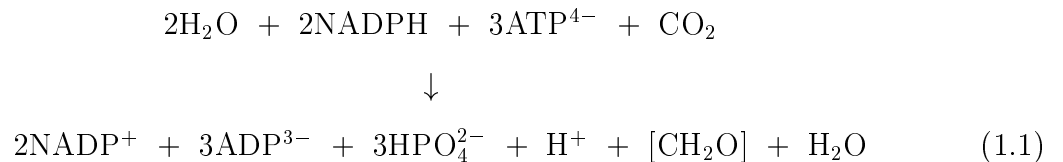


1 Einleitung

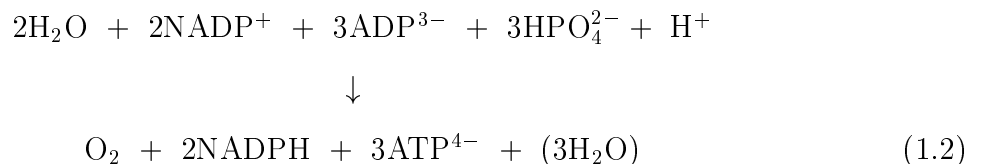
1.1 Die oxygene Photosynthese

Pflanzen, Algen und Cyanobakterien verfügen über die einzigartige Fähigkeit, Kohlendioxid (CO_2) und Wasser (H_2O) unter Nutzung von Lichtenergie zum Aufbau von Kohlehydraten zu nutzen. Dieser Prozeß heißt Photosynthese und bildet eine der wesentlichen Grundlagen für die Entwicklung des irdischen Lebens in den heute bekannten Formen. Die produzierten Kohlehydrate werden sowohl von den photosynthetischen Organismen, als auch von den nichtphotosynthetischen Organismen — über die direkte oder indirekte Aufnahme photosynthetischer Organismen — als Energiequelle genutzt. Der als Nebenprodukt dieses Prozesses entstehende Sauerstoff machte desweiteren die effektive Verwertung (Oxidation) von Nährstoffen durch die aerobe Respiration heterotropher Organismen erst möglich.

Die Abläufe der einzelnen photosynthetischen Reaktionen und der daran beteiligten Proteine variieren z.T. stark zwischen unterschiedlichen Organismen. Allen Arten der Photosynthese gemein ist jedoch das Vorhandensein zweier Hauptprozesse, der Dunkel- und der Lichtreaktion. Der Prozeß, bei dem Kohlendioxid zu Kohlehydraten umgesetzt wird, wird als *Dunkelreaktion* bezeichnet (Gleichung 1.1).



Da die Umsetzung von CO_2 und H_2O zu Kohlehydraten ein stark endergonischer Prozeß ist, reicht der Energiebeitrag des starken Reduktionsmittels NADPH allein nicht aus, um diese Reaktion voranzutreiben. Die noch fehlende Energie muß der Reaktion daher durch die Hydrolyse von ATP zugeführt werden. Der Aufbau dieser beiden wesentlichen Substanzen erfolgt mittels der *Lichtreaktion* (Gleichung 1.2).



Die Grundaussage von Gleichung 1.2 ist, daß unter Katalyse diverser Proteinkomplexe und unter Lichteinwirkung durch die Oxidation eines Substrates Energieequivalente in Form von ATP und NADPH erzeugt werden. In Gleichung 1.2 handelt es sich bei dem

Substrat um H_2O . In diesem Fall spricht man von der *oxygenen Photosynthese*, die von höheren Pflanzen, Algen und Cyanobakterien durchgeführt wird. Prinzipiell kann anstelle von H_2O auch ein anderer Elektronendonator umgesetzt werden. Handelt es sich bei diesem um H_2S oder ein kleines organisches Molekül, so spricht man von *anoxygener Photosynthese*, wobei H_2S oder andere Schwefelverbindungen von den grünen Schwefelbakterien umgesetzt werden und organische Moleküle wie z.B. Succinat oder Malat von den Purpurbakterien. Da das Photosystem I integraler Bestandteil der Lichtreaktion der oxygenen Photosynthese ist, soll auf diese im folgendem näher eingegangen werden.

