

6 Die beiden Untereinheiten PsaA und PsaB

Der Kern des PS I-Komplexes wird von den Untereinheiten PsaA und PsaB gebildet. Mit einem Molekulargewicht von 81684 Da bzw. 81384 Da sind sie die beiden größten Untereinheiten des Komplexes. Zum ersten Mal konnten diese Untereinheiten 1985 anhand

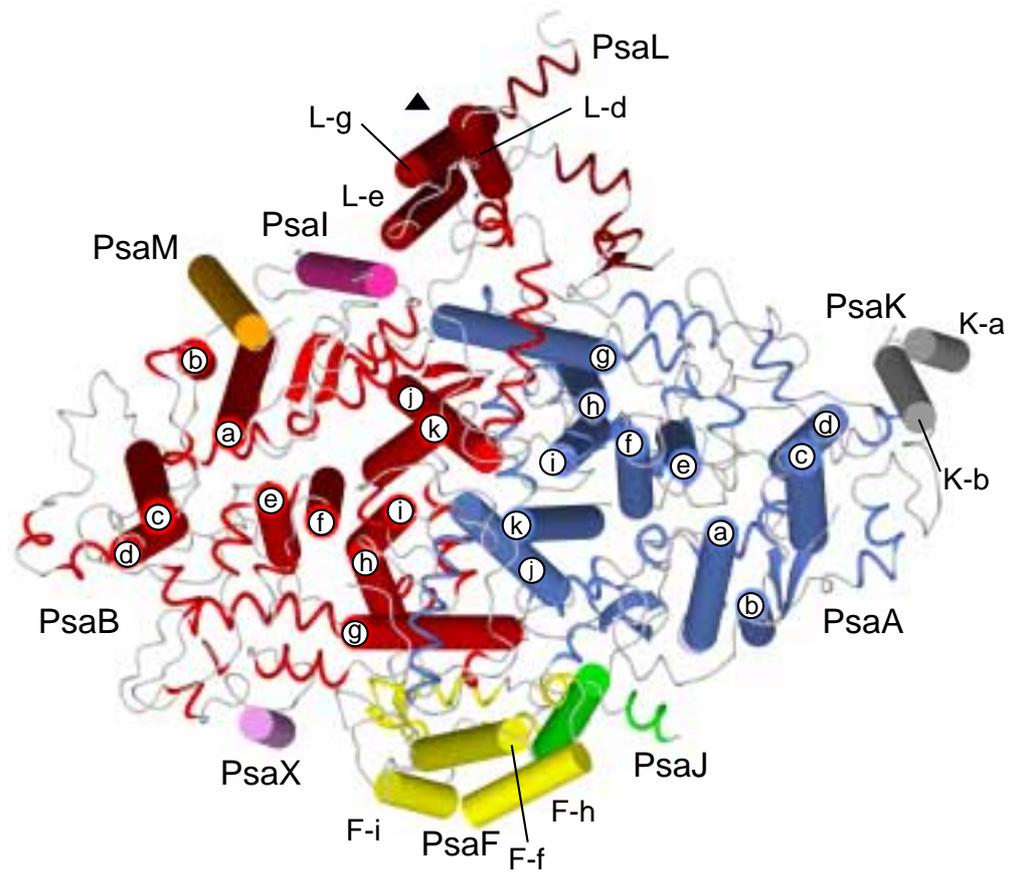
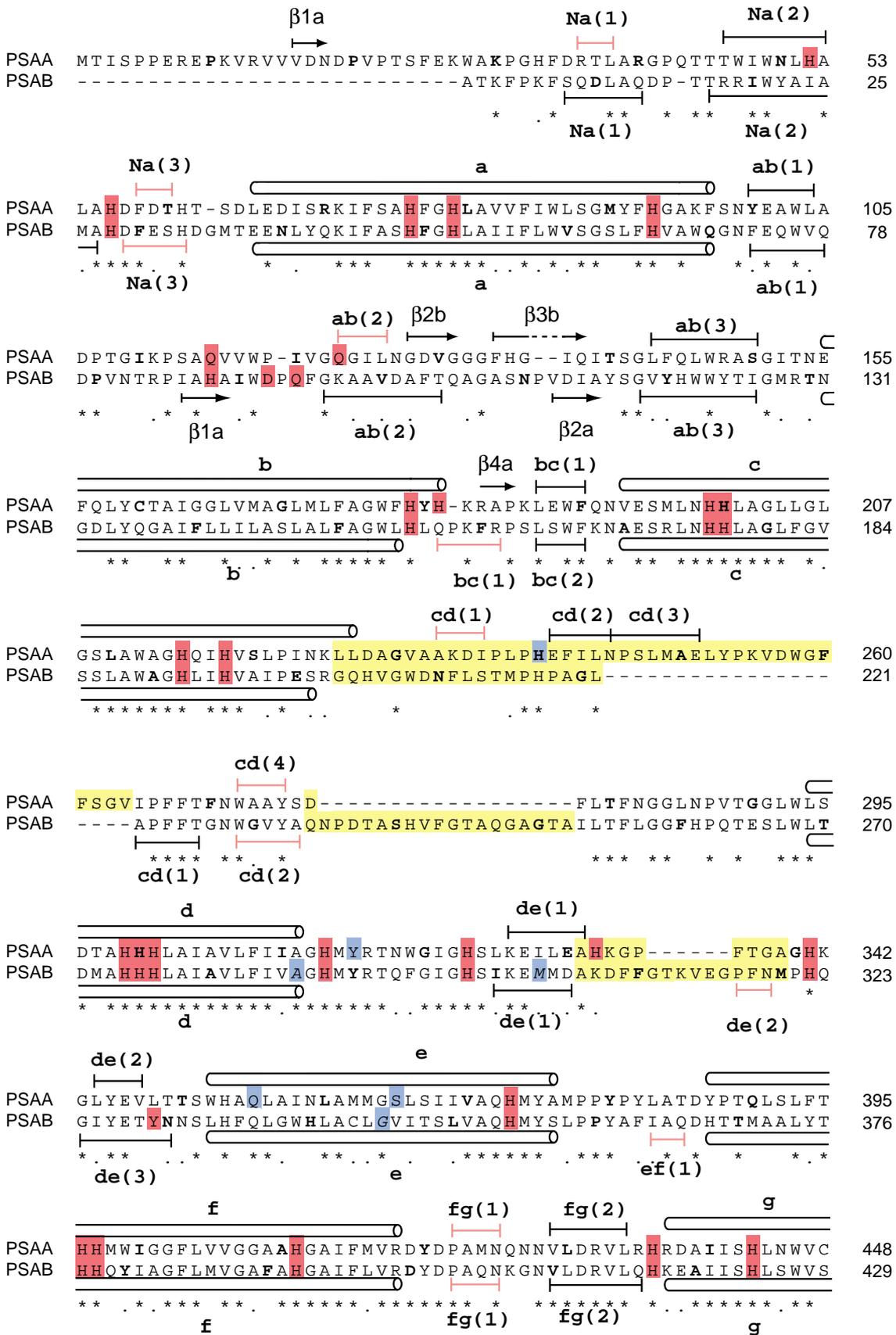


