

**Der Mangankomplex der
Photosynthese im katalytischen Zyklus:
Neue röntgenspektroskopische Ansätze
zur Untersuchung von Struktur und
Mechanismus**

Peter Liebisch
geboren in Rostock

Inaugural-Dissertation



Fachbereich Physik
Freie Universität Berlin

Januar 2005

Erster Gutachter: Prof. Dr. Holger Dau
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Robert Bittl
Tag der Disputation: 15. Februar 2005

The Manganese Complex of Photosynthesis in its Catalytic Cycle: New Approaches in X-ray Absorption Spectroscopy to Analyse Structure and Mechanism

Abstract Determination of the nuclear geometry together with structural rearrangements and electronic changes of the Mn_4Ca complex of photosystem II (PSII) may facilitate an in depth discussion of the mechanism of photosynthetic water oxidation. In the work presented here X-ray absorption spectroscopy is applied to approach these questions with the following results: (1) A complete data set of EXAFS-spectra was collected at room temperature in all semi-stable S-states of the catalytic cycle. The data was analysed with respect to the XANES and the EXAFS part and compared with equivalent data from measurements at 20 K. The central findings are: (a) There are no significant structural differences between the 20 K and the RT data. (b) The finding, that a third di- μ -oxo-bridge is formed in the $\text{S}_2 \rightarrow \text{S}_3$ -transition is supported by the new data. (2) A comparative model study with bi-nuclear Mn-complexes in different oxidation states reveals a likely connection between oxidation state transitions and bridging mode changes which may be modelling the native complex. (3) As a new approach XANES *ab-initio* simulations are used to analyse electronic and structural changes during the S-state transitions. Structural models are used to evaluate the potential of XANES-simulations and an interpretation of spectral features by complementary MO calculations is given. Spectra from structurally known models are then used to demonstrate the possibility of a quantitative description of XANES-structure and differences due to structural rearrangements and oxidation state changes. Furthermore geometrical fitting of XANES data to model structures is implemented and validated. (4) The method of XANES-simulation employed for interpretation of the S-state difference spectra by systematic parameter studies and geometrical fitting with hypothetic models of the Mn_4 complex of PSII. (5) To evaluate the potential of XANES-simulation with respect to the XANES polarization dependence a theory is developed to treat Linear Dichroism XAS from partially ordered samples with high-order or full-multiple scattering simulations. This theory is applied to hypothetical models of the manganese complex to estimate the orientation of the μ -oxo-bridges with respect to the membrane normal.

Inhaltsverzeichnis

Abstract	iii
1 Einleitung	1
1.1 Überblick	1
1.2 Photosynthese und Photosystem II	3
1.3 Röntgenabsorptionsmessungen an biologischen Proben	5
1.3.1 XAS-Spektroskopie	5
1.3.2 Theorie der Röntgenabsorption	6
1.3.3 Experiment	10
1.3.4 Datenanalyse	14
2 Die Struktur des Mangankomplexes im S₁-Zustand	17
2.1 Einleitung	17
2.2 Anzahl der 2.7 Å-Mangan-Mangan-Vektoren im S ₁ -Zustand	20
2.2.1 Einfluss der Normierung	20
2.2.2 Fourier-Isolierung	22
2.2.3 Einfluss benachbarter Schalen im EXAFS-Fit	25
2.2.4 Korrelation der Parameter N _{2.7} und $\sigma_{2.7}$	26
2.2.5 Einfluss der Länge des k-Bereichs	27
2.3 Struktur motive für den Mangankomplex	29
2.3.1 Vergleich mit Ergebnissen der Protein-Kristallographie	29
2.3.2 Mögliche strukturelle Motive	30
2.4 Zusammenfassung	33
3 Röntgenabsorptionskanten: Oxidationszustand und Ligandengeometrie	35
3.1 Einleitung	35
3.2 Empirische Bestimmung des Oxidationszustandes aus der Kantenposition	36
3.3 Simulation von Absorptionskanten	37
3.4 Kantenfits	44
3.5 Schlussfolgerungen	45
4 Strukturänderungen im Kok-Zyklus: Vergleichende XAS-Messungen bei Raumtemperatur	46
4.1 Einleitung	46
4.2 Material und Methoden	47
4.2.1 Probenpräparation und S-Zustandseinstellung	47
4.2.2 Probencharakterisierung durch EPR	48
4.2.3 Datenakquisition	50
4.2.4 Datenanalyse	51

