

# **Energie- und Ladungstransferkinetik in Photosystem II Kernkomplexen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Freien Universität Berlin  
Fachbereich Physik

*vorgelegt von*

**Ingo Rimke**

aus Berlin

**Berlin 1999**

1. *Gutachter:* Prof. D. Stehlik
2. *Gutachter:* Prof. N. Schwentner

*Tag der mündlichen Prüfung:* 27.10.1999

# Inhalt

|   |    |
|---|----|
| <b>I. Einleitung</b> .....  | 7  |
| I.1 Die Photosynthese .....   | 7  |
| I.1.1 Die Elektronentransportkette der Photosynthese .....  | 8  |
| I.1.2 Photosystem II.....   | 10 |
| – <i>Der wasserspaltende Komplex (OEC) – Die Antennenkomplexe – Das Reaktionszentrum – PS II Kernkomplexe –</i>     |    |
| I.1.3 Kinetische Modelle und Limitierungen .....  | 14 |
| – <i>Migration und Einfang – Das excited state – radical pair equilibrium Modell der Ladungstrennung in PS II –</i> |    |
| I.2 Zielsetzung und Gliederung der Arbeit.....  | 17 |
| <b>II. Grundlagen</b> .....   | 19 |
| II.1 Kinetische Primärprozesse in der Photosynthese .....   | 19 |
| II.1.1 Elektronentransfer.....  | 19 |
| II.1.2 Energietransfer.....   | 20 |
| II.1.3 Annihilation .....   | 22 |
| II.1.4 Boltzmanngleichgewicht .....   | 23 |
| II.2 Grundlegende Bemerkungen zur transienten Absorptionsspektroskopie .....  | 24 |
| – <i>Korrelation der Methoden der transienten Absorption und der zeitaufgelösten Fluoreszenz –</i>                  |    |
| <b>III. Apparative Beschreibungen und Auswertemethoden</b> .....  | 27 |
| III.1. Das Lasersystem.....   | 27 |
| III.1.1 Modengekoppelter Argon-Ionen-Laser .....  | 27 |
| III.1.2 Farbstofflaser mit Cavitydumper.....  | 28 |
| III.1.3 Synchronisation der Farbstofflaser, Pulseigenschaften.....  | 30 |
| – <i>Charakterisierung der Farbstofflaserpulse – Coherent spike – Kreuzkorrelation –</i>                            |    |
| III.1.4 Apparative Synchronisation der cavity dumper Treiber.....   | 35 |

|   |           |
|---|-----------|
| III.2 Die Transiente Absorptionsanlage.....   | 39        |
| III.2.1 Der optische Aufbau.....  | 40        |
| – <i>Überwachung der Pulseigenschaften – Die Verzögerungsstrecke – Der Überlapp von Pump- und Testpuls in der Probe – Die Rotationsküvette – Die Unterdrückung der Fluoreszenz –</i>  |           |
| III.2.2 Modulation und Detektion.....   | 48        |
| – <i>Wahl des Modulationsverfahrens für die Messung von transienten Absorptionssignalen – Detektionsmodus bei der Kreuzkorrelationsmessung – Modulationsform von Pump- und Testpuls – Elektronische Ansteuerung und computergestützte Experimentsteuerung – Die Wahl der Modulationsfrequenzen – Das Partikelrauschen der Probe –</i> |           |
| III.2.3 Testmessungen zur Charakterisierung der Transienten Absorptionsanlage.....  | 57        |
| III.3 Die Zeitkorrelierte Einzelphotonenzählung.....  | 59        |
| III.3.1 Meßprinzip und elektronische Detektion .....  | 60        |
| III.3.2 Optischer Aufbau.....   | 61        |
| III.3.3 Anregungsintensität und Poissonstatistik.....   | 63        |
| III.4 Datenanalyse.....   | 63        |
| III.4.1 Einzelzerfallslebensdaueranalyse .....  | 65        |
| III.4.2 Globale Lebensdaueranalyse .....  | 66        |
| III.4.3 Globale Targetanalyse .....   | 66        |
| III.4.4 Fehleranalyse .....   | 68        |
| III.4.5 Praktische Durchführung der Datenanalyse .....  | 68        |
| III.5 Weitere verwendete Untersuchungsmethoden .....  | 71        |
| <b>IV. PS II Kernkomplexe und ihre Charakterisierung.....</b>   | <b>72</b> |
| IV.1 Biochemische Charakterisierung der Proben .....  | 72        |
| IV.1.1 Probenpräparation .....  | 72        |
| IV.1.2 Puffer.....  | 72        |
| – <i>Synechococcus el.</i> –  |           |
| IV.1.3 Bestimmung der Chlorophyllanzahl pro Reaktionszentrum.....   | 73        |
| IV.1.4 Test auf PS I Anteile .....  | 75        |