Abbildung 6.3: Blick entlang der Membrannormalen auf ein PS I-Monomer. Die dreizählige kristallographische Symmetrieachse wird durch ein schwarzes Dreieck symbolisiert. Farbliche Codierung der Untereinheiten wie in Abbildung 5.1. Die Helices sind mit ihren jeweiligen Namen beschriftet, wobei die Helices von PsaA/PsaB ohne den vorangestellten Namen der Untereinheit eingetragen sind.

des Genoms von Chloroplasten aus Mais identifiziert und sequenziert werden (Fish *et al.*, 1985). Bis dato sind noch viele weitere Sequenzen anderer Organismen bestimmt worden, u. a. die von *Spinacia oleracea* (Kirsch *et al.*, 1986), *Chlamydomonas reinhardtii* (Kueck *et al.*, 1987), *Synechococcus sp.* PCC7002 (Cantrell & Bryant, 1987), *Synechocystis sp.* PCC6803 (Smart & McIntosh, 1991), *Synechococcus el.* (Mühlenhoff *et al.*, 1993), *Chlorella vulgaris* (Wakasugi *et al.*, 1997). Die beiden Untereinheiten zeichnen sich durch eine hohe Ähnlichkeit sowohl untereinander als auch zwischen den verschiedenen Organismen aus. So sind PsaA bzw. PsaB aus Spinat und *Syn. el.* zu 91 % respektive 90 % ähnlich



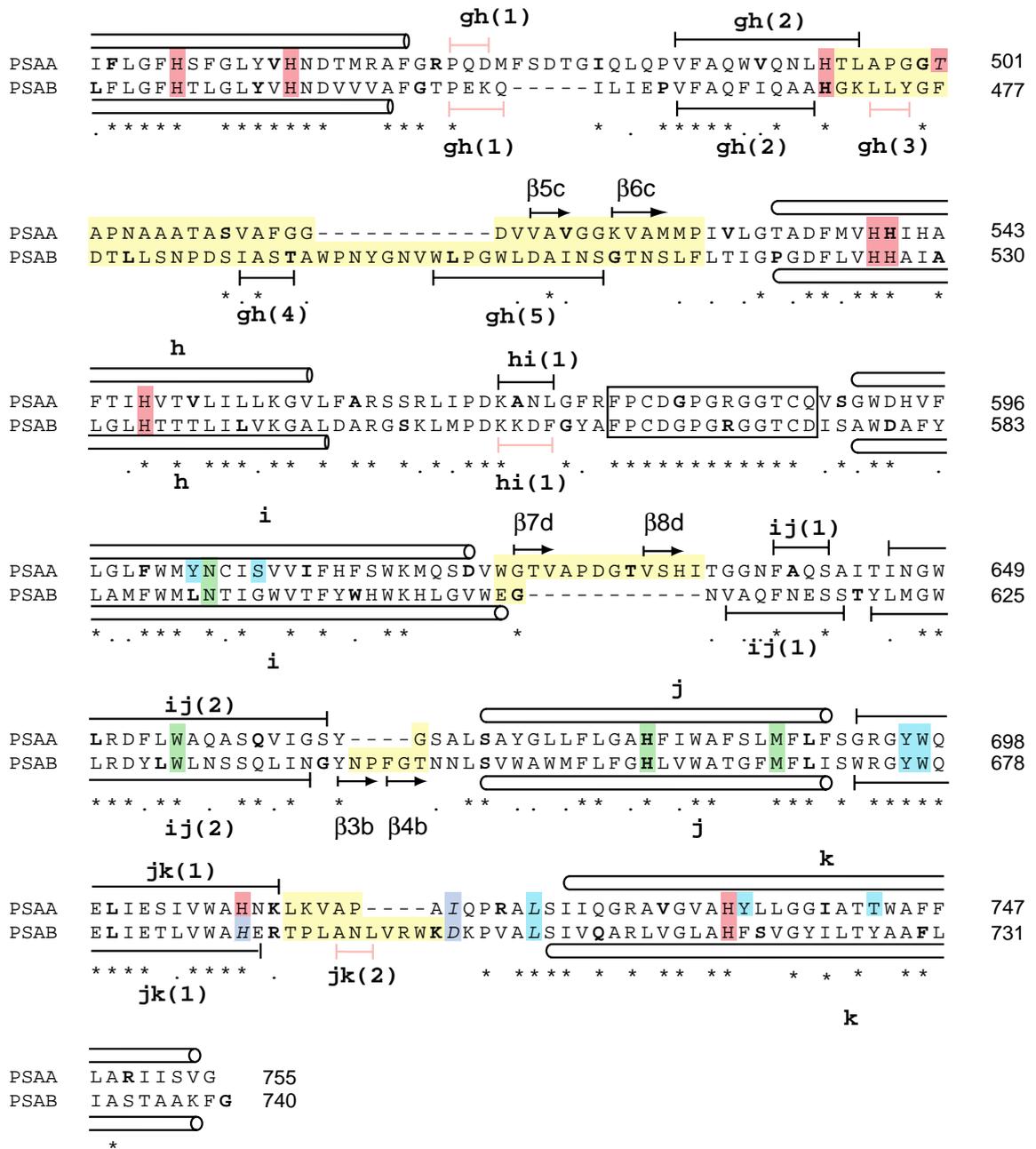


Abbildung 6.4: Diese und vorhergehende Seite. Überlagerung der Aminosäuresequenzen von PsaA und PsaB aus *Syn. el.*. Jede zehnte Aminosäure ist fett gedruckt. Für eine Erklärung der verwendeten Symbole s. Abschnitt 5.1. Zusätzlich sind Aminosäuren, die essentiell für die Ligandierung der ETS-Kofaktoren sind grün hinterlegt. Aminosäuren, die Wasserstoffbrückenbindungen zu den ETS-Kofaktoren ausbilden, sind hellblau unterlegt. Ferner sind Bereiche, die sich bei einer Überlagerung von PsaA und PsaB stark unterscheiden, gelb markiert.

