

12 Zusammenfassung und Ausblick

Das Strukturmodell des PS I Komplexes bei 2,5 Å Auflösung erlaubt es, detaillierte Aussagen über die Wechselwirkungen zwischen dem Protein und den Kofaktoren zu machen. Aufgrund der Fülle an Informationen werden auf den folgenden Seiten die interessantesten Aspekte der Struktur zusammengefaßt und ein Ausblick auf weiterführende Experimente gegeben.

12.1 Die Proteinuntereinheiten

Das Modell des Proteingerüsts umfaßt 2243 Aminosäuren. Alle 11 Proteinuntereinheiten, für die aus der DNA-Sequenz Aminosäuresequenzen abgeleitet wurden (Mühlenhoff *et al.*, 1993), konnten in der Kristallstruktur identifiziert werden. Die Aminosäuresequenz von PsaL erwies sich jedoch als sechs Aminosäuren länger als mit der DNA-Analyse bestimmt (s. Abschnitt 7.6). Diese Diskrepanz konnte durch Einführung eines „frame shifts“ in die DNA-Sequenz beseitigt werden. Zusätzlich wurde in der Struktur eine weitere Untereinheit gefunden, deren Aminosäuresequenz große Ähnlichkeit zu der einer bislang umstrittenen Untereinheit PsaX aufweist (s. Abschnitt 7.8).

Die im wesentlichen von PsaC, PsaD und PsaE ausgebildete Bindungstasche für den Elektronenakzeptor Ferredoxin konnte genau beschrieben werden und durch den Vergleich mit Mutationsstudien ein Modell für das „Docking“ des Ferredoxins entworfen werden (s. Abschnitt 8.4). Weitergehende Modellstudien zu diesem Thema, in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. W. Knapp und Dr. M. Ullmann, sind in Planung.

Parallel zu dieser Arbeit wurde von M. Antonkine aus der Arbeitsgruppe von Prof. J. Golbeck die NMR-Struktur der Untereinheit PsaC in Lösung bestimmt. Um Rückschlüsse auf die Assemblierung des stromalen Grates zu ziehen, wird gegenwärtig in Zusammenarbeit mit der o. g. Gruppe und Prof. D. Stehlik ein Vergleich zwischen der Röntgen- und NMR-Struktur von PsaC, also zwischen den Strukturen dieser Untereinheit im PS I-Komplex und in Lösung, ausgearbeitet.

12.2 Das Elektronentransfersystem

Das Elektronentransfersystem setzt sich aus elf Kofaktoren zusammen, einem Chlorophyll *a'* und fünf Chlorophyll *a* Molekülen, 2 Phyllochinonen und 3 [4Fe4S]-Clustern. Die Chlorophylle und Phyllochinone sind in Paaren in zwei Ästen organisiert. Auf der lumenalen Seite des PS I befindet sich der primäre Donor P700. Es handelt sich um ein

Chlorophyll-Dimer, das aus einem Chl *a* und einem Chl *a'* besteht. Zwischen dem von HisA680 gebundenen Chl *a'* Molekül und den Aminosäuren von PsaA werden zahlreiche Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet. Im Gegensatz dazu bildet das von HisB660 koordinierte Chl *a* Molekül keine Wasserstoffbrückenbindungen mit PsaB aus. In Analogie zu P680⁺ kann man deshalb davon ausgehen, daß die nach der Ladungstrennung auf dem P700⁺ verbleibende positive Ladung auf der Chl *a*-Hälfte des Dimers lokalisiert ist, die von PsaB koordiniert wird (eC-B1). Im Verlauf dieser Arbeit wurde eine Kooperation mit Dr. M. Plato und Dr. E. Starikov begonnen, im Rahmen derer die Ladungs- und Spindichteverteilung innerhalb des P700⁺ mit Hilfe von Modellrechnungen auf der Basis des Strukturmodells untersucht wird.

Die nächsten Kofaktoren des ETS sind die beiden Chl *a*-Moleküle eC-A2 und eC-B2. eC-A2 wird über ein Wassermolekül von Asparagin A604 und eC-B2 über ein Wassermolekül von Asparagin B591 ligandiert. eC-B2 liegt zwischen eC-A1 und eC-A3, weshalb es dem A-Ast des ETS zugerechnet wird, obwohl es von PsaB koordiniert wird. Analog wird eC-A2 dem B-Ast zugerechnet.