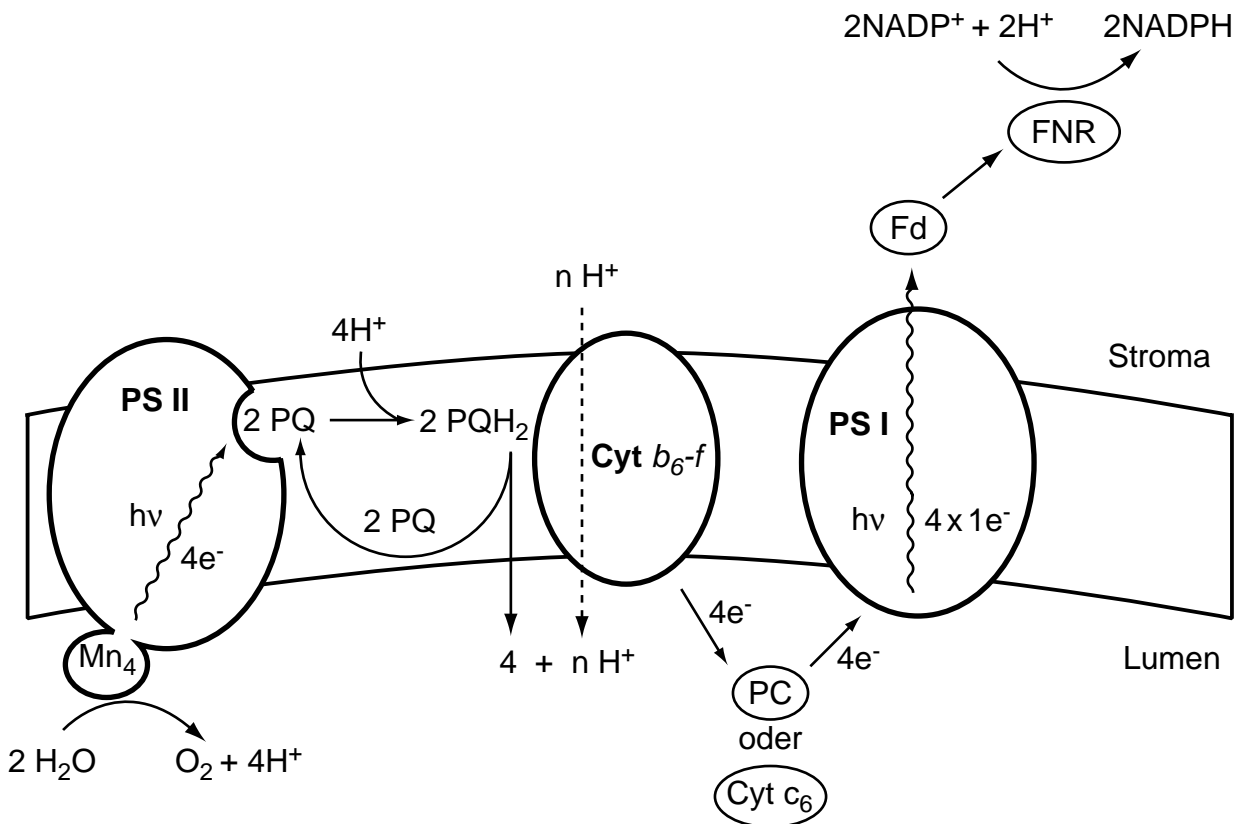


Abbildung 1.1: Schematischer Schnitt durch die Thylakoidmembran. Dargestellt sind alle an den Elektronentransferreaktionen beteiligten Proteinkomplexe. Die Abkürzungen bedeuten im einzelnen: PS II, Photosystem II; Mn_4 , der vom PS II gebundene Mangan-Cluster; PQ, Plastoquinon; PQH_2 , Plastohydrochinon; Cyt b_6-f , Cytochrom b_6-f -Komplex; PC, Plastocyanin; Cyt c_6 , Cytochrom c_6 ; PS I, Photosystem I; Fd, Fe_2S_2 -Ferredoxin; FNR, Ferredoxin- NADP^+ -Reduktase. Die Stöchiometrien der eingezeichneten Reaktionen beziehen sich auf ein Mol O_2 .

Der Ablauf der Lichtreaktion wird im wesentlichen von vier Multiproteinkomplexen bestimmt, die in die Thylakoidmembran von Cyanobakterien, Algen und höheren Pflanzen eingebettet sind. Die Thylakoidmembranen bilden ein ausgedehntes Membransystem aus,

das einen Innenraum (Lumen) von der umgebenden Zellflüssigkeit (Stroma) abteilt. In Pflanzen befindet sich dieses Membransystem innerhalb einer besonderen Organelle, den Chloroplasten. Auf die Unterschiede zwischen den Thylakoidmembranen der Cyanobakterien und Pflanzen soll an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden, es sei jedoch erwähnt, daß in Cyanobakterien, im Gegensatz zu Pflanzen, die Photosysteme gleichmäßig über die Thylakoidmembran verteilt vorliegen. Bei den o.g. vier Proteinkomplexen handelt es sich um die photosynthetisch aktiven Photosysteme I und II (PS I und PS II), den Cytochrom b_6-f -Komplex (Cyt b_6-f) und die ATP Synthetase. In Abb. 1.1 ist der Ablauf der Lichtreaktion als schematischer Schnitt durch die Thylakoidmembran dargestellt. Die beiden entscheidenden Schritte der Lichtreaktion sind die durch Licht induzierten Ladungstrennungen am PS II und PS I. Der vektorielle Elektronentransport über die Thylakoidmembran verläuft über die an die Proteinkomplexe gebundenen, redoxaktiven Kofaktoren.

