

10 Das Antennensystem

Die für die Ladungstrennung am P700 nötige Energie wird in Form von Strahlungsenergie (Sonnenlicht) bereitgestellt. Wird am primären Donor eine stabile Ladungstrennung ausgelöst und auf diese Weise die Strahlungsenergie in elektrochemische Arbeit umgewandelt, so spricht man vom sog. „trapping“ (Einfang) der Lichtenergie.

Die Absorption der Lichtquanten und der Transfer der Anregungsenergie zum Reaktionszentrum erfolgt mittels der Antennenpigmente. Als Antennenpigmente in photosynthetischen Organismen fungieren im wesentlichen drei Klassen von Molekülen: Chlorophylle, Phycobiline und Karotinoide. Chlorophylle und verschiedenartige Karotinoide findet man in allen photosynthetischen Organismen, wobei die Chlorophylle in allen Bakterien, mit Ausnahme von Cyanobakterien, durch bakterielle Chlorophylle ersetzt sind. Organismen, die zusätzlich zu den Chlorophyllen noch Phycobiline enthalten, sind u. a. Cyanobakterien und Rotalgen.

Die Antennenpigmente sind zumeist in kleineren Proteinen, den Lichtsammelkomplexen (engl. light harvesting complexes) organisiert. In Purpurbakterien bilden LH-1 und LH-2 die Antenne aus. Der LH-1 ist dabei eng an das Reaktionszentrum assoziiert, während die LH-2 Antenne peripher an diesen Kernkomplex gebunden ist.

In Organismen, die PS I und PS II enthalten, ist die Organisation der Antennenkomplexe komplexer als in Purpurbakterien. Die „innere“ Antenne des PS II wird von den an die Untereinheiten CP43 und CP47 gebundenen Pigmenten gebildet. Im PS I findet man eine sog. Kernantenne (engl. core antenna) vor. 90 % der Antennenpigmente sind hier nicht in individuellen Proteinen organisiert, sondern werden von dem das ETS koordinierenden Teil des Photosystems (den Untereinheiten PsaA und PsaB) gebunden.

Während man in Grünalgen und höheren Pflanzen als peripheren Antennenkomplex den membranintrinsischen LHC-II findet, besitzen Cyanobakterien als externen Antennenkomplex die Phycobillisomen, in denen die Phycobilline als Pigmente eingebunden sind.

Trotz der großen strukturellen Unterschiede zwischen den verschiedenen Antennensystemen besitzen sie im wesentlichen die gleiche Funktion. Die Antennensysteme sollen den Einfangsquerschnitt für die Absorption von Licht über einen breiten Spektralbereich erhöhen und einen möglichst effizienten Energietransfer zum Reaktionszentrum ermöglichen. Zum besseren Verständnis der nachfolgenden Ausführungen werden daher zunächst einige Grundlagen des Energietransfers erörtert.

Die Kinetiken der Weiterleitung der Anregungsenergie von einem Chromophor zum

nächsten können mit dem Modell des Excitonen-Energie-Austausches beschrieben werden (für eine Einführung und Zusammenfassung siehe (van Grondelle, 1984; van Grondelle *et al.*, 1994)). Dabei handelt es sich um einen strahlungslosen Prozeß, der auf einer Dipol-Dipol Wechselwirkung der beteiligten Donor- und Akzeptor-Moleküle beruht. Aus der Theorie ergeben sich in Abhängigkeit von der Stärke der Kopplung zwischen Donor und Akzeptor zwei verschiedene Arten von Wechselwirkungen, die sich in ihren Eigenschaften stark unterscheiden. Diese werden als schwache und starke Kopplung bezeichnet.

Ist die Wechselwirkung zwischen Donor und Akzeptor dergestalt, daß sich die Spektren beider Moleküle nur unwesentlich beeinflussen, so spricht man von einer schwachen Kopplung. Für die Beschreibung des Anregungsenergie-transfers zwischen den Chlorophyllen innerhalb der Antenne des PS I ist dies im wesentlichen der Fall. Die Transferraten zwischen solchen gekoppelten Paaren von Pigmenten können mit der Förster-Theorie (Förster, 1948) beschrieben werden. Die Förster-Gleichung (10.12) ergibt sich wie folgt:

$$k_{\text{ET}} = \frac{\kappa^2}{\tau_{\text{R}}^{\text{D}}} \left(\frac{R_0}{R_{\text{DA}}} \right)^6 \quad (10.12)$$

In Gleichung 10.12 ist $\tau_{\text{R}}^{\text{D}}$ die natürliche Fluoreszenzlebensdauer des angeregten Donors, R_{DA} der Zentrumsabstand zwischen Donor und Akzeptor Molekül, R_0 der Förster-Radius und κ^2 beschreibt die Orientierung zwischen den Übergangsdipolmomenten der beiden Pigmente. κ wird durch Gleichung 10.13 gegeben.

$$\kappa = \cos\alpha - 3\cos\beta_1\cos\beta_2 \quad (10.13)$$

α ist der Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten des Donors ($\vec{\mu}_{\text{D}}$) und des Akzeptors ($\vec{\mu}_{\text{A}}$), β_1 und β_2 sind die Winkel, die zwischen dem Verbindungsvektor \vec{R}_{DA} und $\vec{\mu}_{\text{D}}$ bzw. \vec{R}_{DA} und $\vec{\mu}_{\text{A}}$ gebildet werden. Der Förster-Radius R_0 , ist wie folgt definiert:

$$R_0^6 = 8,785 \cdot 10^{17} n^{-4} \int F_{\text{D}}(\nu) \epsilon_{\text{A}}(\nu) \nu^{-4} d\nu \quad (10.14)$$

n ist hierin der Brechungsindex des Mediums, $F_{\text{D}}(\nu)$ das normierte Fluoreszenzspektrum des Donors und $\epsilon_{\text{A}}(\nu)$ der molare dekadische Extinktionskoeffizient des Akzeptors.

Man erkennt, daß die Transferrate wesentlich von der Orientierung (Gleichung 10.13), dem Abstand zwischen Donor und Akzeptor (R_{DA}^6) sowie dem Förster-Radius abhängt. Über den Förster-Radius wird eine Abhängigkeit der Transferrate von der Überlappung des Emissionsspektrums des Donors mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors eingeführt. Die Transferrate steigt also mit einer besseren spektralen Überlappung an. Da die Fluoreszenz eines Moleküls gegenüber der Absorption rot verschoben ist (Stokesche

Verschiebung), wird also ein Excitonentransfer zu Akzeptoren begünstigt, deren Absorptionsmaximum langwellig gegenüber dem Donor verschoben ist. D.h., daß sich die Anregungsenergie auf den langwelligsten Donoren sammeln kann. Dieser Aspekt wird bei der Diskussion der sog. „roten“ Chlorophylle von Bedeutung sein (siehe Abschnitt 10.1.1).

Der zweite Typ der oben beschriebenen Wechselwirkung ist die starke Kopplung der beteiligten Pigmente. Kommen sich z. B. zwei Pigmente genügend nah, so kommt es zu einer sog. excitonischen Aufspaltung des Energieniveaus des angeregten Zustands. D. h., beim Übergang vom Grundzustand in den angeregten Zustand wird nicht mehr eine Absorption beobachtet, sondern zwei symmetrisch nach niedrigeren und höheren Wellenlängen verschobene Absorptionsbanden. Die Intensität der Absorptionsbanden hängt von der Orientierung der beiden Übergangsdipolmomente ab (vgl. (Cantor & Schimmel, 1980)). Den Excitonenergieübertrag betreffend, dürfen die gekoppelten Pigmente als Einheit betrachtet werden, da die Anregung innerhalb des Dimers als delokalisiert angesehen werden kann.

Abschließend sei angemerkt, daß der Excitonentransfer nach Förster über die Übergangsdipolmomente von der Art des optischen Übergangs abhängt. Da bei optisch verbotenen Übergängen das Übergangsdipolmoment sehr klein ist, wird ein Energieübertrag nach Förster in diesem Falle nahezu unmöglich! Die Triplet-Energieübertragung von Karotin auf Chlorophylle ist jedoch ein solcher Fall, bei dem trotz eines optisch verbotenen Übergangs ein Energieaustausch stattfindet.

Dieses Verhalten kann mit der Dextertheorie (Dexter, 1953) erklärt werden, die nur für den Fall optisch verbotener Übergänge gilt. Um einen Energieaustausch nach Dexter zu ermöglichen, muß der Abstand zwischen den Chromophoren, ähnlich wie im Fall der stark gekoppelten Pigmente, in der Größenordnung des van der Waals Abstands liegen. Aufgrund des geringen Abstands können die Wellenformen der Moleküle überlappen. Dies ist nötig, da im Rahmen des Energieaustausches auch Elektronen zwischen den Pigmenten ausgetauscht werden (Austausch-Energie-Transfer) (siehe Abschnitt 10.2).

Wird im folgenden auf Übergangsdipolmomente und die Änderung spektroskopischer Eigenschaften von Chlorophyllen eingegangen, so beziehen sich diese Ausführungen auf die Q_Y genannte langwelligste intensive $\pi\pi^*$ Absorptionsbande von Chl *a* bei 662 nm (die Orientierung des korrespondierenden Übergangsdipolmomentes ist in Abb. 2.1 eingezeichnet).

10.1 Die Chlorophylle des Antennensystems

Neben den 6 Chlorophyllen des ETS finden sich in der Proteinstruktur noch neunzig weitere Chl a Moleküle. Diese werden neben den 22 Karotinen (siehe Abschnitt 10.2) dem Antennensystem zugerechnet. Tabelle 10.1 gibt eine Übersicht über die Koordinati-

Tabelle 10.1: Übersicht über die die Antennenchlorophylle axial koordinierenden Untereinheiten und die Art der Koordination durch Aminosäureseitenketten oder andere Liganden. Die in Klammern angegebenen Zuweisungen konnten nicht mit vollständiger Sicherheit geklärt werden. In der mit einem Fragezeichen überschriebenen Spalte ist ein axialer Ligand der Untereinheit PsaK aufgenommen, dessen Aminosäureseitenkette nicht modelliert werden konnte. Ph. steht für die Phosphodiestergruppe des Phosphatidylglycerols III.

	His	Asn	Gln	Asp	Glu	Tyr	Backbone	Ph.	Wasser	?	Summe
Alle	65		3	1	2	1	1	1	15	1	90
PsaA	32		2				1		5		40
PsaB	29		1	1		1			7		39
PsaJ	1				1				1		3
PsaK	(1)									1	2
PsaL	1				1				1		3
PsaM									(1)		1
PsaX		1									1
PG								1			1

on der Antennenchlorophylle. Zwei verschiedene Ansichten des Antennensystems sind in Abbildung 10.1a und Abbildung 10.1b gezeigt. Die überwiegende Zahl der Antennenchlorophylle (79) wird von den Untereinheiten PsaA und PsaB axial koordiniert, lediglich elf Chlorophylle werden von den kleinen Untereinheiten und einem Lipidmolekül koordiniert. Histidine stellen in Übereinstimmung mit anderen Strukturen (z.B. (Kühlbrandt *et al.*, 1994)) die größte Zahl der axialen Liganden. Drei Chlorophylle werden von Glutaminresten koordiniert, bei denen vermutlich die freien Elektronenpaare der Sauerstoffatome der Säure-Amid-Gruppen mit dem zentralen Mg $^{2+}$ -Ion wechselwirken. Wie bereits im LHC-II beobachtet (Kühlbrandt *et al.*, 1994) können auch Glutamatreste Chlorophylle koordinieren. Im PS I werden zwei Chlorophylle durch diese Aminosäureseitenkette ligandiert. Ungewöhnlich ist, daß ein Chlorophyll ein Aspartat und ein weiteres Chlorophyll Tyrosin als fünften Liganden besitzt, ein Fall, der bislang noch nicht beschrieben wurde. In fünfzehn Fällen befand sich zwischen einer Aminosäureseitenkette und dem Chlorophyll

F_0-F_C -Differenzelektronendichte, die durch ein Wassermolekül erklärt werden konnte. Die Wassermoleküle ligandieren auf der einen Seite das Mg^{2+} -Ion und auf der anderen bilden sie eine Wasserstoffbrücke zu einem Aminosäurerest oder zu einem weiteren Wassermolekül aus. Ein Chlorophyll besitzt jedoch weder eine Aminosäure noch ein Wassermolekül als axialen Liganden, sondern wird durch die Kopfgruppe eines Phosphatidylglycerins koordiniert. Bei einem in der Nähe von PsaK befindlichen Chlorophyll konnte der axiale Ligand nicht abschließend geklärt werden, da im Falle von PsaK die Sequenz nicht vollständig modelliert werden konnte.