(identisch und konservativ ausgetauscht). Die Ähnlichkeit zwischen PsaA und PsaB in *Syn. el.* beträgt ca. 57%, die Identität 42%. Der hohe Grad an Konservierung einzelner Sequenzbereiche zwischen den verschiedenen Organismen deutet auf die große Bedeutung

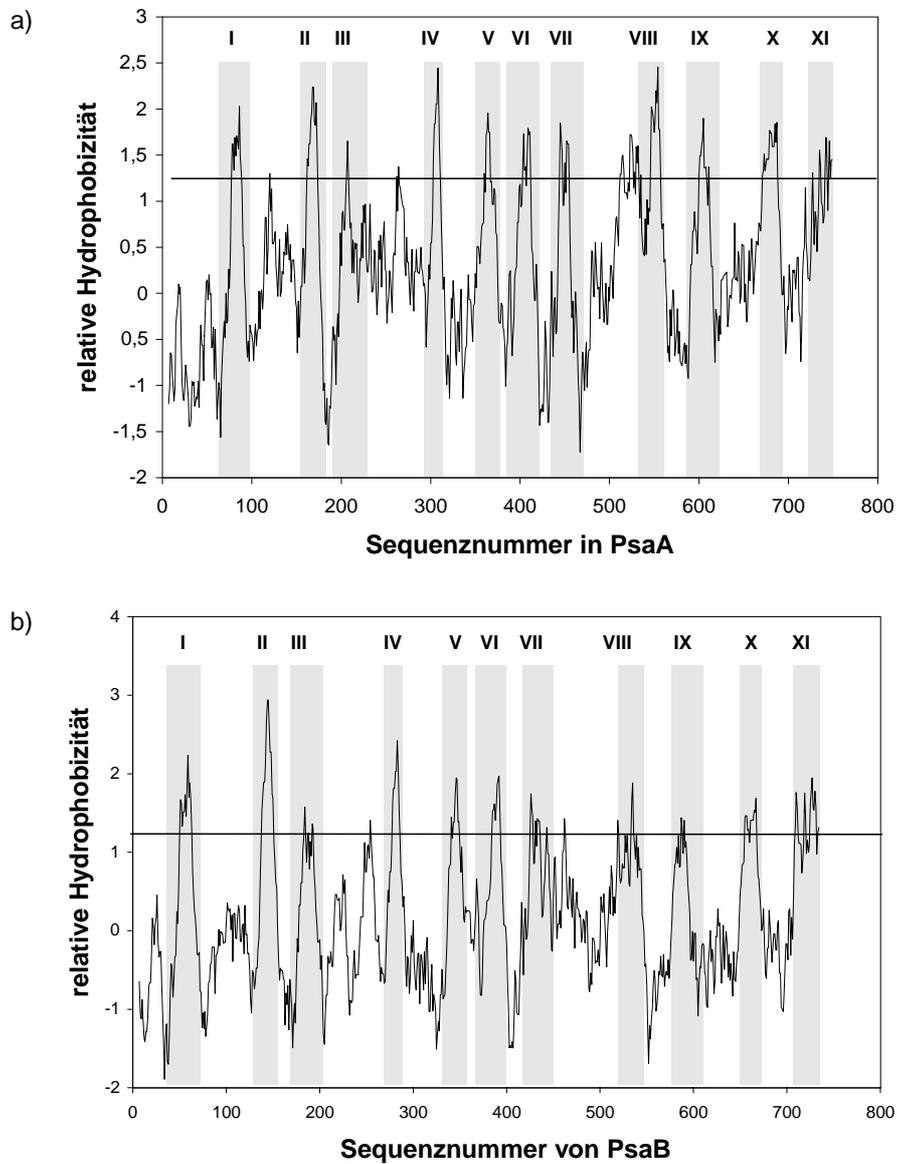


Abbildung 6.5: Hydrophobizitätsanalyse von PsaA (a) und PsaB (b) aus *Syn. el.*. Durchgeführt nach der Methode von Kyte und Doolittle (Kyte & Doolittle, 1982) mit einem Fenster von 13 Aminosäuren. Die hydrophoben Bereiche sind entsprechend (Fish *et al.*, 1985) mit den römischen Zahlen I-XI bezeichnet. Die Bereiche, in denen sich im Strukturmodell eine transmembrane α -Helix findet, sind grau hinterlegt.

dieser Bereiche hin. So ist einer der am strengsten konservierten Bereiche das Bindungsmotiv für den $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ -Cluster F_X . Zusätzlich sind auch andere Bereiche, vorzugsweise innerhalb transmembraner Helices stark konserviert. Abbildung 6.4 zeigt eine Überlagerung der Aminosäuresequenzen von PsaA und PsaB aus *Syn. el.* Die Überlagerung beruht auf der Analyse der Ähnlichkeit beider Sequenzen und wurde unter Berücksichtigung der Überlagerung der C_α -Positionen beider Untereinheiten (Abbildung 6.8) modifiziert. Aufgrund der oben dargelegten großen Ähnlichkeit werden die beiden Untereinheiten in einem gemeinsamen Kapitel beschrieben.

Führt man eine Hydrophobizitätsanalyse mit beiden Untereinheiten durch (s. Abbildung 6.5a und 6.5b), so findet man je elf ausgeprägte hydrophobe Sequenzabschnitte. Aufgrund der hohen Hydrophobizität wurde angenommen, daß diese Bereiche transmembranen Helices entsprechen (Fish *et al.*, 1985). Erste konkrete Aussagen über die Verknüpfung der Helices konnten durch Immunogold-Markierungen 1993 gemacht werden (Vallon & Bogorad, 1993). Erst 1996 wurde jedoch gezeigt, daß diese elf hydrophoben Bereiche tatsächlich elf transmembrane Helices in PsaA und PsaB entsprechen. (Krauß *et al.*, 1996). Allerdings konnte zum damaligen Zeitpunkt noch keine eindeutige Aussage über die Verbindung zwischen den ersten vier transmembranen Helices gemacht werden. 1999 beschrieben (Klukas *et al.*, 1999a) erstmals ein Verknüpfungsmuster für diese Helices.

6.1 Die Sekundärstrukturelemente

Der weitaus größte Teil der Aminosäuresequenzen von PsaA und PsaB konnte in die Elektronendichteverteilung modelliert werden. Von PsaA wurden die ersten zwölf Aminosäuren nicht modelliert, da an der entsprechenden Stelle keine Elektronendichte vorhanden war, was vermutlich auf thermische oder statische Fehlordnung zurückzuführen ist. Die Elektronendichte im Bereich von Aminosäure A263 bis A265 war nicht gut genug definiert, um ein Modell zu erstellen. Die herausragenden Sekundärstrukturelemente von PsaA und PsaB sind die jeweils elf transmembranen α -Helices (s. Abbildung 5.1). Man kann sie grob in zwei Gruppen einteilen: eine C-terminale Reaktionszentrumsdomäne und eine vornehmlich die Antennenchlorophylle bindende N-terminale Domäne.

Die transmembranen Helices werden über ausgeprägte Schlaufenregionen miteinander verbunden, in denen sich auch Helices und kurze β -Faltblätter finden. Am ausgeprägtesten sind die Schlaufen auf der lumenalen Seite des Komplexes. Die Topographien der beiden Untereinheiten sind in Abbildung 6.6 und Abbildung 6.7 dargestellt.