Abbildung 1.2 zeigt in einem Energiediagramm der Lichtreaktion, wie der Elektronentransport über die Kofaktoren stattfindet. Zunächst wird der primäre Donor P680

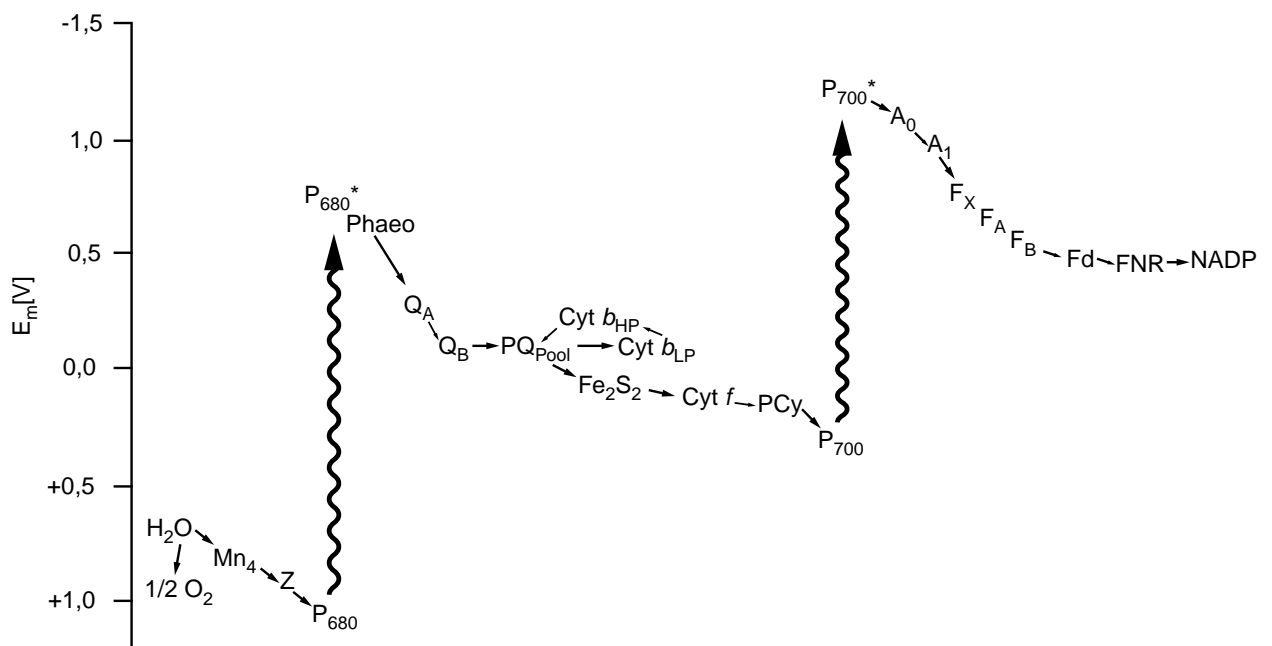
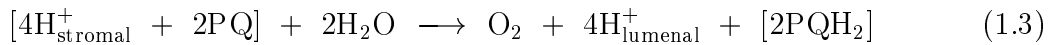


Abbildung 1.2: Energiediagramm der Lichtreaktion der Photosynthese. Dargestellt sind alle an den Elektronentransferreaktionen beteiligten Kofaktoren und ihre entsprechenden Redoxpotentiale (nach (Trebst, 1999)).

des Photosystem II durch Einfang eines Lichtquants auf den höherenergetischen Zustand P_{680}^* angeregt und führt eine Ladungstrennung durch. Das dadurch frei werdende Elek-

tron wird über diverse Elektronenakzeptoren (Chl*a*, Pheo*a* und ein Plastochinonmolekül Q_A) innerhalb des PS II auf den terminalen Akzeptor, das an der stromalen (periplasmatischen) Seite der Membran befindliche Plastochinonmolekül Q_B, übertragen. Das oxidierte P680 wird, über den wasseroxidierenden Komplex (WOC), durch die Oxidation von Wasser wieder reduziert. Diese Ladungstrennung wird zunächst zweimal durchlaufen, so daß das Plastochinon Q_B zum Plastohydrochinon reduziert wird. Das Plastohydrochinon diffundiert nun aus seiner stromalen Bindungstasche (Q_B-site) zum Cytochrom *b*₆-*f*-Komplex und wird durch ein Plastochinon aus dem Plastochinonpool ersetzt. Dieser Elektronentransferprozeß wird ein weiteres mal durchlaufen, so daß der WOC in insgesamt vier Schritten oxidiert wird und anschließend unter Freisetzung eines O₂ Moleküls in den Ausgangszustand zurückkehrt. Dieser Prozeß wird durch Gleichung 1.3 ausgedrückt.