Die von PsaA und PsaB koordinierten Chlorophylle lassen sich räumlich grob in drei Gruppen einteilen (s. Abbildung 10.1c).

43 Chlorophylle befinden sich in der Nähe der C-terminalen Domäne von PsaA und PsaB und sind in Form eines hohlen Zylinders mit elliptischer Grundfläche um diese herum angeordnet, der von den transmembranen α -Helices A/B-e und A/B-f durchbrochen wird. Dieser Teil der Antenne wird als zentrale Antenne bezeichnet.

2×18 Chlorophylle liegen an der Peripherie des Komplexes in zwei Schichten nahe der lumenalen und stromalen Membranseite vor. Diese beiden Teile der Antenne werden als periphere Antennen bezeichnet.

Die Chlorophylle, die die zylindrische Struktur ausbilden, werden von den Helices A/B-a, A/B-b, A/B-e bis A/B-h, A/B-k, sowie den die Helices verbindenden Schlaufenregionen koordiniert. Die Chlorophylle des zylindrischen Kerns werden also nicht nur von der C-terminalen Domäne koordiniert, sondern auch ca. zur Hälfte von der N-terminalen Domäne. Tabelle 10.2 zeigt die Zuordnung der von der N- und C-terminalen Domäne

Tabelle 10.2: Zuordnung der von PsaA und PsaB koordinierten Antennenchlorophylle zur zentralen und peripheren Antenne.

		N-terminale Domäne				C-terminale Domäne						
		trans. α -Helices		Schlaufen		trans. α -Helices		Schlaufen				
		a	b	e	f	N-term.	ab	g	h	k	fg	jk
zentrale Antenne	PsaA	3	1	1	3	2	2	3	3	1	1	2
	PsaB	3	-	1	3	1	3	3	3	1	1	2
		b	c	d	e	cd	de			gh		
periphere Antenne	PsaA	1	4	3	2	1	5			2		
	PsaB	1	4	3	2	-	5			3		

koordinierten Chlorophylle zur zentralen und peripheren Antenne.

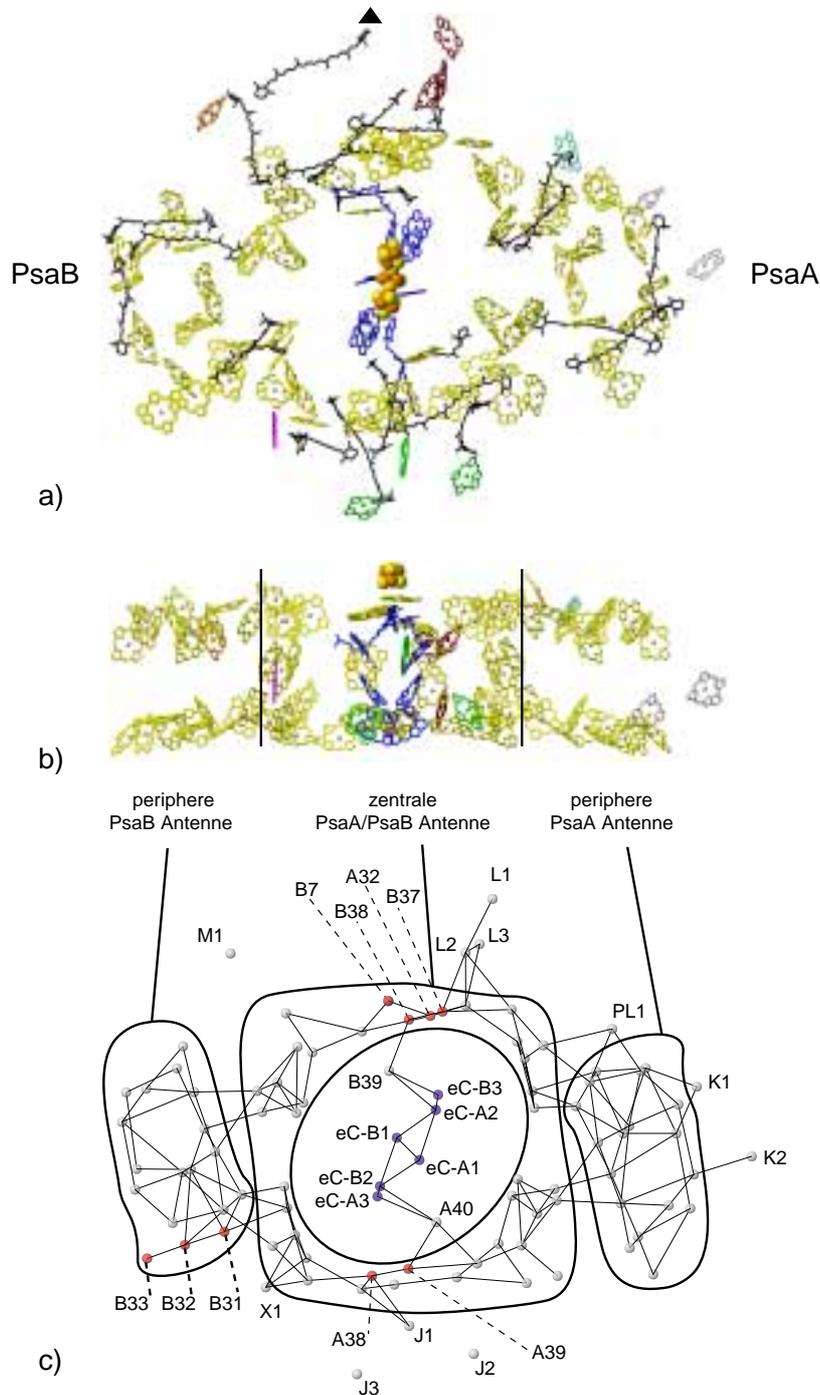


Abbildung 10.1: Die Kofaktoren des Antennensystems. Die Phytolseitenketten der Chlorophylle wurden aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt. Die Karotine sind in schwarz eingezeichnet. Die Kofaktoren des ETS (mit Ausnahme der Fe_4S_4 Cluster) sind blau dargestellt. Die von PsaA und PsaB koordinierten Chlorophylle sind in gelb eingezeichnet, die übrigen Antennenchlorophylle in der Farbe der sie koordinierenden Untereinheit. **a)** Blick von der stromalen Seite auf die Kofaktoren eines Monomers. Die dreizählige kristallographische Achse ist durch ein schwarzes Dreieck gekennzeichnet. **b)** Seitenansicht um 90 Grad gegenüber (a) gedreht. Blick ausgehend von PsaF in Richtung auf die Trimerisierungsdomäne. **c)** Die Chlorophylle des Antennensystems repräsentiert durch ihre zentralen Mg^{2+} -Ionen (grau). Zur Orientierung sind einige Mg^{2+} -Ionen von Chlorophyllen, deren Absorptionsspektren bathochrom verschoben sein könnten (s. Abschnitt 10.1.1) rot markiert. Schwarze Linien geben Zentrenabstände zwischen Chlorophyllen von $\leq 16 \text{ \AA}$ an.

Die 2×18 Chlorophylle an der Peripherie des Komplexes sind in zwei Schichten organisiert, die sich auf der lumenalen und stromalen Seite des Proteins befinden. Die Mehrheit dieser Chlorophylle wird von den N-terminalen Domänen (Regionen A/B-**a** bis A/B-**f**) der Untereinheiten PsaA und PsaB ligandiert. Dabei wird die eine Seite nur von PsaA und die andere nur von PsaB koordiniert (rechte und linke Seite in Abbildung 10.1). Fünf der peripheren Chlorophylle (**aC-A33**, **aC-A34**, **aC-B31**, **aC-B32**, **aC-B33**) werden jedoch von der Schlaufe gebunden, die die transmembranen Helices A/B-**g** und A/B-**h** verbindet und somit der C-terminalen Domäne zugerechnet wird.

Betrachtet man die radialen Abstände der Mittelpunkte der Antennenchlorophylle von der pseudozweizähligen Achse, die durch die Mitte der beiden P700 Chlorophylle verläuft, so findet man eine Häufung bei Abständen von 26 \AA bis 30 \AA (entsprechend dem Zylinder), während zu größeren Abständen hin die Anzahl der Chlorophylle pro radialem Abstand relativ konstant bleibt. Die Anordnung in zwei Schichten erinnert an die beiden Chlorophyllschichten im LHC II aus höheren Pflanzen (Kühlbrandt *et al.*, 1994). Sind die LHCs in höheren Pflanzen wie vermutet an der Peripherie des Komplexes angefügt, so ergibt sich eine durchgehende Anordnung der Chlorophylle in zwei Schichten, die den schnellen Excitonenenergietransfer vom LHC bis zum P700 ermöglicht.

Die elf nicht von PsaA und PsaB ligandierten Chlorophylle werden an der Peripherie des Komplexes von den kleinen Untereinheiten gebunden (farblich markiert in Abbildung 10.1a und Abbildung 10.1b). An der von der Trimerisierungsdomäne abgewandten Seite werden drei Chlorophylle (**aC-J1** bis **aC-J3**) von PsaJ und eines von PsaX (**aC-X1**) ligandiert. An der gegenüberliegenden Seite (Trimerisierungsdomäne) werden drei Chlorophylle (**aC-L1** bis **aC-L3**) von PsaL koordiniert und eines von PsaM (**aC-M1**). Der fünfte Ligand des von PsaM koordinierten Chlorophylls scheint ein Wassermolekül zu sein, welches wiederum von ArgM24 koordiniert wird. Dieses Chlorophyll nimmt eine Sonderstellung ein, da die ihm nächsten Chlorophylle (ca. 14 \AA entfernt) zu einem benachbarten PS I-Monomer gehören.

Die beiden Chlorophylle aC-A40 und aC-B39 nehmen vermutlich ebenfalls eine Sonderstellung in der Antenne ein. Es sind dies die beiden sog. „connecting“ Chlorophylle (Schubert *et al.*, 1997). Sie zeichnen sich durch ihre besondere Nähe zum ETS aus. Der Abstand von aC-A40 zu eC-A3 beträgt $12,7 \text{ \AA}$, der von aC-B39 zu eC-B3 $10,8 \text{ \AA}$. Ihre besondere Lage läßt sie für den Transfer von Excitonen vom Antennensystem zum ETS in Betracht kommen (s. Abschnitt 10.3).

