auf eine enorme inhomogene Verbreiterung der langwelligen Absorption des PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* hin, ihr Fehlen in Monomeren auf eine Lokalisierung der hierfür verantwortlichen Pigmente an der L-Untereinheit in der Trimerisierungsdomäne. Vergleich der Fluoreszenzlöscheffizienz bei 5 K von offenen Zentren, geschlossenen Zentren und von Proben, die ein $\sim 50/50$ Gemisch beider enthalten, legt die Möglichkeit eines moderaten Anregungsenergietransfers zwischen unterschiedlichen Monomeren innerhalb eines Trimers nahe. In offenen Zentren zerfällt die Fluoreszenz mit einer dominanten Lebensdauer von 1,3 ns, in geschlossenen Zentren mit einer dominanten Lebensdauer von 0,4 ns.

Poolmodellierung

Bei der Poolmodellierung finden nur die spektralen Eigenschaften der Pigmente Beachtung, während räumliche Informationen keine Rolle spielen. Anhand eines einfachen Zwei-Pool-Modells konnten Kriterien gefunden werden für die experimentelle Unterscheidung zwischen äquilibrierten und nicht-äquilibrierten Systemen:

- i) Abweichung der Anregungsverteilung von der gemäß Stepanov-Relation errechneten,
- ii) nicht-konservative Transferspektren,
- iii) Geringer Unterschied zwischen der beobachteten Transfer-Lebensdauer und der Gesamtdauer des Anregungsabbaus.

Bei dem einfachsten möglichen Poolmodell, mit dem sich die experimentellen Ergebnisse beschreiben lassen, wurde der PS I Kernantenne-RZ-Komplex grob in drei spektrale Gruppen untergliedert: die Hauptantenne $85 \times A680$, die roten Pigmente $9 \times A715$ und das RZ $6 \times A700$. Es wurde ein Satz von Ratenkonstanten gefunden, mit dem die Dynamik für Proben mit offenem und geschlossenem RZ bei ZT und 5 K beschrieben werden kann. Die aus der Simulation erhaltenen Parameter für Transfer und Anregungsabbau weisen darauf hin, daß sich weder bei ZT noch bei 5 K ein thermisches Gleichgewicht im PS I Kernantenne-RZ-Komplex einstellt, bevor der Abbau der Anregung stattfindet. Damit kann dieser Komplex nicht adäquat durch Trap-limitierte Kinetik beschrieben werden, wie dies bisher bevorzugt geschah.

Strukturmodellierung

Die Strukturmodellierung berücksichtigt alle verfügbaren spektralen und räumlichen Angaben explizit bei der Berechnung der Förstertransferraten zwischen den Pigmenten des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes. Damit kann der Einfluß verschiedener räumlich-spektraler Zuordnungen der Pigmente auf die Kinetik des Anregungseinfangs und -abbaus untersucht werden. In Kombination mit zeitaufgelöster Fluoreszenzspektroskopie bietet Strukturmodellierung die Möglichkeit, zu Aussagen über Aufbau und Funktion des PS I Kernantenne-RZ-Komplexes zu gelangen. Anpassung des Strukturmodelles an die gefundenen experimentellen Daten liefert folgende wichtige Schlüsse:

- i) Die A708 Pigmente befinden sich in unmittelbarer Nähe zum RZ (jedoch nicht im RZ). Damit wird eine ausreichend hohe transiente Besetzung von P700 ermöglicht.
- ii) Das innerste der A720 Pigmente liegt weder extrem peripher noch unmittelbar zentral.
- iii) Alle roten Pigmente haben guten räumlichen Kontakt zueinander, so daß nur *eine* langsame Äquilibration über den gesamten PS I Kernantenne-RZ-Komplex beobachtet wird. Letzteres ist jedoch experimentell nicht ausreichend zuverlässig belegt.

Mit diesen Randbedingungen wird die in Abb. [6.1] gezeigte Anordnung der roten Pigmente im PS I Kernantenne-RZ-Komplex vorgeschlagen.