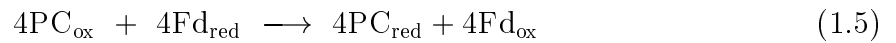
Die beiden Plastochinonmoleküle werden im weiteren Verlauf am Cytochrom *b*₆-*f*-Komplex umgesetzt. Dieser setzt sich in Prokaryonten aus einem Cytochrom *f*, zwei Cytochrom *b* Proteinen, einem 2Fe-2S-Protein (Rieske-Protein) und fünf weiteren Proteinuntereinheiten zusammen. Der Elektronen- und Protonentransfermechanismus innerhalb dieses Proteins ist noch weitgehend ungeklärt, scheint jedoch nach dem sog. modifizierten Q-Zyklus zu erfolgen, bei dem das Plastochinon als Elektronen-/Protonen-Transporter eine Rolle spielt. Die genaue Zahl der an der lumenalen Seite freigesetzten Protonen ist derzeit noch Gegenstand der Diskussion (für eine Übersicht s. Trebst, 1999). Zwei Protonen werden in jedem Fall bei der Reoxidation des Plastohydrochinons freigesetzt. Die Anzahl der zusätzlich über die Membran „gepumpten“ Protonen ist jedoch unsicher, weshalb sie in Abbildung 1.1 und Gleichung 1.4 als „n“ bezeichnet wird. Damit ergibt sich pro Mol O₂ folgende Bruttogleichung für die Reaktionen am Cytochrom *b*₆-*f*-Komplex:



PC_{ox} und PC_{red} bezeichnen dabei die oxidierte und reduzierte Form von Plastocyanin, welches als lösliches Elektronentransferprotein die Elektronen aus dem Cytochrom *b*₆-*f* Komplex aufnimmt und zum Photosystem I transportiert. In *Synechococcus elongatus* ist das Kupfer-Protein Plastocyanin durch das Eisenprotein Cytochrom *c*₆ ersetzt.

Am Photosystem I findet die zweite lichtinduzierte Ladungstrennung statt. Analog zum P680 im PS II wird hier der primäre Donor P700 durch ein Lichtquant angeregt. Nach dem Elektronentransfer vom angeregten P700 (P700*) über weitere an das Photosystem I

gebundene Kofaktoren auf das lösliche Protein Ferredoxin ist dessen Redoxpotential noch immer niedrig genug, um NADP^+ zu reduzieren (Gleichung 1.5).



Der entscheidende Unterschied zwischen PS I und PS II liegt in den Redoxpotentialen der an die Proteinkomplexe gebundenen Kofaktoren. Nach dem Elektronentransfer von P680* über die Kofaktoren der Elektronentransportkette ist das Redoxpotential am Elektronenakzeptor Q_A im PS II soweit abgesunken, daß es nur für die Reduktion eines Plastochinons ausreicht, während das Redoxpotential am PS I gering genug ist, um die $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ -Cluster zu reduzieren. Im Gegensatz dazu sind die Redoxpotentiale der an das PS I gebundenen Kofaktoren jedoch nicht positiv genug, um wie PS II an der Wasseroxidation beteiligt zu sein.

Das von PS I reduzierte Ferredoxin kann nun, katalysiert durch die Ferredoxin- NADP^+ -Reduktase (FNR), NADP^+ zu NADPH reduzieren, welches das Endprodukt der Lichtreaktion darstellt. Da für die Reduktion eines NADP^+ Moleküls zwei Elektronen benötigt werden, ergibt sich pro entwickeltem O_2 -Molekül Gleichung 1.6.



Neben diesem linearen Reaktionsweg, an dessen Endpunkt die NADPH -Synthese steht, existiert ein sog. zyklischer Elektronenfluß, bei dem kein NADPH entsteht. Durch einen unbekanntem Mechanismus werden die Elektronen zum Cytochrom b_6-f Komplex zurückgeführt. An diesem werden analog zu Gleichung 1.4 eine unbekannte Anzahl von Protonen (vermutlich $1\text{H}^+/\text{e}^-$) über die Membran transloziert. Wichtig an dieser Art des Elektronentransfers ist, daß er vollständig ohne PS II, also ohne Wasseroxidation ablaufen kann. Die Gemeinsamkeit zwischen dem zyklischen und dem linearen Elektronentransport besteht in der Translozierung von Protonen über die Thylakoidmembran. Dadurch entsteht eine Konzentrationsdifferenz von Protonen (ΔpH) über die Membran. Die elektrochemische Potentialdifferenz ($\Delta\text{pH} + \Delta\Psi$) kann von der ATP-Synthetase genutzt werden, um ADP und HPO_4^{2-} in ATP umzuwandeln. Die Produkte des linearen Elektronentransfers sind also NADPH und ATP , während beim zyklischen Transfer nur ATP erzeugt wird.