10.1.1 Die langwelligen (roten) Chlorophylle

Sowohl pflanzliches als auch cyanobakterielles PS I enthalten in geringer Anzahl sog. langwellige (rote) Chlorophylle. Diese Chlorophylle zeichnen sich dadurch aus, daß ihre Absorptionsspektren gegenüber dem des P700 weiter in den roten Spektralbereich verschoben sind. Damit liegen diese Chlorophylle energetisch niedriger als der primäre Donor, und die Anregungsenergie, einmal auf diese Chlorophylle gelangt, muß von diesen aus energetisch aufwärts zum P700 transportiert werden, um die Ladungstrennung zu ermöglichen. Bei Raumtemperatur ist die thermische Energie jedoch groß genug, um einen derartigen Energietransfer zu begünstigen. Bei tieferen Temperaturen ist dieser Anregungsenergie-transfer hingegen nicht mehr (vollständig) möglich, und die roten Chlorophylle zeigen statt dessen eine ausgeprägte Fluoreszenz, über die die spektroskopischen Eigenschaften detektierbar sind.

Es existieren verschiedene Vorstellungen über die biologische Funktion der roten Chlorophylle. Zum einen könnten sie dazu dienen, den Einfangsquerschnitt für Lichtenergie im roten Spektralbereich zu erhöhen (Trissl, 1993). Andere Vorstellungen gehen davon aus, daß die roten Chlorophylle benötigt werden, um die Anregungsenergie am primären Donor zu konzentrieren (van Grondelle *et al.*, 1994). Wichtig ist jedoch, daß unabhängig von den kinetischen Vorstellungen über den Energietransfer eine Modellierung desselben ohne die roten Chlorophylle nicht möglich ist.

Die Anzahl und die spektralen Eigenschaften der roten Chlorophylle variieren stark von Organismus zu Organismus und sind ferner abhängig davon, ob das PS I als monomerer oder trimerer Komplex vorliegt.

Die langwelligste Verschiebung der roten Absorption findet man mit 738 nm (Fluoreszenz bei 760 nm) in PS I-Trimeren aus *Spirulina platensis* (Shubin *et al.*, 1995) (Übersichtsartikel zu diesem Organismus siehe (Karapetyan *et al.*, 1999a)). Dieser Organismus enthält außerdem noch drei weitere rote Chlorophyllformen, die Licht kürzerer Wellenlänge absorbieren.

In *Synechocystis* PCC6803 hingegen findet sich wahrscheinlich nur ein bei 708 nm absorbierendes (vermutlich excitonisch gekoppeltes) Chlorophyll-Dimer pro P700 (Gobets *et al.*, 1994).

Im trimeren PS I aus *Synechococcus el.* legt die Dekonvolution der bei 5 K gemessenen Spektren die Existenz von fünf bis sechs roten Chlorophyllen pro P700 nahe, die bei 708 nm absorbieren (C-708) und von vier bis fünf Chlorophyllen pro P700, die bei 719 nm absorbieren (C-719) (Pålsson *et al.*, 1996). Im monomeren Komplex liegen bei

der gleichen Zahl von C-708 Chlorophyllen nur noch zwei C-719 Chlorophylle pro P700 vor (Pålsson *et al.*, 1998). Ein anderes Ergebnis zeigt, daß in monomere Komplexe ausbildenden PsaL-Deletions Mutanten aus *Syn. el.* zwei der C-719 Chlorophylle gegenüber den trimeren Komplexen fehlen (Fleming, 1996). Die geringere Anzahl an langwelligen Chlorophyllen in der monomeren Form könnte ihre Ursache sowohl in einem Verlust von Chlorophyll-Molekülen als auch in einer lokalen Veränderung der Umgebung haben.

Eine wichtige Einschränkung hinsichtlich der Position der roten Chlorophylle ergibt sich aus Mutationsstudien an *Synechocystis sp.* PCC6803 (Soukoulis *et al.*, 1999). Diese zeigen, daß die roten Chlorophylle dieses Organismus von keiner der peripheren Untereinheiten gebunden werden.

Wie bei den Kofaktoren des ETS, besteht auch bei der Identifikation der roten Antennenchlorophylle das Problem, daß die spektroskopischen Eigenschaften der Chlorophylle nicht direkt aus der Struktur ableitbar sind. Dennoch gibt es in der Literatur Hinweise auf Ursachen, die eine Rotverschiebung der Absorptionsmaxima auslösen könnte.

Theoretische Berechnungen ergaben, daß sich das Absorptionsmaximum der Q_Y Bande bei Positionierung einer positiven Ladung oberhalb von Ring I des Chlorinsystemes oder einer negativen Ladung oberhalb von Ring III in den roten Bereich verschiebt (bis zu 740 cm^{-1}) (Eccles & Honig, 1983). Für entgegengesetzte Ladungen gilt das Umgekehrte. Jedoch nicht nur Ladungen, sondern auch die Dielektrizitätskonstante der lokalen Umgebung kann einen Einfluß auf die spektroskopischen Eigenschaften haben (Altmann *et al.*, 1992). Aus anderen Berechnungen geht hervor, daß die Planarität des Chlorinsystems einen großen Einfluß auf die spektroskopischen Eigenschaften haben kann. So lassen sich je nach Krümmung des Ringsystems Rotverschiebungen von bis zu 1200 cm^{-1} erreichen (Barkigia *et al.*, 1988). Auch die Orientierung der Vinylgruppe an C3 des Porphyrins kann einen Einfluß auf die spektralen Eigenschaften haben (Hanson, 1990).

Wie bereits in der Einleitung angedeutet, kommt es im Falle zweier stark excitonisch gekoppelter Chromophore zu einer Aufspaltung der Absorptionsbanden. Die Verschiebung der Absorption (in Wellenzahlen) kann durch Formel 10.15 beschrieben werden (Kasha, 1963):

$$J_{\pm} = 5.04 \frac{\mu^2}{R^3} \kappa \quad (10.15)$$

Die Dipolstärke μ^2 ist in D^2 einzusetzen und der Zentrenabstand R zwischen den Chromophoren in nm, damit ergibt sich für J die Einheit cm^{-1} . Der Orientierungsfaktor κ ist dimensionslos und entspricht Gleichung 10.13. Die beiden neuen excitonischen Absorptionsbanden sind um $+J$ und $-J$ gegen die Wellenzahl der Absorptionsbande des ungekoppel-

ten Chromophors verschoben. Allerdings ist es schwierig, eine Aussage über die absoluten Lagen der tatsächlich aus der Aufspaltung resultierenden Absorptionsbanden zu treffen, da die Wellenlänge der Absorption des ungekoppelten Chromophors nicht bestimmt werden kann. Daher werden im folgenden nur die relativen Aufspaltungen diskutiert. Für die Berechnung der excitonischen Aufspaltungen wurde eine Dipolstärke von $16,7 \text{ D}^2$ angenommen (Webber *et al.*, 1993).

Die Stärke der Absorptionsbanden wird durch Gleichung 10.16 beschrieben und deren Verhältnis durch Gleichung 10.17 gegeben.

$$A_{\pm} = \mu^2(1 \pm \cos\alpha) \quad (10.16)$$

$$A_+/A_- = \cot^2(\alpha/2) \quad (10.17)$$

α beschreibt den Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten der beiden Chromophore. Die Größe der excitonischen Aufspaltung ist jedoch nicht immer ausreichend, um die starke Rotverschiebung einiger Chlorophylle zu erklären. Daher kann man für einige nahe beieinander liegende Chlorophylle annehmen, daß es zusätzlich zu einer Wechselwirkung der π -Orbitale zwischen den beiden Chlorophyllen kommt, die die Rotverschiebung noch weiter verstärkt.

Analysiert man das Strukturmodell in Hinblick auf die oben vorgestellten Ursachen für eine Rotverschiebung, so findet man einige potentielle Kandidaten für rote Chlorophylle.

Die excitonisch gekoppelten Chlorophylle

Errechnet man nach Gleichung 10.15 die excitonische Aufspaltung von Chlorophyll-Paaren, so findet man einige stark gekoppelte Paare. Abbildung 10.3 auf Seite 184 zeigt die excitonisch gekoppelten Chlorophylle.

Am auffälligsten ist ein Trimer von Chlorophyllen (aC-B31, aC-B32, aC-B33) an der Peripherie des Proteins, das nur von der Untereinheit PsaB umgeben ist und auf der der Trimerisierungsdomäne abgewandten Seite von Untereinheit PsaX von der Lipidmembran abgeschirmt wird (s. Abbildung 10.2). Auf den stark unterschiedlichen Sekundärstrukturverlauf in der äquivalenten Region von PsaA wurde bereits in Kapitel 6.1 eingegangen. Es sei jedoch noch einmal betont, daß sich an der Spitze der Schlaufe von ProB493 bis GlyB496 PsaB eine Insertion befindet, die nur in *Syn. el.* vorhanden ist. Das innerste (in Bezug auf die zweizählige Pseudosymmetrieachse) Chlorophyll aC-B31 wird von HisB470 axial ligandiert. Die Position und Orientierung der beiden anderen Chlorophylle ergibt sich annähernd aus einer zweifach angewandten Translation von aC-B31. Somit sind die

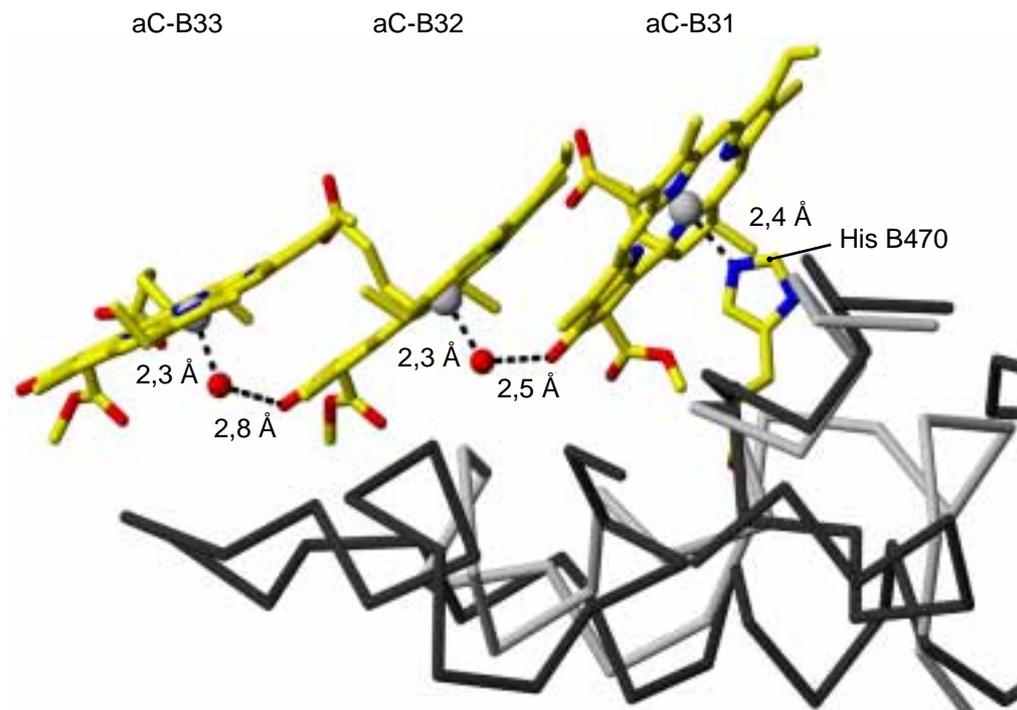


Abbildung 10.2: Das Trimer von Chlorophyllen, ausgebildet von aC-B31, aC-B32 und aC-B33. Unterhalb der Chlorophylle ist der Hauptkettenverlauf der, gemäß der pseudozweizähligen Symmetrie überlagerten Untereinheiten PsaA (grau) und PsaB (schwarz) eingezeichnet. Deutlich zu erkennen ist die Insertion in PsaB gegenüber PsaA.