Die beiden Chl *a*-Moleküle eC-A3 und eC-B3 sind die am weitesten stromal gelegenen Chlorophyll-Kofaktoren des ETS. Sie werden von den Methioninen A688 (eC-A3) und B668 (eC-B3) koordiniert. Ihre Nähe zu eC-B2 bzw. eC-A2 läßt eine Wechselwirkung mit diesen Chlorophyllen möglich erscheinen. Daher ist anhand der Struktur nicht eindeutig zu entscheiden, ob eC-A3 oder eC-B3 allein oder die Paare eC-A3/eC-B2 bzw. eC-B3/eC-A2 dem spektroskopisch identifizierten Akzeptor A₀ entsprechen.

Die beiden Phyllochinone Q_K-A und Q_K-B bilden die nächsten Akzeptoren des ETS. Die Bindungstaschen und Wechselwirkungen mit dem Protein sind für beide Chinone sehr ähnlich. Q_K-A bildet eine Wasserstoffbrückenbindung mit Leucin A722 und eine π - π Stapelung mit Tryptophan A697 aus. Q_K-B wird analog von Leucin B706 und Tryptophan B677 ligandiert.

Aus den geometrischen Parametern der Kofaktoren lassen sich Rückschlüsse auf den Ablauf der transmembranen Ladungstrennung ziehen. Die Korrelation mit spektroskopischen Ergebnissen deutet daraufhin, daß mittels EPR-Spektroskopie das Radikalanion des Chinons Q_K-A gemessen wird. Darüberhinaus kann jedoch mit dem Strukturmodell allein keine eindeutige Aussage darüber getroffen werden, ob ein Ast oder beide Äste des ETS aktiv am Elektronentransport teilnehmen. Das Strukturmodell liefert aber insbesondere für die Untersuchungen zum Elektronentransfer wichtige Informationen über die Umgebung der Kofaktoren. Dadurch wird es möglich, die Protein-Kofaktor Wechselwirkungen

gezielt durch Mutationen zu verändern und so Informationen über die physikochemischen Eigenschaften der Kofaktoren, wie z. B. Redoxpotentiale, zu erhalten.

12.3 Das Antennensystem

Dem Antennensystem, das dazu dient, Licht zu absorbieren und die Anregungsenergie auf dem primären Donor zu leiten, werden 90 Chlorophylle und die 22 Karotinoide zugeordnet. Die von PsaA und PsaB koordinierten Antennenchlorophylle lassen sich grob in zwei Gruppen einteilen: die zentrale und die periphere Antenne. Die Chlorophylle der zentralen Antenne sind in Form eines elliptisch verzerrten Zylinders um das ETS herum angeordnet. Die Chlorophylle der peripheren Antenne sind in einer stromalen und einer lumenalen Schicht organisiert, die sich zu beiden Seiten an die zentrale Antenne anschließt. Die von den kleinen hydrophoben Untereinheiten gebundenen Chlorophylle sind seitlich an diesen Domänen lokalisiert.

Die Struktur zeigt eindeutig, daß neben den Chlorophyllen auch 22 Karotinoide zum Antennensystem gehören. 17 von ihnen liegen in einer *all-trans* Konformation vor und 5 besitzen eine oder mehrere *cis*-Doppelbindungen.

Anhand ihrer Umgebung lassen sich für einige Chlorophylle Vermutungen über deren spektroskopische Eigenschaften anstellen. Dabei ist insbesondere die Position der Chlorophylle interessant, deren Absorptionsspektrum in den langwelligen Spektralbereich verschoben ist. Von diesen Chlorophyllen wiederum wird in dieser Arbeit ein besonderes Augenmerk auf die Chlorophylle gelegt, deren Absorptionsspektren aufgrund einer excitonischen Kopplung mit benachbarten Chlorophyllen in den roten spektral Bereich verschoben sein sollte. Denn während andere Einflüsse auf die spektrale Verschiebung von Chlorophyllen nur schwer faßbar sind, ist die Größe der excitonischen Kopplung relativ sicher aus der Struktur ableitbar. Von diesen excitonisch gekoppelten Chlorophyllen liegen drei als Trimer und sechs weitere in drei stark gekoppelten Dimeren vor. Allgemein lassen sich über die Zuordnung spektraler Eigenschaften zu den Chlorophyllen Aussagen über die Kinetik und den Ablauf des Anregungsenergietransfers innerhalb des Antennensystems treffen. Mit Hilfe von Modellrechnungen, die im Rahmen einer Kooperation von Dr. M. Byrdin und Dr. E. Schlodder durchgeführt werden, werden die gemessenen Fluoreszenz- und Absorptionsspektren des PS I mit den strukturellen Daten korreliert, wobei insbesondere die Zuordnung der Positionen der langwellig absorbierenden Chlorophylle von Bedeutung ist.