1.2 Der prinzipielle Aufbau des Photosystems I

Da Wissenschaftler schon seit geraumer Zeit daran interessiert sind, die Prozesse der Photosynthese und das Zusammenspiel der daran beteiligten Proteinkomplexe aufzuklären,

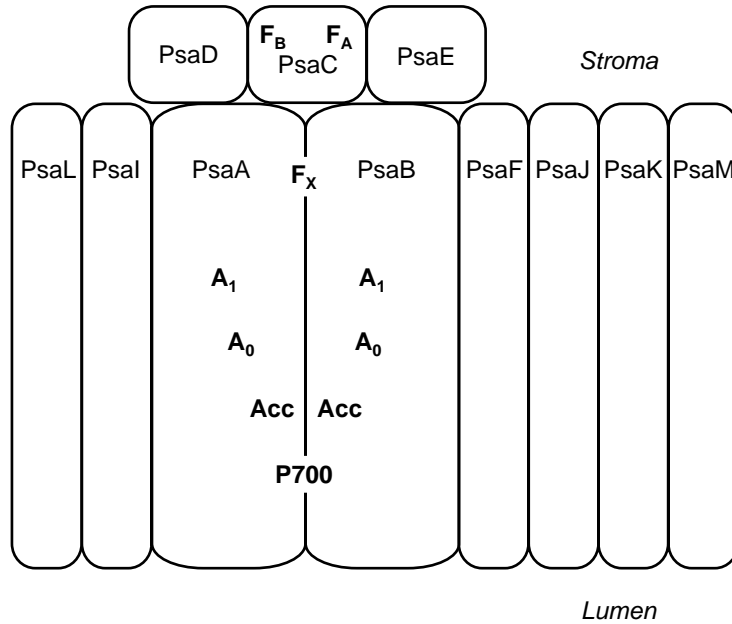


Abbildung 1.3: Schematisches Bild der Untereinheitenanordnung des PS I Komplexes. Fett gedruckt sind die Kofaktoren des Elektronentransfersystems.

liegen eine Vielzahl spektroskopischer und biochemischer Daten vor, die das PS I betreffen. Anhand dieser Daten werden hier kurz die wesentlichen strukturellen Merkmale des PS I aufgezeigt. Soweit nicht anders erwähnt, beziehen sich alle nachfolgenden Literaturangaben auf Untersuchungen an *Synechococcus elongatus* (*Syn. el.*) oder anderen Cyanobakterien.

Funktionell läßt sich der PS I-Komplex als lichtgetriebene Cytochrom *c*₆-Ferredoxin-Oxidoreductase bezeichnen. In den Thylakoidmembranen der Cyanobakterien liegt der Komplex als Trimer vor (Hladik & Sofrova, 1991), in höheren Pflanzen wahrscheinlich als Monomer. In allen Organismen enthält der monomere Komplex jedoch ein Reaktionszentrum und entspricht so der photosynthetisch aktiven Einheit (Roegner *et al.*, 1990). Wie in anderen Membranproteinen, bilden transmembran verlaufende Helices das wesentliche Sekundärstrukturelement.

Das PS I aus *Syn. el.* setzt sich aus mindestens elf Untereinheiten zusammen. Für Übersichtsartikel siehe (Golbeck, 1994; Chitnis *et al.*, 1995; Chitnis, 1996). Die Untereinheiten werden, entsprechend der sie kodierenden Gene als PsaA, PsaB, PsaC, PsaD, PsaE, PsaF, PsaI, PsaJ, PsaK, PsaL und PsaM bezeichnet (Mühlenhoff *et al.*, 1993). In höheren Pflanzen finden sich zusätzlich noch die Untereinheiten PsaG, PsaH und PsaN, jedoch ist in Pflanzen die Untereinheit PsaM nicht nachweisbar. Ferner finden sich auch proteinbiochemische Hinweise auf eine mindestens 3,5 kDA große Untereinheit PsaX in

cyanobakteriellen Organismen (Koike *et al.*, 1989; Ikeuchi *et al.*, 1991; Ikeuchi *et al.*, 1992). Ein Schema der Untereinheiten Anordnung ist in Abbildung 1.3 gezeigt.

Auf der Basis verschiedenster biochemischer (Golbeck, 1994; Chitnis, 1996) und kristallographischer (Krauß *et al.*, 1993; Krauß *et al.*, 1996; Schubert *et al.*, 1997; Klukas *et al.*, 1999a) Ergebnisse ergibt sich bisher folgendes Bild der Zusammensetzung des Proteinkomplexes.

Das Zentrum des Komplexes bilden die beiden Untereinheiten PsaA und PsaB. Sie bestehen aus 755 bzw. 740 Aminosäuren. Die herausragenden Sekundärstrukturelemente dieser beiden Untereinheiten sind die elf transmembranen Helices. Alle anderen kleineren Untereinheiten sind mit jeweils einer dieser beiden Untereinheiten verbunden.

Die drei Untereinheiten PsaC, PsaD und PsaE werden auf der stromalen Seite an PsaA und PsaB gebunden; sie bilden wahrscheinlich die Bindungstasche für den exogenen Elektronenakzeptor Ferredoxin bzw. Flavodoxin.