Porphyrringebenen und damit auch die Übergangsdipolmomente ungefähr parallel zueinander ausgerichtet.

Die Zentrenabstände zwischen aC-B31 und aC-B32 bzw. aC-B32 und aC-B33 betragen 8,26 Å bzw. 8,15 Å. Die entsprechenden Ebenenabstände belaufen sich auf 3,5 Å bzw. 3,7 Å. Diese kurzen Abstände sorgen dafür, daß Ring I eines Chlorophylls mit den Ringen III und V des nächsten Chlorophylls überlappt und dadurch eine Orbitalwechselwirkung ermöglicht wird.

Zwischen den Chlorophyllen aC-B31 und aC-B32, sowie aC-B32 und aC-B33 befindet sich jeweils ein Wassermolekül. Diese Wassermoleküle stellen den axialen Liganden für die Mg^{2+} -Ionen der Chlorophylle aC-B32 und aC-B33. Gleichzeitig bilden sie jedoch auch eine Wasserstoffbrückenbindung mit der Carbonylgruppe an C-13¹ des jeweils in der Translationssequenz vorhergehenden Chlorophylls aus.

Das Strukturelement eines Chlorophyll-Trimers findet sich auch in der Kristallstruktur des Ethylchlorophyllids (Kratky & Dunitz, 1977) wieder. Die Ähnlichkeit bezieht sich nicht nur auf die Orientierung der Chlorophylle, sondern auch auf das Muster der Wasserstoffbrückenbindungen der Wassermoleküle zu den Chlorophyllen. Die strukturelle Ähn-

lichkeit zwischen den Stapeln in Ethylchlorophyllid-Kristallen und dem Chlorophylltrimer läßt auch eine Ähnlichkeit in den spektroskopischen Eigenschaften möglich erscheinen. Absorptionmessungen an Ethylchlorophyllid-Kristallen zeigten mit einem Absorptionsmaximum bei 740 nm eine große bathochrome Verschiebung der Absorption gegenüber einer Lösung von Ethylchlorophyllid (Kratky & Dunitz, 1977). Damit kommt auch das Chlorophylltrimer für eine stark rotverschobene Absorption in Betracht.

Errechnet man paarweise die excitonische Aufspaltung zwischen den Chlorophyllen aC-B31 und aC-B32 sowie aC-B32 und aC-B33, so ergeben sich mit 225 cm^{-1} und 200 cm^{-1} die größte und drittgrößte Aufspaltung (nach der von P700). Auch im Falle der Ethylchlorophyllid-Kristalle ergab eine Berechnung der excitonischen Kopplung eine viel zu geringe Rotverschiebung der Absorption. Daraus folgt, daß die excitonische Kopplung nicht allein als Ursache für die Rotverschiebung in Frage kommt. Diese Diskrepanz kann ihre Ursache darin haben, daß aufgrund der Nähe der Porphyrinsysteme die π - π^* Wechselwirkung der Molekülorbitale eine große Rolle spielt und somit die einfache Excitonentheorie keine richtigen Aussagen mehr erlaubt (Kratky & Dunitz, 1977).

Betrachtet man desweiteren zum einen die o.g. Insertion von vier Aminosäuren in PsaB aus *Syn. el.* gegenüber *Synechocystis* PCC6803 und zum anderen, daß *Synechocystis* PCC6803 keine bei 719 nm absorbierende Chlorophylle besitzt, so kommt das Chlorophyll-Trimer als potentiell bei 719 nm absorbierendes Pigment in Frage. Desweiteren befindet sich neben dem Chlorophyll-Trimer die Untereinheit PsaX, die zu einer weiteren Stabilisierung des Trimers beitragen kann. Nach dem derzeitigen Kenntnisstand existiert PsaX in *Synechocystis* PCC6803 nicht. Demnach könnte auch ein Zusammenhang zwischen dem Fehlen von PsaX und dem Fehlen der 719 nm Chlorophylle in diesem Organismus bestehen.

Die Lage dieser Chlorophylle nahe der Grenze zwischen zwei Monomeren läßt es möglich erscheinen, daß die Chlorophylle beim Übergang von trimeren zu monomeren Komplexen leichter herausgelöst werden können, was die geringere Anzahl an 719 nm Chlorophyllen in monomeren Komplexen (Pålsson *et al.*, 1998) erklären würde. Dagegen spricht jedoch, daß diese Chlorophylle auch im trimeren Komplex gut zugänglich sind. In der Trimerisierungsdomäne des Komplexes findet sich aber noch ein stark excitonisch gekoppeltes Dimer (s. u.). Ein Herauslösen dieser Chlorophylle würde die spektroskopischen Ergebnisse (Pålsson *et al.*, 1998) ebenso erklären. Das Trimer könnte dann für die verbleibende rote Absorption von zwei bis drei roten Chlorophyllen im Monomer verantwortlich sein.

Neben dem Chlorophyll-Trimer befinden sich in der Struktur außerdem noch neun wei-

tere Paare von Chlorophyllen, für die man nach Gleichung 10.15 eine ausgeprägte excitonische Kopplung errechnen kann. Diese sind in Abbildung 10.3 gezeigt. Details zu den Paaren finden sich in Tabelle 10.3

Tabelle 10.3: Paare von Antennenchlorophyllen, deren excitonische Aufspaltung J mehr als 130 cm^{-1} beträgt. Angegeben sind die excitonische Aufspaltung J und der Zentrenabstand D zwischen beiden Chlorophyllen. In der Zeile Karotin sind die Karotine in der Nähe ($\leq 3,6 \text{ \AA}$) der Chlorophylle angegeben. Karotine in Klammern liegen in einem Abstand von $\leq 6,0 \text{ \AA}$ entfernt.

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Chl1	A12	A32	B37	A10	B17	A27	B24	A34	A39
Chl2	A14	B7	B38	A18	B9	A26	B25	A33	A38
J (cm^{-1})	199,77	185,92	177,23	163,38	149,90	147,82	145,53	137,27	136,80
D (\AA)	8,4	8,9	7,58	9,06	8,85	8,55	8,34	9,95	8,22
Karotin	2	18,20	(17)	(1)	(4)	3	5	8	(14)

Natürlich lassen sich außerdem noch die Kopplungen zwischen beliebigen anderen Paaren von Chlorophyllen errechnen; die in Tabelle 10.3 aufgelisteten Paare besitzen jedoch die stärksten Kopplungen. Als willkürliches Ausschlußkriterium wurde hierfür eine Aufspaltung von $J < 130 \text{ cm}^{-1}$ festgelegt.

Fast alle vermutlich excitonisch gekoppelten Chlorophyll-Dimere sind annähernd symmetrisch zueinander um die zweizählige Pseudosymmetrieachse herum angeordnet. So stehen auf der stromalen Seite die Dimere 3 und 9 und die Dimere 4 und 5 über die zweizählige Symmetrie in Beziehung. Auf der lumenalen Seite gilt dies für die Dimere 6 und 7. Zum Dimer 1 gibt es auf der anderen Seite des Komplexes keine Entsprechung, da das zu HisA240 äquivalente HisB217 kein Chlorophyll koordiniert. Die Faltung der Proteine ist in diesen Regionen jedoch sehr unterschiedlich in PsaA und PsaB, so daß dadurch vermutlich die Bindung eines aC-A14 entsprechenden Chlorophylls von PsaB durch sterische Hinderung verhindert wird. Das zu Dimer 2 äquivalente Dimer existiert zwar, zeigt aber mit 91 cm^{-1} nur eine ca. halb so große excitonische Aufspaltung wie Dimer 2. Wendet man auf Dimer 8 die zweizählige Rotation an, so findet man, daß die Position des einen konstituierenden Chlorophylls (aC-A33) mit der von aC-B31 des Chlorophyll-Trimers zusammenfällt. Die jeweils das Chlorophyll koordinierenden Histidine (HisA494 und HisB470) sind auch in der Sequenz konserviert. Während jedoch in dieser Region von PsaB das Chlorophyll-Trimer ausgebildet wird (s. o.), wird in der Nähe von PsaA nur ein

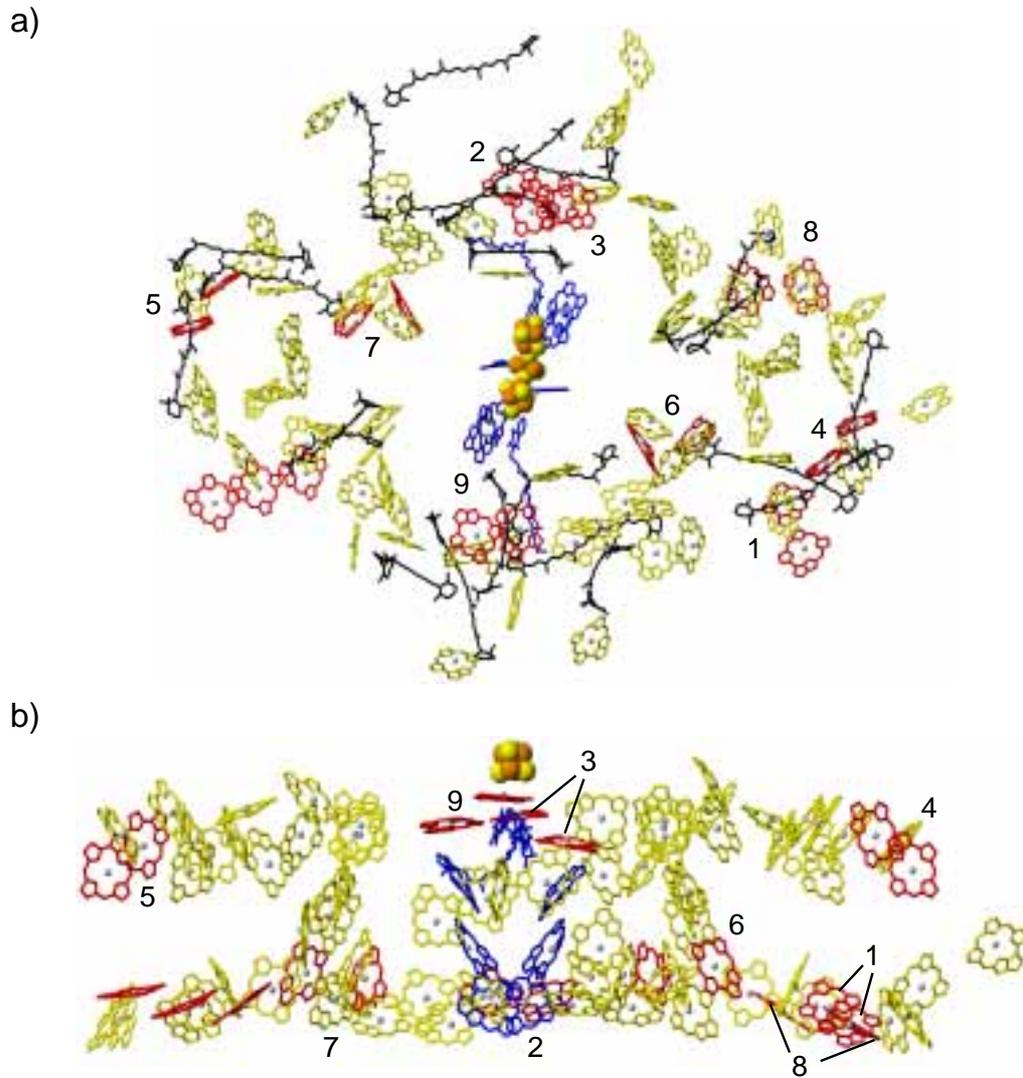


Abbildung 10.3: Die excitonisch gekoppelten Chlorophylle des Antennensystems. In rot eingezeichnet sind das Chlorophyll-Trimer sowie die neun am stärksten excitonisch gekoppelten Chlorophylle des Antennensystems. Details der Chlorophyll-Paare finden sich Tabelle 10.3. **a)** Blickrichtung parallel zur Membrannormalen. **b)** Blickrichtung entlang der Membranebene 90° gegenüber a) gedreht.