Die transmembranen Helices A/B-g bis A/B-k (sowie die sie verbindenden Schlaufen

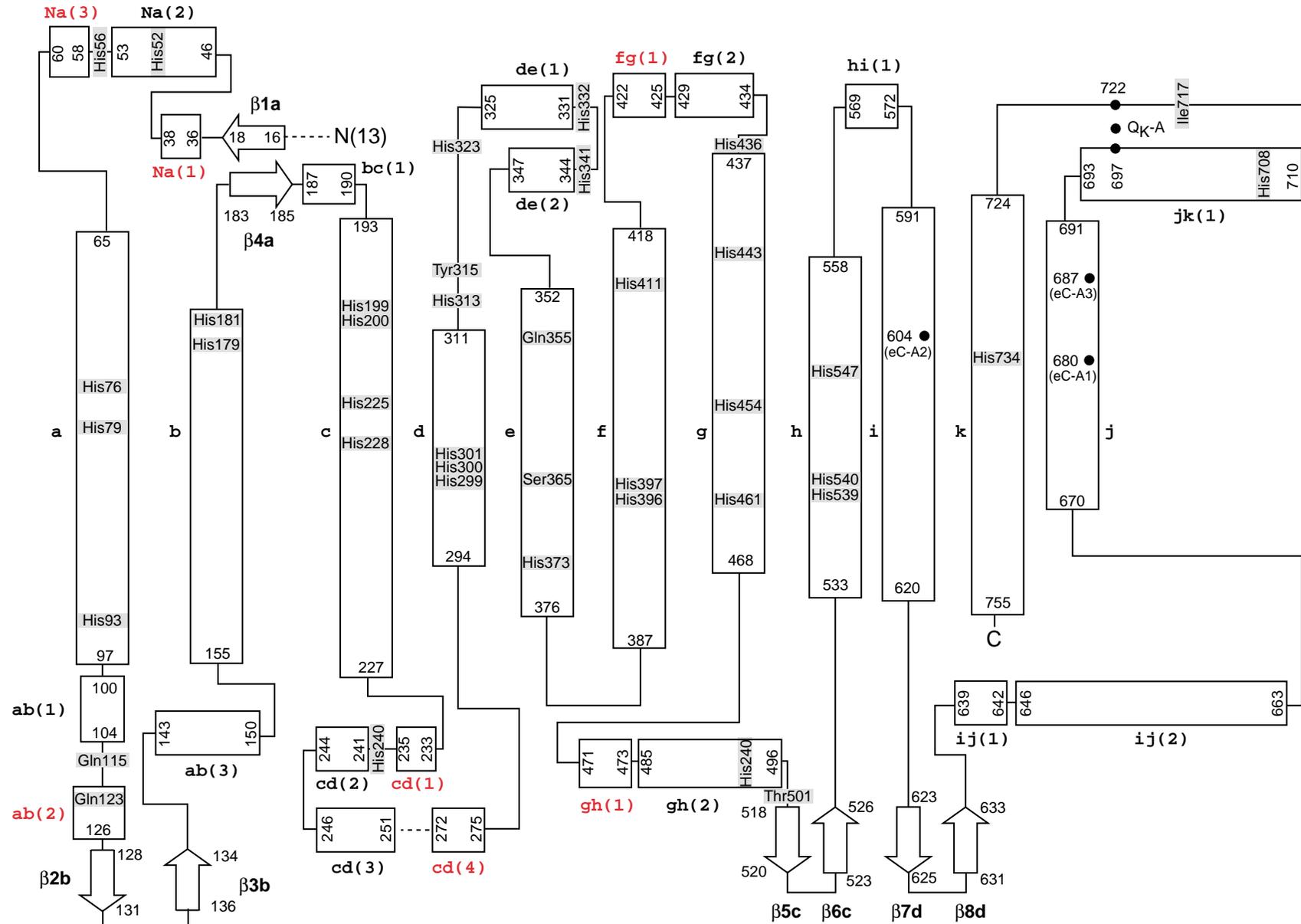


Abbildung 6.6: Topographiedigramm der Untereinheit PsaA. Helices werden durch Rechtecke, β -Stränge durch Pfeile repräsentiert. Die senkrechten Rechtecke stehen für die elf transmembranen Helices der Untereinheit PsaA. Bereiche oberhalb dieser Helices liegen an der stromalen Seite des Komplexes, Bereiche unterhalb an der lumenalen Seite. Aminosäuren, die Antennenchlorophylle koordinieren sind grau hinterlegt dargestellt. Liganden der ersten acht Kofaktoren des ETS werden durch schwarze Kreise symbolisiert.