Über die Funktionen der übrigen membranständigen Untereinheiten ist z.T. nur sehr wenig bekannt. Es scheint jedoch klar, daß die Untereinheiten PsaL und PsaI für die Bildung und Stabilisierung der Trimere verantwortlich sind (Chitnis & Chitnis, 1993; Xu *et al.*, 1995). Auf der lumenalen Seite wird der lösliche Elektronendonator Plastocyanin in Algen und höheren Pflanzen von der Untereinheit PsaF gebunden. Allerdings besitzt diese Untereinheit in diesen Organismen einen gegenüber Cyanobakterien verlängerten N-Terminus, der für die Bindung des exogenen Elektronentransporters verantwortlich zu sein scheint (Hippler *et al.*, 1997). Die Untereinheit PsaJ befindet sich in räumlicher Nachbarschaft zu PsaF. Über PsaM und PsaK ist bekannt, daß sie vermutlich membranständig sind und sich an der Peripherie des Komplexes befinden (Golbeck, 1994).

Die beiden großen Untereinheiten PsaA und PsaB binden die Mehrzahl der für die transmembrane Ladungstrennung nötigen Kofaktoren des Elektronen-Transfer-Systems (ETS). Es sind dies die Kofaktoren von P700 bis F_X . In Brettel (1997) und Setif (1992) finden sich Übersichten über die Kinetiken innerhalb des ETS und die spektroskopischen Eigenschaften der Kofaktoren.

Wie in Abbildung 1.3 dargestellt, sind die Kofaktoren von P700 bis A_1 in zwei symmetrischen Ästen angeordnet (Klukas *et al.*, 1999b). Ob in PS I beide Äste in der Lage sind, die Ladungstrennung durchzuführen oder, wie in purpurbakteriellen Reaktionszentren (PbRZ), nur ein aktiver Ast vorliegt, ist Gegenstand der Diskussion.

Die Ladungstrennung wird durch Anregung des primären Donors P700 initiiert. Der primäre Donor in PS I wird von einem Chlorophyll-Dimer gebildet, das sich auf der lu-

menalen Seite des Komplexes befindet. Von dort aus wird das Elektron auf den primären Elektronenakzeptor (A_0) übertragen, der von einem Chl a -Molekül gebildet wird. Zwischen dem primären Akzeptor und dem P700 befindet sich ein weiteres Chl a -Molekül. In Analogie zum PbRZ wird es als akzessorisches Chlorophyll bezeichnet (Krauß *et al.*, 1993). Ob dieses Chlorophyll-Molekül jedoch aktiv am Elektronentransfer teilnimmt, ist derzeit noch nicht geklärt. Das Elektron wird vom primären Akzeptor zum sekundären Akzeptor A_1 weitergeleitet. Dabei handelt es sich um ein Phyllochinon-Molekül. Der nächste Elektronenakzeptor in der Reihe ist der $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ -Cluster F_X . Von diesem gelangen die Elektronen über die beiden $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ -Cluster F_A und F_B zur stromalen Seite. F_A und F_B werden im Gegensatz zu den übrigen Kofaktoren des ETS von der Untereinheit PsaC gebunden, die in naher Verwandtschaft zu bakteriellen $2[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ -Ferredoxinen steht.

Die in der Einleitung gewählten Bezeichnungen für die Kofaktoren des ETS stammen aus spektroskopischen Untersuchungen. Bei der Analyse des Strukturmodells entsteht somit die Schwierigkeit, die spektroskopisch nachgewiesenen Kofaktoren einem strukturellen Element zuzuweisen. Auf diesen Punkt wird an den entsprechenden Stellen im Ergebnisteil näher eingegangen.

Eine Besonderheit des PS I stellt die relativ große Zahl von gebundenen Kofaktoren dar. Neben den Molekülen des ETS befinden sich noch weitere vom Protein koordinierte Kofaktoren im Komplex. So wurden insgesamt ca. 100 Chlorophylle und 20-25 Karotine nachgewiesen. Die nicht dem ETS zugerechneten Chlorophylle bilden zusammen mit den Karotinoiden das sog. Antennensystem aus, das verantwortlich für den Einfang von Lichtquanten und deren excitonische Weiterleitung an das P700 ist.