Dimer ausgebildet, dessen zweites Chlorophyll vom Sauerstoff des Proteinrückgrates von ThrA501 koordiniert wird.

Auf die strukturellen Details von drei der excitonisch gekoppelten Chlorophyllpaare soll im folgenden näher eingegangen werden. Es sind dies die Dimere 2, 3 und 9.

Dimer 2 ist das Dimer mit der zweithöchsten excitonischen Kopplung. Es liegt auf der lumenalen Seite des Komplexes in direkter Nähe zur Trimerisierungsdomäne. Die Abbildungen 10.4a,b zeigen die Umgebung von Dimer 2.

Das Chlorophyll aC-A32 wird von Histidin A461 axial koordiniert, das Chlorophyll aC-B7 von Glutamin B94. Die Nähe zum C-Terminus von PsaL eines anderen direkt benachbarten PS I Monomers (grau in Abbildung 10.4a,b) macht es möglich, daß sich die Faltung des Proteins in dieser Region und/oder die Solvenz Zugänglichkeit der Chlorophylle beim Übergang vom monomeren in den trimeren Komplex ändert. Damit wäre dieses Dimer ein besser geeigneter Kandidat für die langwelligen Chlorophylle, die beim Monomer-Trimer Übergang verloren gehen als das Chl*a*-Trimer. Analog zum Chlorophyll-Trimer müssen allerdings auch hier weitere Faktoren neben der excitonischen Kopplung für die Rotverschiebung in Betracht gezogen werden, da diese allein die Absorption bei 719 nm nicht erklären kann. Auch hier kommt wegen der Nähe der beiden Chlorophylle eine π - π -Wechselwirkung in Betracht.

Ein weiteres Indiz für die Absorption bei 719 nm wäre das Vorhandensein eines Sequenzunterschieds in der Nähe der Chlorophylle zwischen *Syn. el.* und *Synechocystis* PCC68003, da letzterer Organismus keine derart langwelligen Chlorophylle besitzt (s. o.). Ein Vergleich der Primärstruktur zeigt, daß die Sequenzen von PsaA und PsaB in dieser Stelle nahezu identisch sind. Allerdings findet sich in *Synechocystis* an der Position B94 (axialer Ligand für aC-B7) ein Histidin anstelle des Glutamins. Ob die Änderung des axialen Liganden für die Änderung der spektroskopischen Eigenschaften verantwortlich ist, kann nicht entschieden werden. Denkbar wäre jedoch, daß sich wegen der unterschiedlichen Liganden die Chlorophylle leicht gegeneinander verschieben, was zu anderen spektralen Eigenschaften führen kann.

Ein größerer Sequenzunterschied findet sich an Position B97, dort befindet sich in *Syn. el.* ein Lysin und in *Synechocystis* ein Glutamat. Obwohl es mit einem Abstand von ca. 10,0 Å weit von aC-B7 entfernt ist, kann es dennoch einen Einfluß auf die Eigenschaften des Chlorophylls haben. Nicht zuletzt, da es sich in der Nähe des vermutlichen zweifach geladenen Metallions an der Trimerisierungsdomäne befindet (s. Abschnitt 7.9.3) und so sicherlich einen Einfluß auf die Struktur in dieser Region hat.

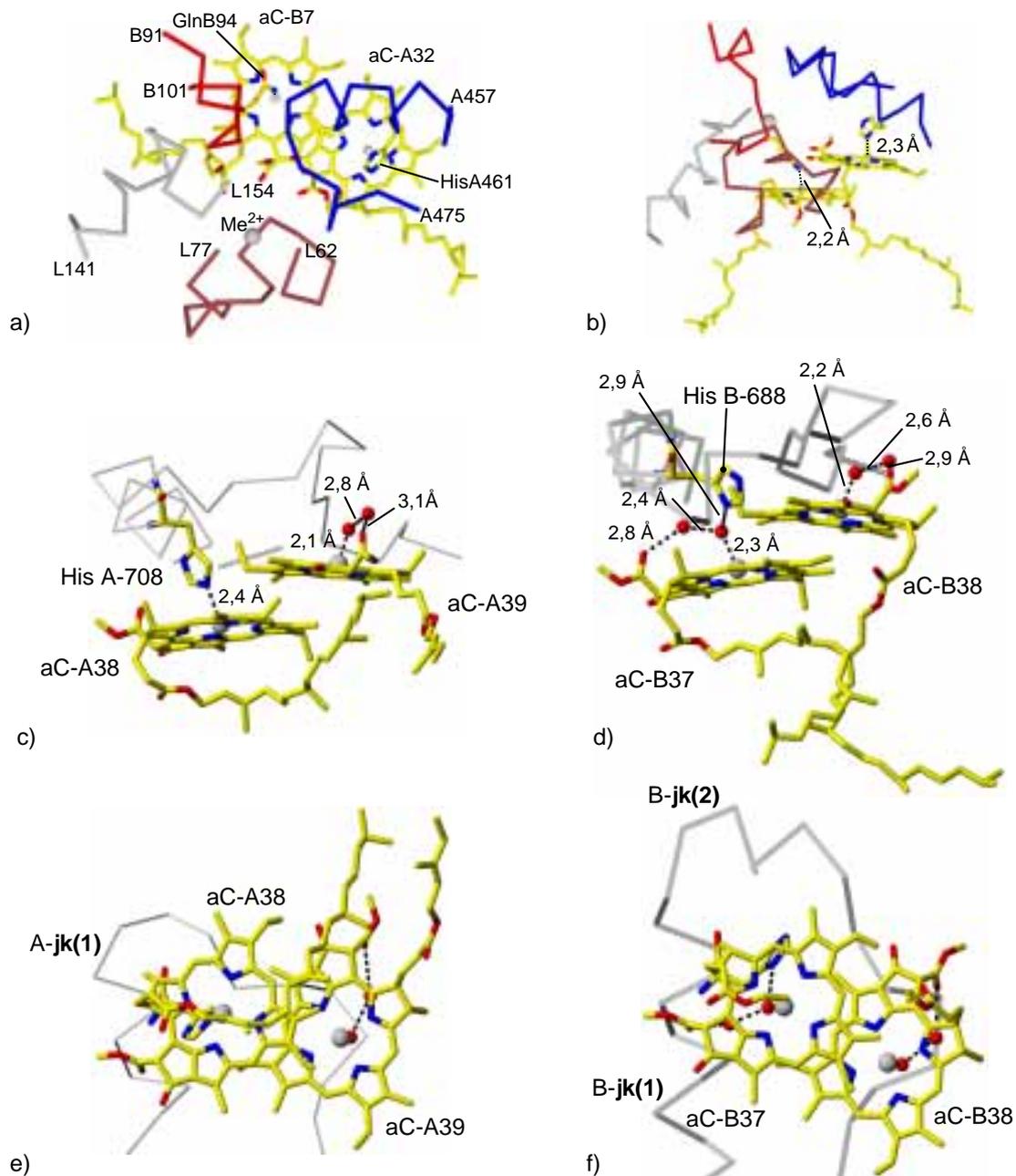


Abbildung 10.4: Die drei Chlorophyll-Dimere 2 (a,b)); 9(c, e)) und 3 (d, f)). a), e) und f): Blick entlang der Membrannormalen auf die Dimere. b), c) und d): Blickrichtung um 90° gegen a), e) und f) gedreht. a), b): Der Verlauf der Hauptkette von PsaL eines benachbarten Monomers ist in grau eingezeichnet. Das zwischen zwei Monomeren gebundene vermutliche Metallion (s. Abschnitt 7.9.3) ist als graue Kugel (Me²⁺) eingezeichnet.

Es gibt jedoch auch Argumente gegen diese Zuordnung der 719 nm Absorption. Ähnlich wie die Dimere 3 und 9 ist das Dimer 2 mit der Ringnormalen parallel zur Membrannormalen orientiert. Damit treffen für Dimer 2 z. T. die gleichen Argumente zu, die eine Zuordnung der Dimere 3 und 9 zu den bei 708 nm absorbierenden Chlorophyllen erlauben (s. u., (van der Lee *et al.*, 1993)).

Die große Nähe der Dimere 3 und 9 zu den „connecting“ Chlorophyllen (s. Abbildung 10.1) läßt eine besondere Funktion möglich erscheinen, da die Dimere als bathochrom verschobene Pigmente den Excitonttransfer auf die „connecting“ Chlorophylle und auf die ETK begünstigen könnten.

Das Chlorophyllpaar aC-B37/aC-B38 (Dimer 3) wird von PsaB koordiniert und liegt nahe den Helices B-**jk(1)** und B-**jk(2)**. Mit einem Zentrenabstand von 7,6 Å sind dies die am nächsten beieinander liegenden Chlorophylle des Antennensystems. Die Porphyrinebenen beider Chlorophylle sind annähernd parallel zur Membran ausgerichtet und kommen sich mit einem Ebenenabstand von 3,5 Å nahe genug, um eine π - π -Wechselwirkung auszubilden. Aufgrund ihrer starken excitonischen Kopplung (s. o.) könnten diese beiden Chlorophylle dem bei 708 nm absorbierenden Paar (Gobets *et al.*, 1994) in PS I aus *Synechocystis* PCC6803 entsprechen. Für diese Chlorophylle konnte gezeigt werden, daß ihre Q_y Übergangsdipolmomente parallel zur Membranoberfläche ausgerichtet sind (van der Lee *et al.*, 1993). Dies korrespondiert mit der membranparallelen Ausrichtung der beiden Chlorophylle.

Das von PsaA koordinierte Paar aC-A38/aC-A39 (Dimer 9) steht ungefähr über die zweizählige Pseudosymmetrieachse mit dem von PsaB koordinierten Dimer 3 in Beziehung und liegt somit nahe der Helix A-**jk(1)**. Sowohl die Position als auch die interne Geometrie des Dimers 9 ist dem von PsaB koordinierten Dimer 3 ähnlich, zeigt aber einige interessante Unterschiede.

So ist der Zentrenabstand der beiden Chlorophylle mit 8,2 Å in Dimer 9 größer als in Dimer 3 (7,6 Å) und führt zu einer schwächeren excitonischen Kopplung (s. Tabelle 10.3). Jeweils eines der beiden Chlorophylle der beiden Dimere wird über ein zwischen den Untereinheiten PsaA und PsaB sowie zwischen allen untersuchten Organismen konserviertes Histidin koordiniert. Während jedoch Histidin A708 direkt das Mg^{2+} -Ion von aC-A38 ligandiert, bildet Histidin B688 eine Wasserstoffbrückenbindung zu einem Wassermolekül aus, welches den axialen Liganden für das Mg^{2+} -Ion von aC-B37 bildet. Zwischen diesem Wassermolekül und der Methylestergruppe an C13² von aC-B37 befindet sich ein weiteres Wassermolekül, das Wasserstoffbrückenbindungen zu beiden Partnern ausbilden kann.