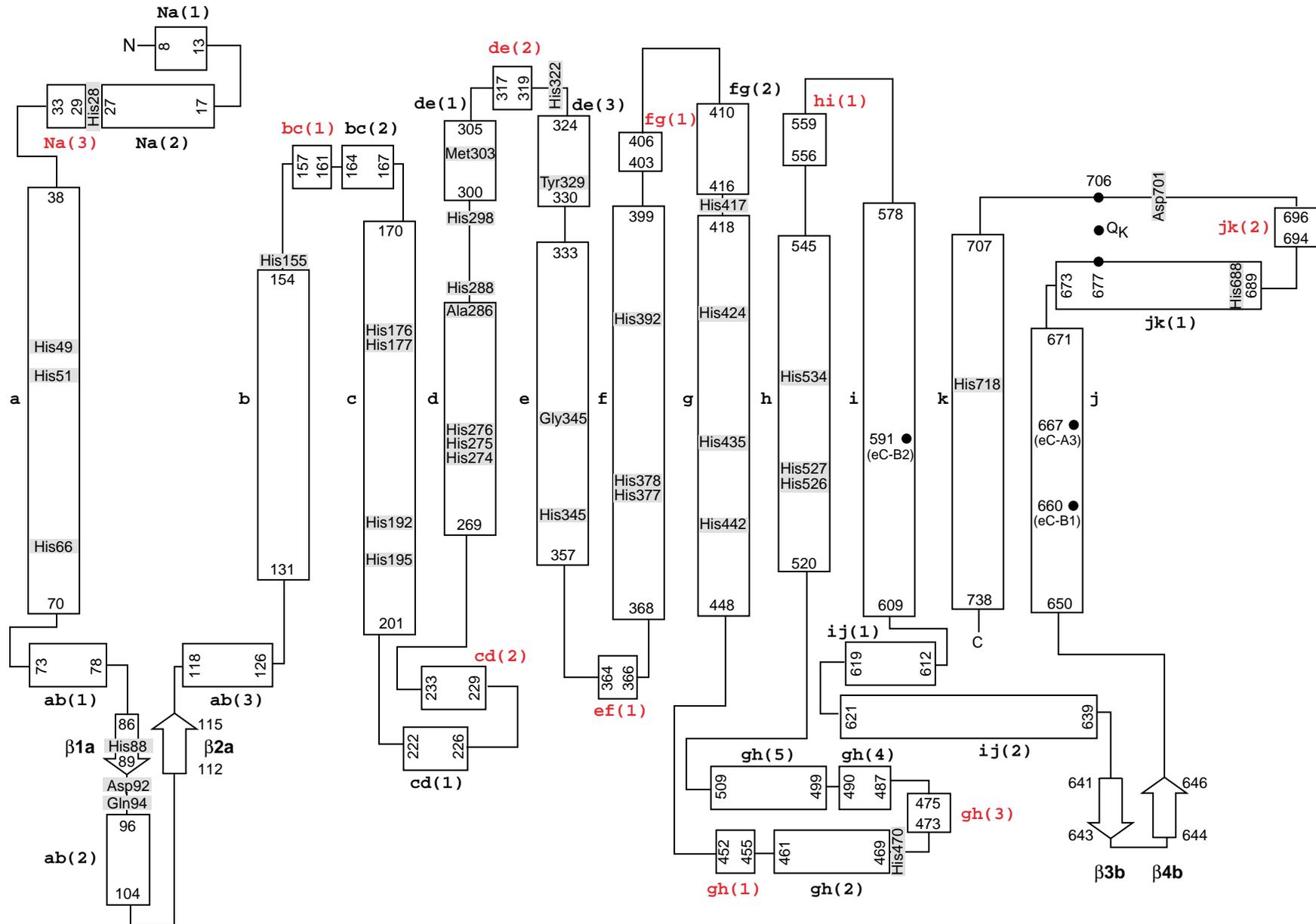


Abbildung 6.7: Topographiedigramm der Untereinheit PsaB. Helices werden durch Rechtecke, β -Stränge durch Pfeile repräsentiert. Die senkrechten Rechtecke stehen für die elf transmembranen Helices der Untereinheit PsaB. Bereiche oberhalb dieser Helices liegen an der stromalen Seite des Komplexes, Bereiche unterhalb an der lumenalen Seite. Aminosäuren, die Antennenchlorophylle koordinieren sind grau hinterlegt dargestellt. Liganden der ersten acht Kofaktoren des ETS werden durch schwarze Kreise symbolisiert.

fen) bilden die sogenannte Reaktionszentrumsdomäne aus (Schubert *et al.*, 1997). Diese zehn Helices befinden sich im Zentrum des Komplexes am nächsten zur pseudo C_2 -Achse. Sie umgeben die dem ETS zugerechneten Chlorophylle in Gestalt zweier gegeneinander verschobener Halbmonde, die die Chlorophyll-Kopfgruppen vom übrigen Proteingerüst abschirmen, während deren Phytylseitenketten seitlich aus dieser Domäne herausragen können. Beim Gang vom Lumen zum Stroma verjüngt sich der eingeschlossene Bereich stark. Während der Zwischenraum an der lumenalen Seite durch die beiden Helices A/B-**ij**(2) abgegrenzt wird, kommen sich an der stromalen Seite die C_α -Positionen der Reste A691 und B670 in den Helices A/B-**j** auf ca. 5.2 Å nahe.

Die Reaktionszentrumsdomäne wird von einem ≈ 17 Å breiten Gürtel umgeben, in dem sich fast ausschließlich Chlorophylle und Karotine befinden. Er wird von den beiden Helices A/B-**e** und A/B-**f** durchbrochen, die die Verbindung zu den vier äußeren Helices A/B-**a** bis A/B-**d** bilden. Neben den Kofaktoren des ETS binden PsaA und PsaB auch den Großteil der Antennenchlorophylle (s. Abschnitt 10). An dieser Stelle sollen nur einige Daten aufgeführt werden, die die Koordination der Mg^{2+} -Ionen der Antennenchlorophylle betreffen. Weitere Details finden sich in Tabelle 10.2 auf Seite 175. Insgesamt werden von PsaA und PsaB 79 (40/39) Antennenchlorophylle axial koordiniert. 66 (34/32) der Chlorophylle werden direkt von einem Atom der Aminosäureseitenkette koordiniert, 12 (5/7) weitere über ein oder mehrere Wassermoleküle. 61 Liganden sind Histidine, die zwischen PsaA und PsaB konserviert sind. 49 (25/24) der Liganden befinden sich in transmembranen Helices. Der Großteil der Liganden wird von den Helices A/B-**a** bis A/B-**f** und deren verbindenden Schlaufen und Helices gestellt. Abweichend vom bisherigen Kenntnisstand werden jedoch auch von den Aminosäuren in der Reaktionszentrumsdomäne nicht ausschließlich die Chlorophylle des ETS, sondern auch 25 (12/13) Antennenchlorophylle koordiniert. Lediglich von den Aminosäuren in den Helices A/B-**i** und A/B-**j** werden keine Antennenchlorophylle koordiniert, sondern ausschließlich die dem ETS zugerechneten Chlorophylle. Die Chlorophylle, die von den Helices A/B-**g** und A/B-**h** koordiniert werden, befinden sich auf der dem ETS abgewandten Seite. Auf diese Weise kann eine räumliche Trennung der Antennenchlorophylle von den Chlorophyllen des ETS realisiert werden. Eine Ausnahme hierzu bilden die sog. „connecting Chlorophylls“ (aC-A40 und aC-B39), die von Helix A/B-**k** koordiniert werden und dem ETS am nächsten liegen.

Die bisherige Definition der Reaktionszentrumsdomäne erweist sich jedoch als problematisch. Bezieht man ihn auf die gesamte Sequenz ab A437 bzw. B418, so wird auch die lumenale Schlaufe zwischen den Helices A/B-**g** und A/B-**h** mit eingeschlossen. Diese

bindet jedoch ein Trimer von Antennenchlorophyllen (s. Abschnitt 10.1.1), die an der Peripherie des Komplexes lokalisiert sind. Ähnliches gilt auch für die von der stromalen Schlaufe A/B-**jk** koordinierten Antennenchlorophylle, die formal dem zentralen Teil der Antenne zugeordnet werden, jedoch ebenfalls weit am Rand des Komplexes liegen.

Die Analyse des neuen Strukturmodells zeigt somit, daß die strikt auf der Funktion beruhende Einteilung in eine Reaktions- und eine Antennendomäne nicht in allen Belangen gestützt wird. Deshalb wird im weiteren Verlauf des Textes der Begriff Antennendomäne durch N-terminale Domäne und der Begriff der Reaktionszentrumsdomäne durch C-terminale Domäne ersetzt.

Strukturell stehen PsaA und PsaB über eine ausgeprägte zweizählige Pseudosymmetrieachse miteinander in Beziehung. Diese Achse verläuft annähernd parallel zur Membrannormalen. Wendet man auf PsaA die der Achse entsprechende Symmetrieoperation an, so findet man in der Überlagerung der beiden C_α Modelle (Abbildung 6.8) einige Abweichungen. Die r.m.s.-Abweichung bei einer Überlagerung der C_α -Positionen der elf transmembranen Helices beträgt 0,638 Å. Bereiche, in denen sich der Verlauf der Hauptkette beider Untereinheiten stark unterscheidet, sind in der Sequenzüberlagerung (Abbildung 6.4) gelb hinterlegt. Sie sind im stromalen und membranintegralen Bereich des Proteins am geringsten, während sich im lumenalen Teil größere Abweichungen ergeben. Dies ist konsistent mit der geringen Sequenzähnlichkeit zwischen PsaA und PsaB im lumenalen Bereich. Im folgenden sollen anhand der Überlagerung die Gemeinsamkeiten und Unterschiede beider Untereinheiten beschrieben werden.