4.3	Vergleich von Raumtemperaturspektren mit 20 K-Daten	52
4.3.1	Die Kantenspektren des Mangankomplexes in den vier S-Zuständen	52
4.3.2	EXAFS-Ergebnisse von beblitzten Proben	54
4.3.3	Simulationsergebnisse von PSII EXAFS-Spektren	56
4.3.4	Vergleich der Ergebnisse von XAS-Messungen bei Raum- und Tief- temperatur	59
4.4	Diskussion der Oxidationszustandsänderungen im Kok-Zyklus	59
4.5	Änderungen der Brückenstrukturen im Kok-Zyklus	60
4.6	Schlussfolgerungen für den Mechanismus der Wasseroxidation	63
5	Modellierung der S-Zustandsübergänge durch oxidationsinduzierte Brückenänderungen in binuklearen Mangankomplexen	65
5.1	Einleitung	65
5.2	Material und Methoden	67
5.2.1	Probenpräparation und Probencharakterisierung	67
5.2.2	Röntgenabsorptionsmessungen	67
5.3	Ergebnisse	68
5.3.1	Oxidationszustandseinstellung	68
5.3.2	Kantenspektren	69
5.3.3	EXAFS-Analyse	69
5.3.4	EXAFS und die radiale Rückstreuerfunktion	71
5.4	Elektronische und strukturelle Änderungen in Komplex 1 und 2	74
5.5	Analogie zum PSII-Mangankomplex	75
6	XANES-Simulationen für verschiedene Testsysteme	78
6.1	Vorbetrachtungen zur kristallographischen Strukturaufklärung - Valenz- lokalisation	78
6.2	Der $\text{Mn}^{\text{II}}[\text{H}_2\text{O}]_6$ -Komplex	80
6.3	Kaliumpermanganat	82
6.4	Lundkomplexe	83
6.4.1	Komplex 1: $\text{Mn}-\text{N}_3\text{O}_3$	83
6.4.2	Komplex 2: $\text{Mn}-\text{N}_2\text{O}_4$	86
6.5	Bivalenter di- μ_2 -oxo verbrückter Mn-Dimer	90
6.6	Bivalenter mono- μ_2 -oxo Komplex	92
6.7	Schlussfolgerungen	96
7	Änderungen von Struktur und Oxidationszuständen im Kok-Zyklus: XANES-Simulationen an Modellen des Mangankomplexes	98
7.1	Erstellung von hypothetischen Manganstrukturen als vereinfachte Modelle des PSII-Mangankomplexes	98
7.1.1	Bindungslängen-Valenz-Regeln	99
7.1.2	EXAFS-Anpassung eines $[\text{L}_x\text{Mn}-\mu_2\text{O}-\text{Mn L}_y]_2$ -Modells	101
7.1.3	XANES-Fit für ein S_1 -Modell	104
7.2	Übergänge im S-Zustandszyklus	108
8	XANES-Linear-Dichroismus für partiell orientierte Proben	119
8.1	Einleitung	119
8.2	Theorie der Röntgenabsorption in partiell vektoriell orientierten Proben .	122
8.3	Die Polarisationsabhängigkeit der Kantenspektren des Mangankomplexes .	128

8.4	Ermittlung eines geeigneten Dimer-Modells als Ausgangspunkt für die LD-XANES-Simulationen	130
8.5	Beschreibung der Orientierungs-Fit-Prozedur	133
8.6	Diskussion der Ergebnisse für verschiedene S_1 -Modelle	135
9	Zusammenfassung	146
	Publikationen	149
A	Anhang: Dokumentation der Programme	153
A.1	Primäre Datenanalyse	153
A.1.1	Summation	154
A.1.2	Kalibration und Selektion	154
A.1.3	XAS-Datenanalyse	155
A.2	XANES-Simulationen	157
A.2.1	Standardparameter für die FEFF-Simulationen	157
A.2.2	XAS-Kanten-Fit	158
A.3	Programme zur LD-XANES Analyse	160
B	Anhang: In XANES-Simulationen verwendete Strukturen	162
B.1	Oxyl-Radikal Hypothese	162
	Literaturverzeichnis	165
	Danksagung	183

Abkürzungsverzeichnis

AO	Atomorbital
ATP	Adenosintriphosphat
BESSY	Berliner Elektronenspeicherring-Gesellschaft für Synchrotronstrahlung
BBY	PSII-Präparation nach Babcock, Berthold und Yocum
BVS	Bond Valence Sum
Chl	Chlorophyll
Co ^{III}	Co ^{III} -Chloropentaminchlorid
CSD	Cambridge Structural Database
Cyt	Cytochrom
DESY	Deutsches Elektronen-Synchrotron
DFT	Dichtefunktionaltheorie
EPR	Electron Paramagnetic Resonance
ESI-MS	Elektrospray-Massenspektrometrie
ESRF	European Synchrotron Radiation Facility
EXAFS	Extended X-ray Absorption Fine Structure
FWHM	Full Width at Half Maximum
FMS	Full Multiple Scattering
LCAO	Linear Combination of Atomic Orbitals
LD	Linear Dichroism
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
MO	Molekülorbital
MS	Multiples Scattering
NADH	Nicotinamid Adenin Dinukleotid
PEP	Pre-edge Peak
Pheo	Pheophytin
PPBQ	Penta-Para-Benzo-Chinon
PSI	Photosystem I
PSII	Photosystem II
PPBQ	Phenyl-p-Benzochinon
P680	Primärer Donor im PSII
Q	Plastoquinon
RDF	Radial Distribution Function
RHF	Restricted Hartree Fock
SCF	Self Consistent Field
Tyr	Tyrosin
XANES	X-ray Absorption Near Edge Structure
XAS	X-ray Absorption Spectroscopy