Die Bindungsverhältnisse an den jeweils zweiten Chlorophyllen der beiden Paare (aC-A39, aC-B38) entsprechen dem an aC-B37, d. h., ein Wassermolekül bildet den axialen Ligan den und ein weiteres Wassermolekül kann eine Wasserstoffbrücke zur Methylestergruppe an C13² ausbilden. Im Hinblick auf die Umgebung durch die Wassermoleküle ist also das Paar 3 symmetrischer aufgebaut als das Paar 9. Ein Vergleich der Primär- und Sekun därstruktur in dieser Region zeigt, daß die Hauptketten in der Region von Aminosäure B691 bis B700 in PsaA und PsaB unterschiedlich verlaufen und in PsaB vier Aminosäuren (B696-B699) gegenüber PsaA inseriert sind. Dies führt zu einer leicht geänderten Geo metrie und Orientierung der beiden Histidine und eröffnet in PsaB die Möglichkeit zur Ausbildung einer kleinen Bindungstasche für die zusätzlichen Wassermoleküle. Aufgrund der annähernd gleichen Umgebung der beiden Chlorophylle des Paares 3 werden diese auch in Bezug auf ihre Orbitalenergien ähnlich sein. Deshalb sollte auch die Energieände rung bei Wechselwirkung der π -Orbitale in diesem Dimer größer sein als in Dimer 9, was zu unterschiedlichen spektroskopischen Eigenschaften der beiden Dimers führen kann.

Auf die mögliche Funktion der beiden Dimere beim Excitonentransfer zum P700 wird in Abschnitt 10.3 näher eingegangen. Abschließend bleibt jedoch festzustellen, daß auch Simulationen von optischen Spektren eine Position der bei 708 nm absorbierenden Chloro phylle in der Nähe der „connecting“ Chlorophylle favorisieren (Byrdin *et al.*, 2000). In der gleichen Untersuchung werden die bei 719 nm absorbierenden Chlorophylle in der Nähe der Trimerisierungsdomäne an der Peripherie des Komplexes positioniert. Der Abstand der 719 nm Chlorophylle zum P700 wurde mit $\approx 35 \text{ \AA}$ angegeben. Dies sollte mit dem aus der Struktur bestimmten Abstand von $\approx 27 \text{ \AA}$ vom Dimer 2 zum P700 kompatibel sein. Das Chlorophyll-Trimer wäre zwar ebenfalls nur ca. 31 \AA vom P700 entfernt, liegt jedoch nicht nahe an der Trimerisierungsdomäne. Damit ergibt eine Zuordnung von Dimer 2 zu den 719 nm Chlorophyllen und die Zuordnung der Dimere 3 und 9 zu den 708 nm Chlorophyllen ein konsistentes Bild.

Andere mögliche spektral verschobene Chlorophylle

Die Zuordnung einer spektralen Verschiebung der Absorptionsspektren der Chlorophylle aufgrund der anderen o. g. Ursachen ist schwierig. So ist z. B. die Bestimmung der Ringkrümmung bei der gegebenen Auflösung mit großen Unsicherheiten behaftet, wes halb auf diesen Parameter nicht weiter eingegangen werden soll. Ähnlich schwierig ist die Festlegung des Einflusses geladener Aminosäuren. Da die Ladungen zum einen über einen weiten Raum wirken können und zum anderen nur schwer entschieden werden kann, ob eine Aminosäure geladen vorliegt, kann man leicht einer Fehlinterpretation erliegen.

Dennoch soll auf einige Antennenchlorophylle hingewiesen werden, in deren Nähe sich potentiell geladene Aminosäuren befinden. Es sind dies die Chlorophylle aC-J2, aC-L1, aC-M1 und aC-PL1.

Das Chlorophyll aC-J1 wird von Glutamat J28 koordiniert. In einem Abstand von 2.8 Å befindet sich ArgJ31, was auf ein deprotoniertes Glutamat schließen läßt. Aufgrund der Nähe zweier entgegengesetzter Ladungen ist nur schwer zu entscheiden, welche Ladung effektiv auf das Chlorophyll wirkt. Daher ist auch über eine mögliche elektrochrome Verschiebung keine Aussage zu treffen.

Das Antennenchlorophyll aC-L1 wird von Glutamat L49 axial ligandiert. Das Glutamat bildet vermutlich eine Salzbrücke mit Arginin L38 aus, und wird deshalb deprotoniert vorliegen. Das Arginin befindet sich näher an Ring II, als an Ring III des Porphyrins. Der elektrochrome Effekt auf die Q_Y -Bande wird deshalb gering ausfallen. Sollte die Ladung dennoch Auswirkungen auf das Spektrum haben, so wird es sich um eine Blauverschiebung handeln, da die positive Ladung Näher an Ring III als an Ring I liegt. Die Guadiningruppe des Arginins ist parallel zur Porphyrinebene ausgerichtet, wodurch eine π - π Wechselwirkung mit dem Porphyrinring möglich wird. Über die Auswirkungen dieser Wechselwirkung auf das Spektrum kann allerdings keine Aussage getroffen werden.

3,4 Å von aC-M1 entfernt befindet sich Arginin M24. Die Guadiningruppe liegt oberhalb von Ring III des Porphyrins, wodurch eine Blauverschiebung des Absorptionsspektrums hervorgerufen werden kann.

Die beiden Chlorophylle aC-L1 und aC-M1 sind die einzigen von peripheren Untereinheiten koordinierten Chlorophylle, für die sich potentielle Einflüsse auf die Absorptionsspektren finden lassen. Alle Anzeichen deuten darauf hin, daß deren Absorptionen eher in den blauen, als in den roten Spektralbereich verschoben sind. Diese Interpretation deckt sich mit biochemischen Ergebnissen, nach denen die peripheren Untereinheiten keine langwellig verschobenen Chlorophylle ligandieren sollen (Soukoulis *et al.*, 1999). Interessant ist die Umgebung des Chlorophylls aC-PL1. Es wird axial von der negativ geladenen Phosphat Kopfgruppe des Lipids III (PG) ligandiert. Da sich die Ladung zentral über dem Porphyrinring befindet wird, sie keine Auswirkung auf das Absorptionsspektrum haben. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß die Dielektrizitätskonstante in der Umgebung durch die Kopfgruppe beeinflußt wird und damit Auswirkungen auf die spektralen Eigenschaften von aC-PL1 hat.

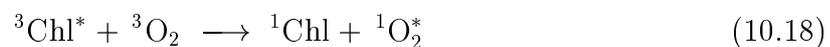
10.2 Die Karotinoide

Neben den Chlorophyllen des Antennensystem konnten in der Elektronendichteverteilung erstmals auch Bereiche modelliert werden, die Karotinoiden entsprechen. Aufgrund der Auflösung von $2,5 \text{ \AA}$ kann allerdings über die Struktur der Kopfgruppe keine genaue Aussage getroffen werden. Vermutlich besitzen jedoch alle Karotinoide an beiden Enden einen Sechsring. Die Modellierung der Substituenten an diesen Ringen ist hingegen mit Unsicherheiten behaftet. Dies trifft insbesondere auf die Unterscheidung zwischen β -Karotin und Zeaxanthin (zusätzliche Hydroxylgruppe an C3 und C3') zu. Daher wurden alle Karotinoide als β -Karotin Moleküle modelliert. Diese Annahme wird durch biochemische Untersuchungen gestützt, die zeigen, daß PS I hauptsächlich β -Karotine enthält (Coufal *et al.*, 1989; Makewicz *et al.*, 1994; Makewicz *et al.*, 1996).

Karotine erfüllen in Photosystemen hauptsächlich zwei Funktionen. Zum einen dienen sie als zusätzliche Pigmente für den Einfang von Licht und zum anderen schützen sie den Proteinkomplex vor der Beschädigung durch Photooxidation. Beide Prozesse beruhen auf dem Energietransfer nach Dexter, weshalb sich die Karotine immer im van der Waals Abstand zu den anderen am Transfer beteiligten Chlorophyllen befinden sollten.

Die Möglichkeit der Karotine, einen Teil des Antennensystems zu bilden, beruht auf ihrer Eigenschaft, Licht der Wellenlänge 450 nm bis 570 nm zu absorbieren. Nach der Absorption eines Photons kann die Energie auf ein Chlorophyll transferiert werden (${}^1\text{Car}^* + \text{Chl} \rightarrow \text{Car} + {}^1\text{Chl}^*$).

Die Schutzfunktion der Karotine vor Photooxidation beruht auf deren niedrig liegendem Triplettzustand T_0 . Kommt es durch ein sog. Inter System Crossing eines Chlorophylls dazu, das es statt in einem angeregten Singulett- in einem angeregten Triplettzustand vorliegt (${}^1\text{Chl}^* \xrightarrow{\text{ISC}} {}^3\text{Chl}^*$), so besteht die Möglichkeit, das sich gemäß der Reaktion 10.18



Singulett-Sauerstoff (${}^1\text{O}_2$) bildet. Singulett-Sauerstoff ist für die Zellen äußerst toxisch weshalb dessen Bildung durch Schutzmechanismen verhindert werden muß.

In β -Karotin liegt der Triplettzustand T_0 energetisch niedriger, als der Singulettzustand des Sauerstoffs. Wird die Anregungsenergie nach Gleichung 10.19



von Chlorophyll auf ein Karotin übertragen, ist somit der Energietransfer vom Karotinoid

zum Sauerstoff analog zu Gleichung 10.18 unmöglich, da die Energie hierzu nicht ausreicht. Das Karotin führt seine Energie nun in Form von Wärme an die Umgebung ab.

In der Struktur wurden 22 Karotinoidmoleküle gefunden. Diese Zahl steht in Einklang mit spektroskopischen Ergebnissen, die eine Zahl von 20 ± 4 Carotinen vorhersagen (Fleming, 1996).

Von den 22 Karotinen können 17 eindeutig mit einer all-*trans* Konformation modelliert werden. Die fünf anderen besitzen eine oder zwei *cis*-Doppelbindungen. Das Vorliegen einer *cis*-Doppelbindung an einer bestimmten Stelle kann nicht mit letzter Sicherheit bestätigt werden, da bei der gegenwärtigen Auflösung keine Atompositionen erkennbar sind. Vielmehr stützt sich die Modellierung auf den durch die *cis*-Doppelbindung(en) geänderten Verlauf des Karotins insgesamt. Dabei zeigte sich, daß die Elektronendichteverteilungen eindeutig nur durch Einführung von *cis*-Doppelbindungen zwischen verschiedenen Atomen zu erklären waren. Auf diese Weise wurden zwei 9-*cis* und jeweils ein 9,9'-*cis*, 9,13'-*cis* und ein 13-*cis* Karotinoid modelliert. Dies entspricht im Wesentlichen den biochemisch nachgewiesenen Isomeren aus *Synechococcus vulcanus*, mit der Ausnahme, daß in der Struktur kein 15-*cis* Isomer gefunden werden konnte (Ashikawa *et al.*, 1986; Bialek-Bylka *et al.*, 1998).

Die Positionen der Karotine in der Struktur sind in Abbildung 10.5 dargestellt. Die Karotine sind tief in die Membran eingebettet, so daß sie nur in einigen Fällen an die stromale oder lumenale Außenseite heranreichen.