Eine solche Anordnung der roten Pigmente als „Kette“ zwischen Trimerisierungsdomäne und „Linker“-Chlorophyllen ist biologisch funktionell: Der Anregungszustand wird im Zentrum des Trimers konzentriert, von wo aus er von den RZ aller drei anliegenden Monomere schnell gelöscht werden kann.

Das verwendete Struktur/Spektral-gestützte Modell kann wesentliche Züge der Dynamik angeregter Zustände im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.* bei Zimmertemperatur beschreiben und reproduziert die gemessene Kinetik am besten unter Verwendung folgender Werte für die intrinsischen Parameter:

Ladungstrennungszeit $t_{CS} = 0,5 \text{ ps}$

Försterradius $R_0 = 7,4 \text{ nm}$

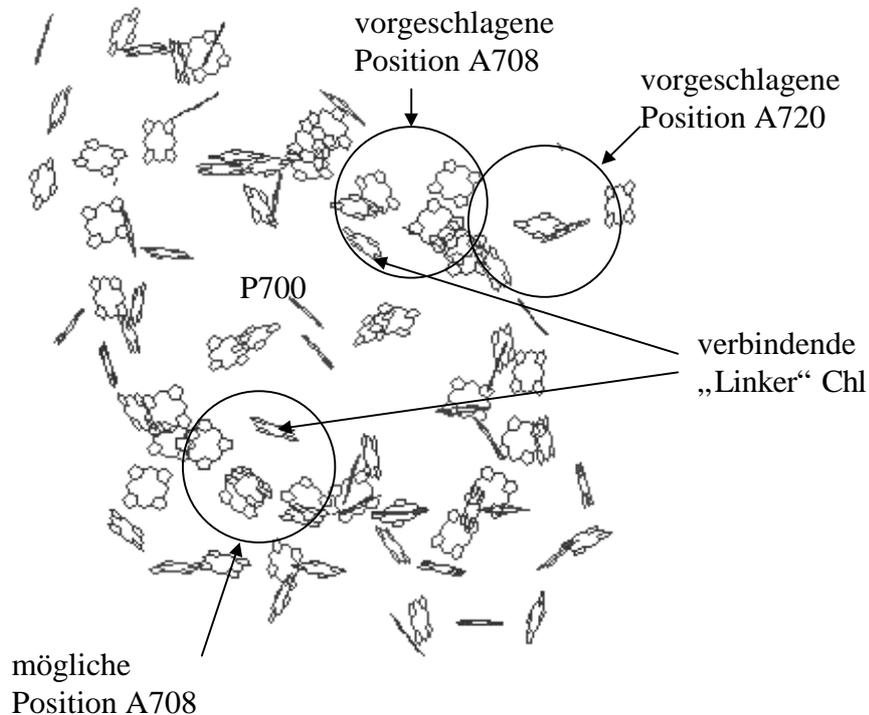


Abb. [6.1]

Aufgrund von kombinierten Messungen und Modellierungen vorgeschlagene Anordnung der roten Pigmente im PS I Kernantenne-RZ-Komplex aus *Synechococcus el.*

Die einzelnen Teilprozesse des Anregungseinfangs: Äquilibration, Transfer zum RZ und Ladungstrennung sind dabei dergestalt aufeinander abgestimmt, daß keiner als limitierend bezeichnet werden kann. Vielmehr scheint es gerechtfertigt, die Kinetik als „ausgeglichen“ zu bezeichnen mit etwa gleich starkem Einfluß von Transferprozessen in der Antenne, Transferprozessen zum RZ und Ladungstrennung im RZ.

Im Rahmen des bisher verfügbaren experimentellen Datenmaterials ist das Modell konsistent und die gewonnenen Parameter sind zuverlässig, jedoch nicht garantiert einzig. Weitere Verbesserungen bei Messungen/Modellierungen können/werden im Rahmen einer Neuanpassung noch Veränderungen zur Folge haben. Verbesserungen sind zu erwarten durch eine Berücksichtigung der Orientierung der Übergangsdipolmomente. Für die adäquate Berücksichtigung der unterschiedlichen spektralen Breiten sind gezielte Lochbrenn-Studien wünschenswert.