1.3 Evolutionäre und funktionelle Zusammenhänge zwischen den Reaktionszentren verschiedener Organismen

Um die besondere Bedeutung des PS I aus Cyanobakterien in Relation zu den Reaktionszentren (RZ) anderer Organismen aufzuzeigen, werden im folgendem kurz die Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Lichtreaktionen von verschiedenen Organismen, sowie deren evolutionäre Beziehungen dargestellt. Folgende phototrophe (der Stoffwechsel beruht auf photosynthetisch gewonnener Energie) Organismen sollen dabei näher betrachtet werden: Purpurbakterien (*Rhodobacter sphaeroides* und *Rhodospseudomonas viridis*), grüne filamentöse Bakterien (*Chloroflexus aurantiacus*), Heliobakterien (*Heliobacillus mobilis*), grüne Schwefelbakterien (*Chlorobium limicola*), Cyanobakterien (*Syn. el.*) und Eucariae

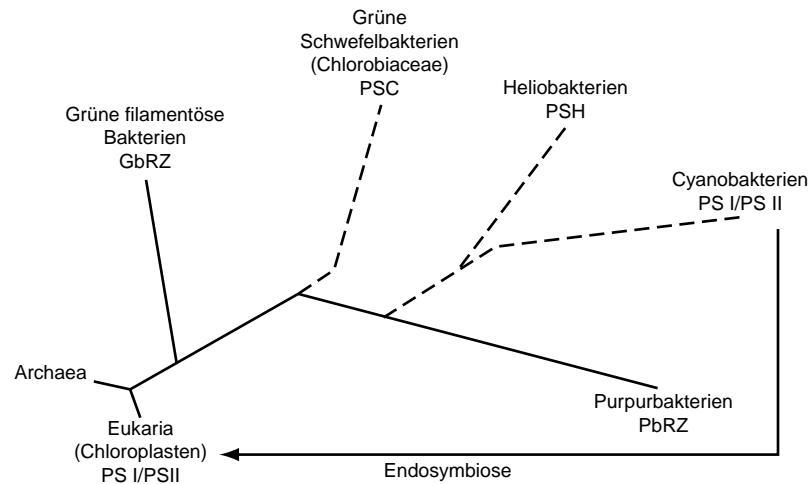


Abbildung 1.4: Die evolutionären Beziehungen zwischen den verschiedenen photosynthetischen Organismen nach (Nitschke & Rutherford, 1991). Gestrichelte Linien geben Organismen an, die RZ der Klasse I besitzen, durchgezogene Linien RZ der Klasse II. Es ist zu beachten, daß Cyanobakterien und Eucaria oxygene photosynthetische Organismen sind und somit RZ beider Klassen enthalten. Unter den Organismen ist jeweils das Kürzel für das Reaktionszentrum des Organismus eingetragen.

(*Spinacia oleracea*, *Chlamydomonas reinhardtii*). In Klammern sind jeweils ein oder zwei Vertreter der Spezies angegeben.

In Abbildung 1.4 sind die verwandtschaftlichen Beziehungen dieser Organismen untereinander dargestellt. Sie wurden anhand des Vergleiches von 16S rRNA-Sequenzen abgeleitet (Woese *et al.*, 1990).

Wie in Abschnitt 1.1 erwähnt, sind Cyanobakterien, eukaryotische Algen und höhere Pflanzen in der Lage oxygene Photosynthese zu betreiben. Alle anderen o. g. Organismen können dies nicht und müssen andere Substrate als H_2O oxidieren. Die Cyanobakterien als einzige bakterielle Vertreter der oxygenen Photosynthese stehen gemäß der endosymbiontischen Theorie mit den Eucariae in Verbindung. Demnach entspringt die oxygene Photosynthese in Pflanzen und Algen dem Einschluß eines Vorläufers der Cyanobakterien o. ä. Dieser Vorläufer entwickelte sich im Laufe der Evolution zu den Chloroplasten weiter, die eine hochspezialisierte photosynthetische Organelle in eukaryontischen Zellen bilden.

Neben der Einteilung in oxygene und anoxygene photosynthetische Organismen ist auch eine Einteilung der RZ nach den terminalen Elektronenakzeptoren möglich. Besitzen die RZ als terminale Akzeptoren $[Fe_4S_4]$ -Cluster, so werden sie den RZ der Klasse I zugerechnet. Besitzen sie als terminalen Akzeptor hingegen ein Chinon-Molekül, so gehören sie zu den Zentren der Klasse II. Somit gehören PS I, PSC und PSH zu den RZ der Klasse I, während PS II, PbRZ und GbRZ zu denen der Klasse II gehören. Aufgrund des

nicht vorhandenen $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ -Clusters (mit extrem negativem Redoxpotential) sind die RZ der Klasse II im Gegensatz zu denen der Klasse I nicht in der Lage, NADP^+ über die FNR zu reduzieren.

Der Ablauf der Lichtreaktion in PbRZ und GbRZ ähnelt im wesentlichen dem zyklischen Elektronenfluß innerhalb der oxygenen Photosynthese. D. h. durch die lichtgetriebene Ladungstrennung am Reaktionszentrum wird die Energie für den transmembranen Protonentransport am Cytochrom bc_1 Komplex bereitgestellt. Die so erzeugte protonmotorische Kraft wird zur Erzeugung von ATP genutzt, welches dann z. T. wieder verbraucht wird, um NADH zu produzieren. Im Gegensatz dazu können PSC und PSH wie PS I in einem linearen Schritt NADPH erzeugen.