Man kann die Karotine grob in sechs verschiedene Cluster aufteilen. Die insgesamt zehn Karotine der Cluster (1), (2), (3) und (4) sind durch hydrophobe Wechselwirkungen an die beiden Untereinheiten PsaA und PsaB gebunden, wobei Cluster (1) noch einige wenige Wechselwirkungen mit PsaK eingeht. Die Cluster (5) und (6) befinden sich distal und proximal zur dreizähligen Achse des Komplexes, so daß die Karotine nicht nur von PsaA und PsaB, sondern im Falle von Cluster (5) auch von den Untereinheiten PsaF und PsaJ und im Falle von Cluster (6) auch von PsaI, PsaL und PsaM gebunden werden. Die Karotine von Cluster (1) und (3) stehen über die zweizählige Pseudosymmetrieachse ungefähr mit denen der Cluster (2) und (4) in Beziehung. Für die Cluster (5) und (6) ist diese Symmetrie weniger ausgeprägt. Die Symmetrie erstreckt sich ebenfalls nicht auf die verschiedenen *cis*-Isomere der Karotine. Diese sind ungleichmäßig über die Cluster verteilt.

Die **Cluster (1)** und **(2)**, in denen die Karotine Car1 bis Car3 bzw. Car4 bis Car6 zusammengefaßt sind, befinden sich an der Peripherie des Komplexes und werden von

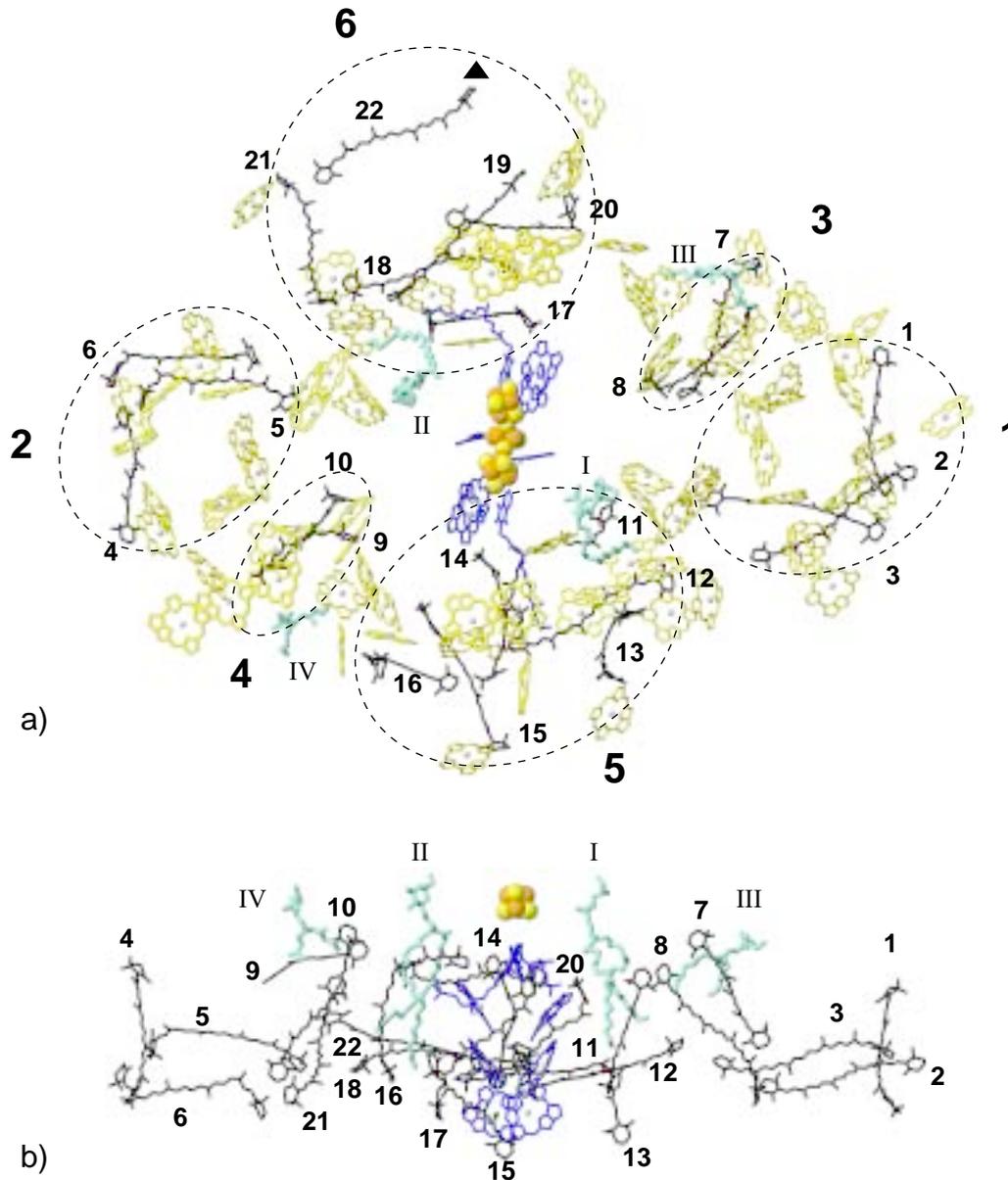


Abbildung 10.5: Die Karotine und Lipide. **a)** Blick entlang der Membrannormalen auf die Kofaktoren des PS I. Die sechs Gruppen der Karotine (schwarz) sind durch unterbrochene Linien markiert. Die Lipide sind Cyan eingefärbt und mit römischen Ziffern von I-IV bezeichnet. Die Antennenchlorophylle sind gelb und die Kofaktoren des ETS mit Ausnahme der [Fe₄S₄]-Cluster blau dargestellt. Die Phyttylketten der Chlorophylle sind aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt. **b)** Ansicht gegenüber a) um 90° gedreht.

den Untereinheiten PsaA (Cluster (1)) und PsaB (Cluster (2)) koordiniert. Zusätzlich steht Car1 mit PsaK in Wechselwirkung. Während alle Karotine in Cluster (1) in einer all-*trans*-Konformation vorliegen, handelt es sich bei den Karotinen Car5 und Car6 um das 9-*cis*-Isomer bzw. das 9,9'-*cis*-Isomer. Das zu Car1 analoge Car4 liegt wie dieses in einer all-*trans*-Konformation vor. Während die Karotine Car1 und Car4 in einem steilen Winkel durch die Membran laufen, sind Car2/Car3 und Car5/Car6 etwa entlang der Membranebene orientiert.

In den **Clustern (3)** und **(4)** befinden sich die Karotine Car7/Car8 und Car9/Car10. Die zweizählige Pseudosymmetrie ist zwischen den von PsaA koordinierten Carotinen Car7/Car8 und den von PsaB koordinierten Karotinen Car9/Car10 deutlich ausgeprägt. Alle vier Karotine liegen als all-*trans*-Isomere vor. Von den Karotinen nimmt Car10 eine Sonderstellung ein, da es sich innerhalb des van der Waals Abstandes zu Chlorophyll aC-B31 befindet, welches zum Chlorophyll-Trimer gehört.

Den **Clustern (5)** und **(6)** sind jeweils sechs Karotine zugeordnet. Die Karotine von Cluster (5) (Car11-Car16) werden von PsaF, PsaJ, PsaA und PsaB koordiniert. Bei Car11 handelt es sich um ein 9,13'-*cis*-Karotin und bei Car16 um ein 13-*cis*-Karotin. Alle anderen sind all-*trans*-Isomere. Die zu Cluster (6) gehörigen Karotine Car17 bis Car22 werden von den Untereinheiten PsaI, PsaL, PsaM und PsaB gebunden und bilden zusätzlich einige wenige hydrophobe Wechselwirkungen mit PsaA aus. Mit Ausnahme von Car20, bei dem es sich um ein 9-*cis*-Isomer handelt, liegen alle Karotine dieses Clusters in einer all-*trans*-Konformation vor.

An dieser Stelle sei nochmals auf die Nähe von Car14 und Car17 zu den beiden Phyllochinonen Q_K-A und Q_K-B hingewiesen, auf die bereits in Abschnitt 9.5 näher eingegangen wurde. In Übereinstimmung mit biochemischen Studien (Takahashi & Kato, 1987; Karapetyan *et al.*, 1999b) finden sich keine Karotine in der Nähe der anderen Kofaktoren der ETK. Nur in der Nähe der „connecting“-Chlorophylle aC-A40 und aC-B39 finden sich die beiden Karotine Car11 respektive Car17. In Tabelle 10.4 sind die Daten für die Karotine noch einmal zusammengefasst.

Welche der in der Einleitung angesprochenen Funktionen nehmen die Karotine im PS I Komplex nun tatsächlich ein? Wie für den Energieaustausch nach dem Dexter-Mechanismus notwendig, befinden sich alle Karotine in einem Abstand von $\leq 3,6 \text{ \AA}$ zum Porphyrinring eines Antennenchlorophylls. Von der anderen Seite aus betrachtet, befinden sich die Porphyrinringe von 61 der 90 Antennenchlorophylle im Kontakt zu Karotinen.

Tabelle 10.4: Die Karotine im PS I Komplex.

Cluster	Karotine	Wechselwirkung	Isomere
1	Car1-Car3	PsaA, PsaK (Car1)	all-trans
2	Car4-Car6	PsaB	all-trans (Car4), 9- <i>cis</i> (Car5), 9,9'- <i>cis</i> (Car6)
3	Car7,Car8	PsaA	all-trans
4	Car9,Car10	PsaB, aC-B31 (Car10)	all-trans
5	Car11-Car16	PsaA, PsaB, PsaF, PsaJ, Q _K -A (Car14), aC-A40 (Car11)	all-trans, 9,13'- <i>cis</i> (Car11), 13'- <i>cis</i> (Car16)
6	Car17-Car22	PsaB, PsaI, PsaL, PsaM, Q _K -B (Car17), aC-B39 (Car17)	all-trans, 9- <i>cis</i> (Car20)

Daher kommt für die Karotine sowohl eine Funktion als zusätzliches Licht sammelndes Pigment als auch eine Funktion als Triplettquencher in Betracht. Daß nur ca. 2/3 der Chlorophylle in direktem Kontakt zu Karotinen stehen, stellt für ein wirkungsvolles Quenching kein Hindernis dar. Da der Triplettzustand der Chlorophylle langlebig ist und über die Chlorophylle transferiert werden kann, ist es für ein wirkungsvolles Quenchen der Triplettzustände nicht zwingend notwendig, daß sich jedes Chlorophyll in Nachbarschaft zu einem Karotin befindet. In PS I scheint also ein Kompromiß aus der Anzahl der Karotine und deren effektivster Nutzung vorzuliegen.

Insbesondere ist interessant, die Nähe der Karotine zu den excitonisch gekoppelten, langwelligen Chlorophyllen zu untersuchen. Da sich die Anregungsenergie auf den roten Chlorophyllen sammeln sollte und von dort aus nur langsam zu anderen Chlorophyllen weitergeleitet wird, ist die Wahrscheinlichkeit eines „Inter System Crossings“ bei diesen Chlorophyllen am größten. Daher sollten sich die Karotine insbesondere in der Nähe dieser Chlorophylle befinden, um die Triplettzustände zu quenchen. In der letzten Zeile von Tabelle 10.3 sind die Karotine in der Nähe dieser Chlorophylle angegeben. Es ist jedoch schwer zu entscheiden, ob die Karotine zufällig in der Nähe dieser Chlorophylle liegen, diese also zu den 2/3 der Chlorophylle gehören, oder ob die Karotine aus funktionellen Gründen dort positioniert sind. Aufgrund von Untersuchungen an Antennenkomplexen (Bialek-Bylka *et al.*, 1998) sowie theoretischen Studien (Koyama *et al.*, 1996) wurde geschlossen, daß *trans*-Karotine hauptsächlich eine Funktion als Antennenpigmente und *cis*-Karotine eine Funktion als Quencher besitzen. Anhand der Verteilung der *cis*- und

trans-Karotine in der Struktur läßt sich jedoch keine derartige Präferenz für die Umgebung der Karotine festmachen.