Der N-Terminus beider Untereinheiten liegt im stromalen Bereich des Proteinkomplexes. Er ist nicht vollständig von Protein umgeben, sondern frei vom Solvens aus zugänglich. In PsaA ist er gegenüber PsaB um 27 Aminosäuren verlängert. Der Bereich von A21-A30 befände sich in PsaB an der Stelle, an der PsaM an PsaB gebunden ist. Der N-Terminus von PsaB befindet sich in Kontakt zum C-Terminus von PsaI, wobei von B1 und B3 Wasserstoffbrücken zu I36 und I37 sowie hydrophobe Wechselwirkungen ausgebildet werden. Die Aminosäuren A16-A18 bilden den β -Strang A- β 1a aus, der sich mit einem weiteren Strang von A183-A185 (A- β 4a) in Wechselwirkung befindet. In PsaB ist eine derartige Sekundärstruktur nicht vorhanden.

Nach der transmembranen Helix A/B-**a** folgt die erste lumenale Schlaufe(A/B **a-b**). Beide Untereinheiten bilden in dieser Region ein zweisträngiges β -Faltblatt aus, wobei sich in PsaB zwischen den beiden Strängen noch eine α -Helix(B-**ab(2)**) befindet.

In der zweitgrößten lumenalen Schlaufe(A/B **c-d**), die in PsaA ca. bei Aminosäure

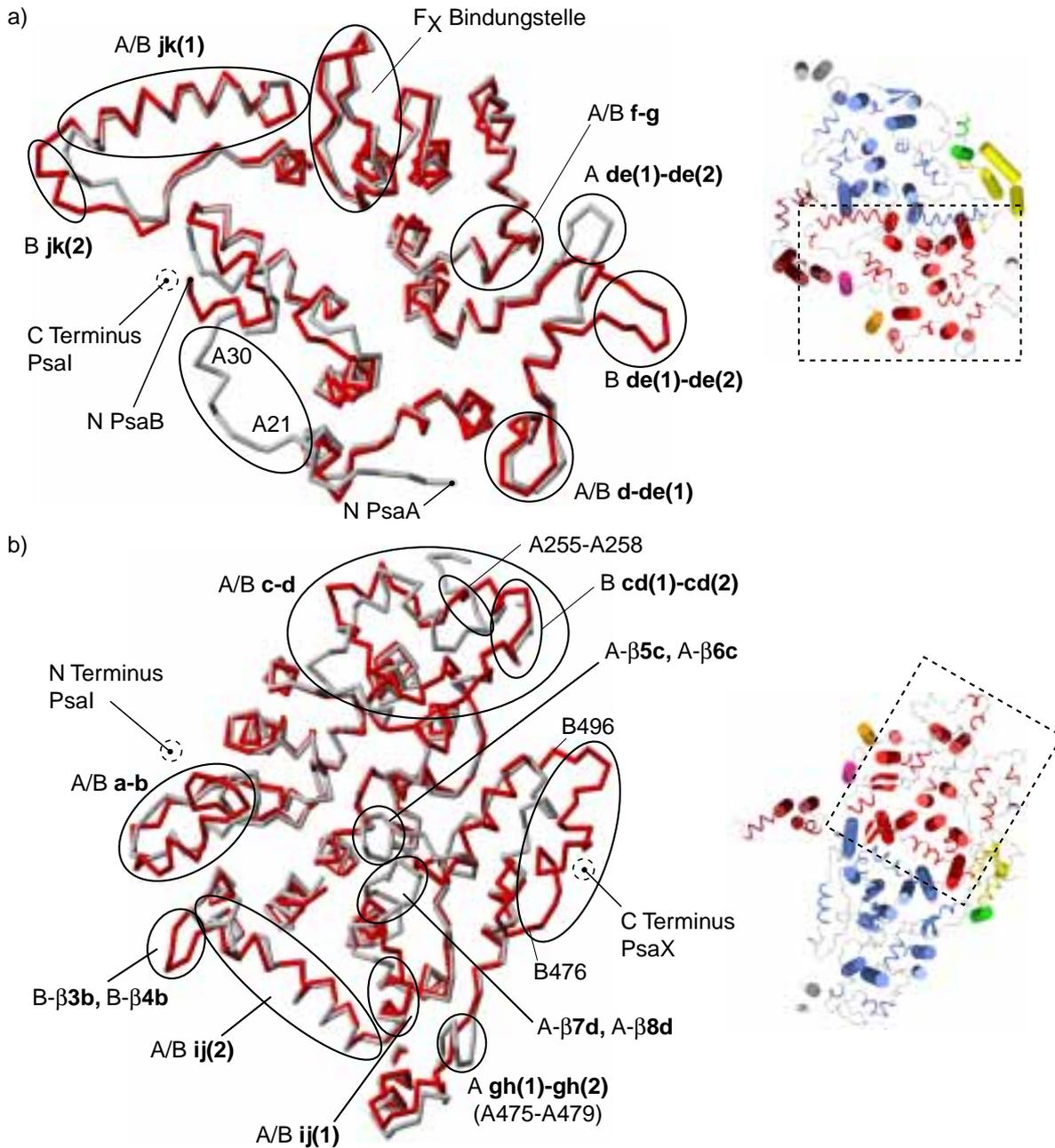


Abbildung 6.8: Überlagerung der C_α -Kohlenstoffatome der beiden Untereinheiten PsaA und PsaB. PsaA ist in hellgrau dargestellt, PsaB in rot. Dargestellt ist jeweils ein Schnitt durch die beiden Untereinheiten, der die stromalen(a) und lumenalen(b) Schlaufen, sowie die stromalen(a) und lumenalen(b) Enden der transmembranen Helices zeigt. (a) Blick entlang der Membrannormalen vom Stroma auf die stromale Seite von PS I. (b) Blick entlang der Membrannormalen vom Lumen auf die lumenale Seite. Die Orientierung der beiden Schnitte im Bezug auf den gesamten PS I-Komplex wird auf der rechten Seite durch ein Rechteck markiert. Im Text besprochene Sekundärstrukturelemente sind mit Ellipsen markiert. Deutlich zu erkennen sind die größeren Abweichungen an der lumenalen Seite.

A228 beginnt, gibt es größere Unterschiede im Verlauf der Hauptketten beider Untereinheiten. Ein deckungsgleicher Verlauf wird etwa in der Mitte der Schlaufe in der Region der Helices B-**cd(1)** und B-**cd(2)** erreicht. Dieser Bereich liegt in Nähe zur Untereinheit PsaK. In die Sequenzüberlagerung (Abbildung 6.4) wurden vor und nach diesem Bereich zwei größere Insertionen in PsaA und PsaB eingeführt, da sie sich dort an Positionen geringster Übereinstimmung befinden. Es ist auffällig, daß sich in *Syn. el.* von A255-A258 eine Insertion befindet, die in keinem anderen Organismus gefunden wurde.

Im ersten Drittel der stromalen Schlaufe **de** findet sich ein zwischen PsaA und PsaB gut konservierter Sequenzbereich von A312 bis A327. Der Hauptkettenverlauf beider Untereinheiten stimmt in diesem Bereich gut überein. Auch dieser Bereich befindet sich in Nähe zu Untereinheit PsaK. Da PsaG in höheren Pflanzen als verwandt zu PsaK angesehen wird, könnte es sein, daß dieses in PsaA und PsaB aller Organismen konservierte Sequenzmotiv auch für die Bindung von PsaG durch PsaB verantwortlich ist.