Neben diesen physikochemischen Zusammenhängen ergeben sich auch strukturelle Relationen zwischen den verschiedenen RZ. Wie u. a. von Nitschke und Rutherford (Nitschke & Rutherford, 1991) postuliert, könnte es eine evolutionäre Beziehung der phototrophen Organismen untereinander geben, die auf einen gemeinsamen Vorläufer zurückzuführen sind. Diese Theorie wurde in Schubert *et al.* (1998) anhand des 4 Å-Modells von PS I näher beleuchtet. Geht man demnach von einer Zweiteilung der beiden großen Untereinheiten des PS I Komplexes in eine Reaktionszentrums- und eine Antennen-Domäne aus, so stellt man fest, daß RZ des Eisen-Schwefel-Typs immer beide Domänen besitzen. Für die RZ vom Chinon-Typ sind hingegen zwei unterschiedliche Fälle möglich. So ist in PbRZ nur die Reaktionszentrums- und keine Antennen-Domäne vorhanden. Hingegen scheinen in PS II die beiden inneren Untereinheiten D1 und D2 der Reaktionszentrumsdomäne zu entsprechen, während die Antennendomäne wahrscheinlich durch die Untereinheiten CP43 und CP47 gebildet wird.

1.4 Ausgangspunkt und Ziel dieser Arbeit

Aus den in den vorhergehenden Abschnitten beschriebenen Zusammenhängen folgt, daß es sich beim PS I aus *Syn. el.* um den am besten charakterisierten Vertreter der Typ I RZ handelt. Da zum Beginn der vorliegenden Arbeit noch keine Röntgenstruktur eines Typ I RZ bei hoher Auflösung vorlag, war die Erstellung eines detaillierten Strukturmodells somit von großem allgemeinen Interesse.

Bereits seit Ende der achtziger Jahre wurde im Rahmen einer Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen Fromme/Witt (Institut f. Biophysikalische & Biochemie der TU-Berlin) und Saenger (Institut f. Kristallographie) an der Erstellung eines Strukturmodells gearbeitet. 1993 wurde ein grobes Strukturmodell bei 6,0 Å Auflösung veröffentlicht (Krauß

et al., 1993). Im Laufe der Jahre konnte die Auflösung der Proteinkristalle weiter gesteigert werden, was zu detaillierteren Strukturmodellen führte. Zum Beginn dieser Arbeit 1996 lag ein erstes Strukturmodell bei einer Auflösung von 4,0 Å vor (Krauß *et al.*, 1996; Schubert *et al.*, 1997), welches nach weiteren Optimierungen 1999 zum abschließenden Modell bei 4,0 Å erweitert werden konnte (Klukas *et al.*, 1999b; Klukas *et al.*, 1999a).

Trotz vieler neuer Erkenntnisse auf Basis dieser Strukturmodelle hatten diese den Nachteil, daß keine Aminosäuren modelliert werden konnten und somit keinerlei strukturelle Informationen über die Wechselwirkungen zwischen Kofaktoren und Aminosäuren vorlagen. Deshalb sollte auf Basis der vorhandenen Erfahrungen in beiden Arbeitsgruppen im Rahmen dieser Arbeit versucht werden, die Qualität der Kristalle zu steigern und ein Strukturmodell bei höherer Auflösung zu erstellen.

In Zusammenarbeit mit Dr. P. Fromme sollte das Protein aufgereinigt und charakterisiert sowie die Kristallisation optimiert werden, um bei tiefen Temperaturen Röntgendaten an isomorphen Kristallen messen zu können. Auf Basis dieser Daten sollte dann in der AG Saenger in Zusammenarbeit mit Dr. N. Krauß ein vollständiges Strukturmodell des PS I erstellt werden.

Die detaillierten Informationen des atomaren Strukturmodells sollten dann vor dem Hintergrund einer Vielzahl von biochemischen und spektroskopischen Ergebnissen diskutiert werden und so Einblicke in die Funktion des PS I und der Typ I RZ liefern.

Von großem Interesse waren dabei insbesondere die bereits in der Einleitung ange deutete Problematik des Ablaufs des Elektronentransfers über die Kofaktoren des ETS. Da zu diesem Themenkomplex bereits eine große Zahl von z.T. auch widersprüchlichen Ergebnissen vorlag, sollte durch Analyse des Strukturmodells versucht werden, die Ergebnisse in einen Gesamtzusammenhang zu ordnen. Zusätzlich sollten die so gewonnen Erkenntnisse die Basis für zukünftige Mutageneseexperimente zu schaffen.

Ein weiterer wichtiger Aspekt eines Strukturmodells betrifft das Antennensystem des PS I. Aufgrund der Anordnung und Umgebung der Kofaktoren des Antennensystems können Rückschlüsse auf deren spektroskopische Eigenschaften gezogen werden, was die Möglichkeit eröffnet, die Modelle zum Energietransfer innerhalb des Antennensystems des PS I zu überprüfen und zu erweitern.