|  |     |
|--|-----|
| IV.2 Stationäre Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften.....                   | 75  |
| IV.2.1 Absorptionsspektren.....  | 75  |
| IV.2.2 Fluoreszenzspektren, Reinheit der Probe .....                             | 77  |
| – Untersuchung der PS II Kernpräparation aus <i>Synechococcus el.</i> –          |     |
| – Untersuchung der PS II Kernpräparationen aus Spinat –                          |     |
| <b>V. Zeitaufgelöste Fluoreszenz- und Absorptionsmessungen an PS II</b>          |     |
| <b>Kernkomplexen</b> .....   | 84  |
| V.1 Meßbedingungen der zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen.....                 | 84  |
| V.2 Charakterisierung von PS II Kernkomplexen mit offenen RZ mittels             |     |
| zeitaufgelöster Fluoreszenz .....  | 84  |
| V.2.1 PS II Kernkomplexe mit offenen RZ aus <i>Synechococcus el.</i> .....       | 86  |
| V.2.2 PS II Kernkomplexe mit offenen RZ aus Spinat .....                         | 88  |
| V.2.3 Vergleich der Fluoreszenzzerfälle von offenen PS II Kernkomplexen.....     | 90  |
| V.3 Charakterisierung von PS II Kernkomplexen mit geschlossenen RZ mittels       |     |
| zeitaufgelöster Fluoreszenz .....  | 92  |
| V.3.1 PS II Kernkomplexe mit geschlossenen RZ aus <i>Synechococcus el.</i> ..... | 93  |
| V.3.2 PS II Kernkomplexe mit geschlossenen RZ aus Spinat .....                   | 96  |
| V.3.3 Vergleich der Fluoreszenzzerfälle von geschlossenen PS II Kernkomplexen    |     |
| unterschiedlicher Spezies.....   | 99  |
| V. 4 Meßbedingungen der zeitaufgelösten transienten Absorption .....             | 104 |
| V.4.1 Anregungsintensität und Annihilation.....                                  | 106 |
| V.5 Ergebnisse der transienten Absorptionsmessungen an geschlossen PS II         |     |
| Kernkomplexen aus Spinat.....  | 107 |
| V.5.1 Untersuchung des langen ns Zeitbereiches.....                              | 113 |
| V.5.2 Vergleich der Messung mit bisher veröffentlichten Daten.....               | 114 |
| <b>VI. Modellierung und Diskussion der Ergebnisse</b> .....                      | 117 |
| – Die Ratenkonstante $k_a$ –   |     |
| VI.1 Modellierung der Fluoreszenzkinetiken.....                                  | 117 |
| VI.1.1 Beschreibung offener Reaktionszentren.....                                | 117 |

---

|  |            |
|--|------------|
| VI.1.2 Beschreibung geschlossener Reaktionszentren .....   | 121        |
| – <i>Relaxierung des Radikalpaarzustands — Zwei serielle relaxierte Radikalpaare – Zwei parallele relaxierte Radikalpaarzustände –</i>   |            |
| VI. 2 Modellierung der transienten Absorptionsdaten .....  | 128        |
| VI.2.1 Modellierung der Daten bis 300 ps .....   | 128        |
| VI.2.2 Auswertung der Absorptionsdaten im 2 ns Fenster .....   | 133        |
| VI.3 Diskussion und Interpretation der Modellierung.....   | 134        |
| – <i>Trap Limitierung – Konsequenzen aus der Modellierung der gemessenen Kinetiken – Primäre Ladungstrennung – Radikalpaarrelaxation – Vergleich von Fluoreszenz- und Absorptionsmodellierung – Ausblick –</i> |            |
| <b>VII. Zusammenfassung .....</b>  | <b>141</b> |
| <b>VIII. Anhang .....</b>  | <b>143</b> |
| VIII.1 Literatur .....   | 143        |
| VIII.2 Abkürzungen.....  | 150        |
| Danksagung .....   | 152        |