Direkt auf die α -Helix A/B-**de(1)** folgt eine sechs Aminosäuren lange Insertion (B311-B316) in PsaB gegenüber PsaA (B-**de(1)**-**de(2)**). Diese Insertion findet sich zudem nur in PsaB aus *Syn. el.* und nicht in PsaB aus höheren Pflanzen oder Algen. Die Hauptkette von PsaB muß an dieser Stelle einen anderen Verlauf als in PsaA nehmen, da die Hauptkette sonst mit Lipid IV kollidieren würde, das sich am N-terminalen Ende der Untereinheit PsaX befindet. Da diese Untereinheit bisher nur in Cyanobakterien gefunden wurde, könnte die Insertion in PsaB aus *Syn. el.* eine Folge der Inkorporation von PsaX sein, weil nur durch eine Verlängerung der Sequenz in diesem Bereich ein Abknicken des Hauptkettenverlaufs und damit ein „Ausweichen“ möglich wird.

Stromal der transmembranen Helix A/B-**f** befindet sich ein konservierter Sequenzbereich, der die Helices A/B-**fg(1)** und A/B-**fg(2)** ausbildet. Für diesen Sequenzbereich konnte bereits 1993 eine Position auf der stromalen Seite des Komplexes gezeigt werden (Vallon & Bogorad, 1993).

In der größten lumenalen Schlaufe zwischen den Helices A/B-**g** und A/B-**h** befindet sich eine Insertion von fünf Aminosäuren in PsaA (A475-A479) an einer Stelle, die an der Seite von PsaB durch die Aminosäuren um F49 blockiert wird. Der Hauptkettenverlauf beider Untereinheiten ist von A494-A530 sehr unterschiedlich. In diesem Bereich findet sich eine Insertion von elf Aminosäuren in PsaB gegenüber PsaA. Die genaue Position der Insertion ist jedoch schlecht zu bestimmen. Im Bereich von B476 bis B496 ist die Hauptkette von PsaB gegen die von PsaA um 4-6 Å verschoben.

Im Bereich von B479 kommt die Schlaufe in die Nähe des C-Terminus von PsaX. Die

„Spitze“ der Schlaufe wird von ProB493 gebildet. In der Sequenz befindet sich an dieser Stelle eine drei bis vier Aminosäuren lange Insertion in PsaB aus *Syn. el.*, die in anderen Organismen nicht vorhanden ist. Desweiteren befindet sich oberhalb (stromal) von dieser Insertion ein Trimer von Chlorophyll Molekülen, von denen das äußere (aC-B33) mit der Spitze der Schlaufe in Wechselwirkung zu stehen scheint. Im analogen Bereich von PsaA findet sich dieses Trimer von Chlorophyllen nicht. Der Hauptkettenverlauf von PsaB kann an dieser Stelle das äußere Chlorophyll stabilisieren und ein Herauslösen von der lumenalen Seite aus verhindern. Demzufolge kann spekuliert werden, ob die Unterschiede in der Sequenz zwischen PsaA und PsaB untereinander und zwischen den verschiedenen Organismen mit dem Auftreten eines Chlorophyll-Trimers mit besonderen spektroskopischen Eigenschaften zusammenfällt (siehe auch Abschnitt 10.1.1).

Während PsaB von B499-B509 eine α -Helix ausbildet, findet sich in PsaA von A518-A520 (A- β 5c) und A523-A526 (A- β 6c) zwei β -Stränge, die ein antiparalleles β -Faltblatt ausbilden, das von der lumenalen Oberfläche weg weist.

Im Anschluß an die transmembrane Helix A/B-h befinden sich auf der stromalen Seite die beiden Aspartate A568 und B555. Sie liegen mit Abständen von 2,9 Å und 3,0 Å nahe an den Argininen C52 und C65 und tragen so zu einer festen Bindung von PsaC an den Komplex bei.

Mit dem Segment A576/B563 bis A588/B575 folgt eine der am stärksten in allen Organismen konservierten Regionen des PS I. Schon früh wurde vorgeschlagen, daß es sich bei dieser Region um das Bindungsmotiv für den $[\text{Fe}_4\text{S}_4]$ -Cluster F_X handelt (Cantrell & Bryant, 1987). Der Einfluß der Region auf die Eigenschaften von F_X wird im Kapitel 9.6 beschrieben. An dieser Stelle soll nur auf die Wechselwirkungen der Schlaufe mit den anderen Untereinheiten eingegangen werden. Biochemische Ergebnisse zeigen, daß zwischen den Aminosäuren der F_X -Bindungsstelle und PsaC Wechselwirkungen bestehen könnten (Rodday *et al.*, 1993; Rodday *et al.*, 1994). Das Strukturmodell zeigt, daß die Aminosäurereste AspA579 und AspB566 jeweils 2,7 Å von den Resten ArgC52 und LysC51 entfernt sind. Zusätzlich ist AspB566 2,6 Å von ArgC65 entfernt. Die geringen Abstände deuten auf eine starke Wechselwirkung unter den Aminosäuren hin. Dies wird durch Mutationen an *Chlamydomonas reinhardtii* unterstützt. So führt die Mutation von AspA576 (entsprechend AspA579) zu einer Änderung der spektroskopischen Eigenschaften von F_A und F_B , was auf eine Wechselwirkung mit PsaC schließen läßt (Patel *et al.*, 1995). Eine erneute Studie an Suppressormutanten von *Chlamydomonas reinhardtii* der selben Autoren ergab jedoch unlängst, daß die Mutation Asp576Leu keinen Einfluß auf die Bindung von