Eine weitere Funktion der Karotine ist die Stabilisierung der Proteinkomplexe durch hydrophobe Wechselwirkungen (Takahashi & Kato, 1987; Karapetyan *et al.*, 1999b). Im PS I Komplex findet man eine Häufung der Karotine in den Clustern (5) und (6), also den Clustern, in deren Nähe sich die kleinen peripheren Untereinheiten befinden. Sowohl diese Untereinheiten als auch PsaK stehen mit den Karotinen in einer wechselseitigen Beziehung. Zum einen werden die Untereinheiten durch die Vielzahl an Wechselwirkungen an den Komplex gebunden und stabilisiert. Zum anderen schirmen die peripheren Untereinheiten die hydrophoben Karotine von der Solvensumgebung ab.

10.3 Anordnung der Chlorophylle und Verteilung der Übergangsdipolmomente

Für die Verteilung der Anregungsenergie innerhalb des Antennensystems sowie die Übertragung der Energie auf den primären Donor existieren im wesentlichen drei verschiedene Modelle.

Zum einen das sog. diffusionskontrollierte Modell (Owens *et al.*, 1987). Hierin wird davon ausgegangen, daß der die Geschwindigkeit bestimmende Schritt die Verteilung der Anregungsenergie innerhalb der Antennenchlorophylle ist. Das heißt, die Zeit für die Verteilung der Anregungsenergie ist größer als die für die Ladungstrennung am P700 benötigte Zeit.

Das zweite Modell ist das sog. „trap-limited“ Modell (Holzwarth *et al.*, 1993). In diesem wird davon ausgegangen, daß die Ladungstrennung der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist.

Das dritte Modell ist das „transfer to the trap limited“ Modell (Valkunas *et al.*, 1995). Danach ist wie in Purpurbakterien der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Transfer der Anregungsenergie von den Antennenchlorophyllen auf den primären Donor.

Diese kinetischen Modelle können ihrerseits mit strukturellen Vorstellungen, z. B. über die Anordnung der roten Chlorophylle korreliert werden. Nach dem Trichter („funnel“) Modell absorbieren die Chlorophylle mit wachsender Nähe zum P700 zunehmend im roten Spektralbereich, so daß die am weitesten rotverschobenen Chlorophylle in der Nähe vom P700 liegen (Seely, 1973). Durch diese Anordnung der Chlorophylle könnte theoretisch die Anregungsenergie wie in einem Trichter zum P700 gelangen. Simulationen zeigten jedoch, daß dieses Trichtermodell nicht anwendbar ist und statt dessen die am stärksten rot verschobenen Chlorophylle am weitesten vom Reaktionszentrum entfernt plaziert werden müssen (Trinkunas & Holzwarth, 1996). Gleichzeitig müssen aber einige rote Chlorophylle in der Nähe des P700 liegen, da nur so die Anregungsenergie zu diesem transferiert werden kann. Ein ähnliches Ergebnis wurde mit einem „transfer to the trap limited“ Modell erhalten (Gobets *et al.*, 1998). Dabei wurden die roten Chlorophylle nicht in der Nähe der „connecting“-Chlorophylle plaziert, sondern an der Peripherie des Komplexes.

Anhand des aktuellen Strukturmodells werden im folgenden diese Modelle qualitativ diskutiert. Eine genauere Analyse ist als Publikation in Vorbereitung. Die Diskussion der roten Chlorophylle stützt sich dabei auf die excitonisch gekoppelten Chlorophylle, da nur diese mit einiger Sicherheit als rote Chlorophylle identifiziert werden können.

Wie bereits in den vorangegangenen Strukturmodellen bei 4 Å zu erkennen, liegen die

kürzesten Zentrenabstände zwischen den Antennenchlorophyllen und ihrem jeweils nächsten Nachbarn mit zwei Ausnahmen im Bereich von 7,6 Å bis 16,0 Å. Eine Häufung tritt bei Abständen von 8,0 Å-9,0 Å und 10,0 Å-10,5 Å auf. Ungefähr 60 % aller Antennenchlorophylle haben nächste Nachbarn innerhalb dieser Abstandsbereiche. Die beiden Ausnahmen bilden aC-J3 mit 19,3 Å und aC-M1 mit 21,0 Å Abstand zum nächsten Nachbarn im demselben Monomer. aC-M1 liegt jedoch nur ca. 14,0 Å entfernt zu den Chlorophyllen aC-PL1 und aC-A30 eines benachbarten Monomers. Diese Abstände deuten daraufhin, daß die Anregungsenergie schneller innerhalb eines Monomeres, als zwischen verschiedenen Monomeren transferiert wird.

Wie bereits eingangs erwähnt, ist das P700 mit einem Abstand von ca. 17,5 Å zum nächsten Antennenchlorophyll gut von der Antenne isoliert. Durch die zylindrische Umgebung von Chlorophyllen der zentralen Antenne werden viele der Chlorophylle in einem ähnlichen Abstand zum P700 positioniert. Dadurch wird erreicht, daß die Anregungsenergie auf vielen Wegen mit ähnlichen Raten dorthin transferiert werden kann (Valkunas *et al.*, 1995). Wie Abbildung 10.1 zeigt, befinden sich fünf der excitonisch gekoppelten Dimere innerhalb des Zylinders. Davon sind die am stärksten gekoppelten Dimere in der Nähe der Trimerisierungsdomäne lokalisiert. Diese Anordnung stimmt mit strukturellen Mutmaßungen auf Basis spektroskopischer Ergebnisse überein, die bei einer Konzentration der langwelligen Chlorophylle in der Nähe des P700 eine zu starke Fluoreszenz erwarten läßt (Pålsson *et al.*, 1998).

Neben diesem Weg über den Zylinder stehen theoretisch noch die beiden schnelleren Wege zum P700 über die „connecting“-Chlorophylle zur Verfügung (s. Abschnitt 10). Simulationen haben ergeben, daß man die bei 708 nm absorbierenden Chlorophylle in deren Nähe, bzw. unter deren Beteiligung modellieren kann (Byrdin *et al.*, 2000). Dies würde mit der in Abschnitt 10.1.1 beschriebenen Zuweisung der bei 708 nm absorbierenden Chlorophylle zu den beiden Dimeren 3 und 9 übereinstimmen. Andere Ergebnisse widersprechen jedoch dieser Anordnung (Gobets *et al.*, 1998).

Die Antennenchlorophylle an der Peripherie sind in zwei Schichten organisiert. Durch diese Schichten wird zum einen der Absorptionsquerschnitt der Antenne erhöht und zum anderen ein schneller Energietransfer zum Zylinder in der Mitte des Komplexes gewährleistet. Durch die zweidimensionale Anordnung in den Schichten wird der Transfer gegenüber einer hypothetischen dreidimensionalen Anordnung beschleunigt. Auch in diesen Teilen der Antenne finden sich langwellige Chlorophylle. Dies ist in Übereinstimmung mit Simulationen, die die langwelligsten Chlorophylle in der Peripherie ansiedeln (Gobets *et al.*,

1998).

Aus der Struktur ist damit deutlich erkennbar, daß ein reines Trichtermodell sehr wahrscheinlich ausgeschlossen werden kann. Statt dessen finden sich einige, vermutlich weniger stark in den roten Bereich verschobene Chlorophylle, im Zylinder um das P700 herum angeordnet, die für den Excitonentransfer zum P700 genutzt werden könnten. Eine Ausnahme bildet das Dimer 2. Es liegt ebenfalls im Zylinder und zeigt eine starke excitonische Kopplung. Da das Dimer an der lumenalen Seite des Komplexes liegt, sind dies die zum P700 nächsten roten Chlorophylle. Dadurch kommt für dieses Dimer eine Funktion bei der Konzentration der Anregungsenergie auf dem P700 in Betracht.

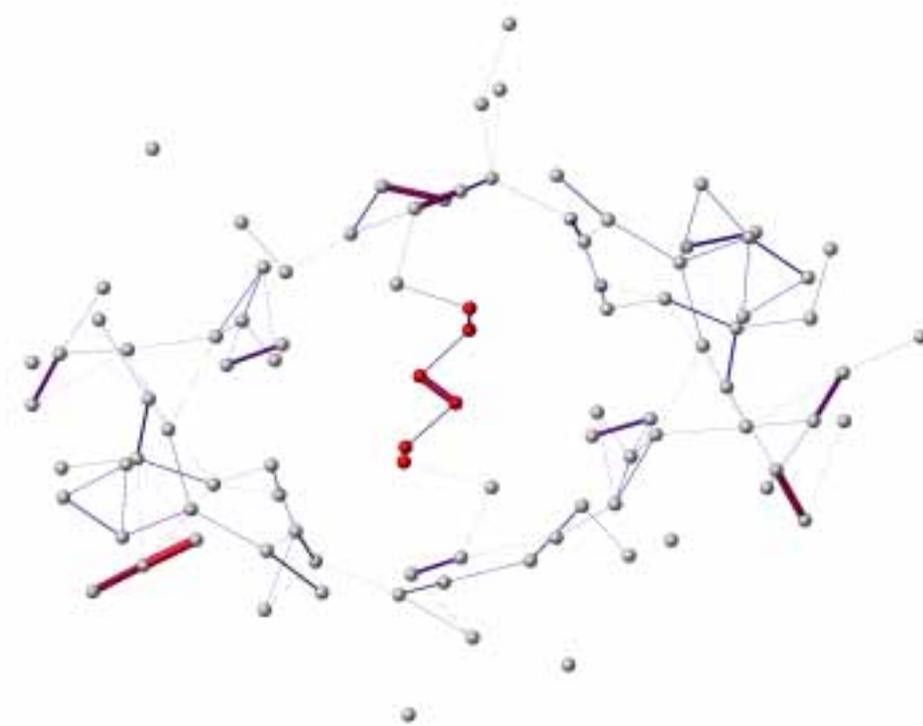


Abbildung 10.6: Die „geometrischen“ Förstertransferraten. Die Raten werden auf einer relativen Skala zueinander skaliert dargestellt. Höhere Raten werden durch größere Linienbreiten und höheren roten Farbanteil symbolisiert.

Abbildung 10.6 zeigt den geometrischen Anteil der berechneten Förster-Transferraten zwischen den Antennenchlorophyllen. Dieser Anteil ergibt sich gemäß Gleichung 10.12 unter Weglassung aller spektroskopischen Terme, d. h. er wird nur durch die Orientierung gemäß Gleichung 10.13 und den Zentrenabstand zwischen zwei Chlorophyllen bestimmt. Man erkennt deutlich, daß es keinen ausgezeichneten Transferweg von den peripheren Antennenchlorophyllen zum primären Donor, bzw. zu speziellen Chlorophyllen gibt. Aufgrund der Nähe der „connecting“-Chlorophylle aC-A40 und aC-B39 zu den Chlorophyllen

eC-A3 bzw. eC-B3 kann man hier die einzigen, wenn auch geringen Transferraten errechnen. Die Transferraten scheinen gleichmäßig über alle Regionen des Antennensystems verteilt zu sein. Eine Häufung größerer Raten ist nur in den Bereichen der peripheren Antenne zu erkennen. Da die spektrale Überlappung nicht in die Berechnung mit eingeht, dürfen diese Daten auch nur als grobe Schätzung der möglichen Transferraten gewertet werden.