PsaC zu haben scheint (Evans *et al.*, 1999). Analog zu (Patel *et al.*, 1995) konnte aber für AspB562 aus *Chlamydomonas reinhardtii* (AspB566 in *Syn. el.*) gezeigt werden, daß dieser Rest essentiell für die Konstitution des gesamten Komplexes ist (Rodday *et al.*, 1995). Die in Rodday *et al.* (1996) beschriebene Wechselwirkung der beiden Arginine A580 und B566 (A583 und B570 in *Syn. el.*) mit einem Aspartat in PsaC kann nicht gefunden werden. Statt dessen befinden sich diese beide Reste mit Abständen von 2,9 Å und 2,7 Å gleichfalls nahe an den Aspartatresten AspA579 und AspB566. Zwischen den Aspartat und Argininresten und dem zentralen Prolin A581/B568 liegt jeweils ein Glycin, wodurch sich eine flexible Region ergibt. Den Argininen könnte somit eine Rolle in der Stabilisierung dieser Bindungsregion zufallen. Aufgrund der Faltung des Proteins kommt es auch dazu, daß in der Sequenz weit entfernt liegende Reste miteinander wechselwirken. Die Arginine A728 und B712 formen z. B. lumenal von F_X eine Salzbrücke mit den am N-terminalen Ende der Helices A/B-h gelegenen Aspartaten A593 und B580 und stabilisieren so die Anordnung der Helices, was nicht ohne Einfluß auf die F_X Bindungsschleufe ist. Der o.g. Sachverhalt wird jedoch durch zwei weitere Veröffentlichungen verkompliziert. Die Mutationen des zu AspB566 analogen Aspartats in *Synechocystis sp.* PCC 6803 führte zu einer starken Verminderung des Wachstums der Bakterien und einem verminderten Gehalt an Chlorophyll (Vassiliev *et al.*, 1999). Dies wird auf eine unspezifische Verringerung der Stabilität des Komplexes zurückgeführt. Jedoch konnte ein Einfluß auf die spektroskopischen Eigenschaften von F_A und F_B nicht gefunden werden. Lediglich eine Verbreiterung der EPR Signale von F_X wurde gemessen. Die Autoren führen die Verbreiterung auf eine Salzbrücke von AspB566 mit einem basischen Rest in einer benachbarten Helix zurück, die durch die Mutation gestört würde und dadurch die Stabilität der Schleufe herabsetzt. Diese widersprüchlichen Ergebnisse lassen sich anhand des Strukturmodells nicht eindeutig klären. Es besteht die Möglichkeit, daß die oben beschriebenen Wechselwirkungen nicht allein für die Bindung von PsaC und die Stabilität der F_X Bindungsschleufe verantwortlich sind. So findet sich in der Umgebung der Schleufe eine Vielzahl potentiell Ladungen-tragender Reste und ein kompliziertes Netzwerk von Wasserstoffbrückenbindungen. Es wäre also möglich, daß die Organismen die Mutation durch andere Wechselwirkungen kompensieren und so die Funktionalität des Wildtyps wieder herstellen.

Die transmembrane α -Helix A/B-i bindet die Wassermoleküle, die die Chlorophylle eC-B2 und eC-A2 ligandieren. Auf sie folgt in PsaA ein zweisträngiges β -Faltblatt (A- β 7d,8d), das innerhalb eines Sequenzabschnitts (A622-A634) liegt, der von der Oberfläche weg weit in das Lumen reicht. Der Sequenzabschnitt fällt zusammen mit einer Insertion

in der Sequenz von PsaA gegenüber PsaB.

Mit Beginn der Helix A/B-**ij(1)** nähern sich die Hauptkettenverläufe beider Untereinheiten wieder an. Mutationen an *Synechocystis sp.* PCC 6803 zeigen, daß die Bakterien kein PS I akkumulieren, wenn man einige bestimmte Aminosäuren im Bereich von α -Helix B-**ij(1)** mutiert (Sun *et al.*, 1999).

Der Hauptkettenverlauf in α -Helix A/B-**ij(2)** ist in beiden Untereinheiten sehr ähnlich. Dies fällt zusammen mit dem am stärksten zwischen beiden Untereinheiten konservierten Sequenzbereich auf der luminalen Seite. Beide Helices grenzen die Reaktionszentrumsdomäne zum Lumen hin ab und befinden sich direkt unterhalb der beiden Chlorophylle (eC-A1 und eC-B1), die dem primären Donor P700 zugerechnet werden. Die Lage der Helices im Zentrum des Komplexes bedingt, daß sie in der Projektion parallel nebeneinander liegen. In der Mitte der Helices befinden sich die beiden Tryptophan-Reste A655 und B631. Beide Reste bilden untereinander zwei Wasserstoffbrücken aus (Abstand ca. 2,8 Å), die zwischen dem Hauptkettensauerstoffatom des einen Restes und dem Stickstoff im Tryptophanring (N ϵ) des anderen Restes verläuft. Eine Mutation des zu TrpB631 analogen Tryptophans in *Synechocystis sp.* PCC 6803 und des darauffolgenden Alanins (nur in *Synechocystis sp.* PCC 6803 vorhanden) führte nicht zu einer Beeinflussung der Umgebung des primären Donors. Jedoch konnte keine Cytochrom c_6 -Aktivität mehr gemessen werden (Sun *et al.*, 1999). An dem der Trimerachse zugewandten Ende der Helix B-**ij(2)**, befindet sich ein von B641 bis B646 verlaufendes zweisträngiges antiparalleles β -Faltblatt (B- β 3b,4b), welches senkrecht zu Helix B-**ij(2)** über die Furche zwischen den Helices A/B-**ij(2)** ragt. Dabei bildet die Seitenkette des Asparagins B642 zwei Wasserstoffbrücken zu den Hauptketten aus. Eine Mutation im Bereich von B- β 3b hatte zur Folge, daß keine Bindung von Cytochrom c_6 an das PS I und kein Elektronentransfer vom Cytochrom c_6 zum PS I mehr gefunden werden konnte (Sun *et al.*, 1999). Das Auftreten des Faltblatts fällt zusammen mit einer vier Aminosäure langen Insertion in PsaB gegenüber PsaA, die in allen verglichenen Organismen existiert. Die exponierte Lage des Faltblatts, die Insertion und die biochemischen Daten deuten auf eine Funktion dieser Aminosäuren im Rahmen der Cytochrom c_6 -Bindung hin.

Von der darauffolgenden transmembranen Helix A/B-**j** werden die vermutlich das P700 und den primären Akzeptor A₀ bildenden Chlorophylle ligandiert. Im Anschluß daran findet sich die stromale α -Helix A/B-**jk(1)**, deren Aminosäuren stark zwischen PsaA und PsaB, sowie zwischen unterschiedlichen Organismen konserviert sind. Sie bildet zusammen mit der anschließenden Schlaufe die Bindungstasche für den sekundären Akzeptor

A₁ aus.

In der ersten Hälfte der Schlaufe zwischen B-**jk(1)** und B-**k** findet sich eine 3_{10} -Helix (B-**jk(2)**), die nahe zu PsaL verläuft. An der gegenüberliegenden Seite des Komplexes, in PsaA, gibt es keine Helix an dieser Stelle und die Sequenz ist vier Aminosäuren kürzer als in PsaB. Schaut man auf die Umgebung der Schlaufe in PsaA, so findet man dort die transmembrane Helix von PsaF, die den Raum erfüllt und keinen Platz für eine ähnliche Faltung wie in PsaB ließe.

Der C-Terminus beider Untereinheiten liegt am lumenalen Ende der transmembranen α -Helix A/B-**k**.

Die innersten fünf transmembranen Helices des Komplexes sind die 5 C-terminalen Helices von PsaA und PsaB. Von diesen sind jeweils die ersten drei in der Sequenz aufeinanderfolgenden (A/B-**g**-A/B-**i**) auch in der Struktur benachbart. Ausgangs der Schlaufe zwischen der jeweils vierten (A/B-**j**) und fünften (A/B-**k**) transmembranen Helix hat sich die Struktur hingegen so zurückgefaltet, daß Helix A/B-**k** strukturell vor Helix A/B-**j** positioniert wird (s. Abbildung 6.6 und 6.7).

