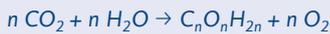
A close-up photograph of vibrant green grass blades, filling the entire frame. The blades are sharp and layered, creating a dense, textured appearance. The lighting is bright, highlighting the natural green color of the grass.

Strukturelle Einblicke in die Photosynthese

Die Architektur des Photosystems II

WOLFRAM SAENGER UND BERNHARD LOLL

Wie wir schon in der Schule lernen, assimilieren die Pflanzen bei der Photosynthese Kohlendioxid (CO_2) und setzen es mit Wasser (H_2O) um zu Sauerstoff (O_2) und Kohlenhydraten (Zuckern der allgemeinen Formel $\text{C}_n\text{O}_n\text{H}_{2n}$). Dieser Prozess wird durch Sonnenlicht-Energie angetrieben, und die entsprechende chemische Gleichung ist verblüffend einfach:



Der Sauerstoff entsteht durch Oxidation von Wasser und hat seit Beginn der „oxygenen“ (Sauerstoff liefernden) Photosynthese vor circa 2,5 Milliarden Jahren das Leben auf unserem Planeten grundlegend verändert, weil die Ur-Atmosphäre keinen Sauerstoff enthält. Erst durch den Sauerstoff wurde die Nahrung durch „Verbrennung“ 10-mal besser genutzt als ohne Sauerstoff. Dies ermöglichte die Entstehung vieler Lebewesen bis hin zum *Homo sapiens*.

Die Photosynthese ist ein sehr komplexer Prozess, weil die Ausgangsstoffe Wasser und CO_2 chemisch äußerst stabile Moleküle sind, die sich nur mit brachialer Gewalt oder ausgetüftelter „sanfter“ Biochemie chemisch in andere Moleküle überführen lassen. Am Beginn der Photosynthese stehen zwei große, aus vielen Proteinen (Eiweißen) zusammengesetzte Komplexe, die Photosysteme I und II (PSI und PSII). Sie enthalten eine Vielzahl von redox-aktiven Pigmenten und können damit chemische Reduktionen und Oxidationen auslösen

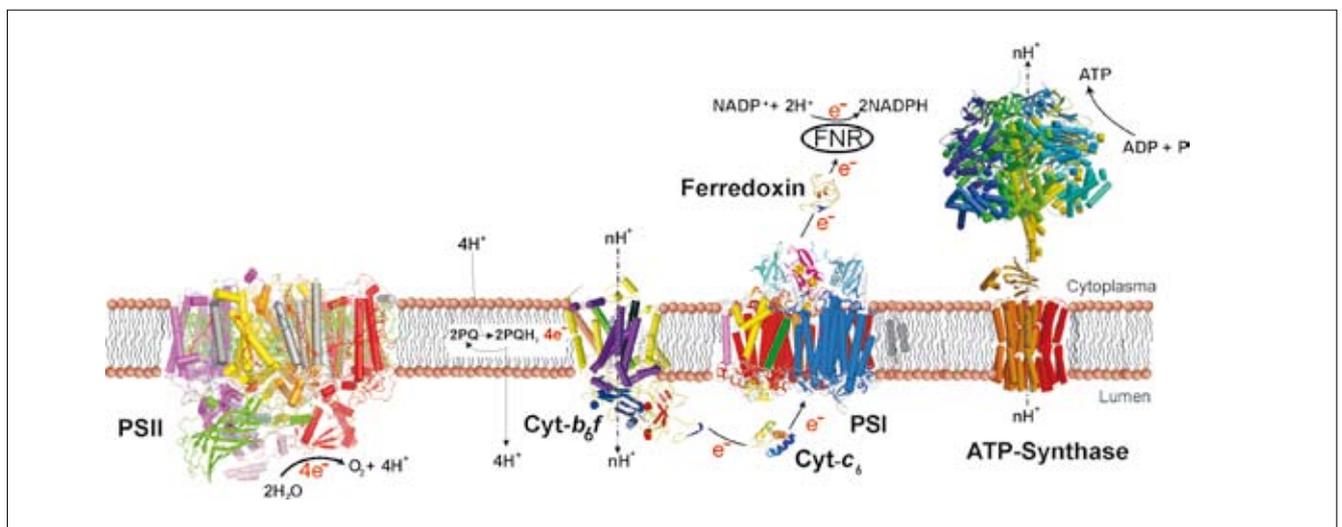
und/oder katalysieren. Die Photosysteme PSI und PSII sind in die photosynthetische Thylakoidmembran (Abbildung unten) eingebettet, die allen höheren Pflanzen, grünen Algen und Cyanobakterien eigen ist. Das in PSI und PSII vorkommende Pigment Chlorophyll dient als Kollektor von Sonnenlicht und gibt nicht nur den Blättern, sondern auch den Algen und Cyanobakterien ihre charakteristische grüne Farbe.

Die Thylakoidmembran ist ein sackartiges Gebilde, dessen Innenraum als Lumen und die Außenseite als Stroma (oder Cytoplasma) bezeichnet wird. Neben PSI und PSII beherbergt die Thylakoidmembran auch noch den Cytochrom- b_6f -Komplex sowie die ATP-Synthase, die ebenfalls aus vielen einzelnen Protein-Untereinheiten zusammengesetzt ist (Abbildung unten). Die ATP-Synthase erzeugt Adenosintriphosphat (ATP), das in der Biologie als „Energiewährung“ dient und bei einer Vielzahl von Prozessen wesentlich ist, unter anderem eben auch in der Photosynthese.

Die dreidimensionalen Strukturen von PSI und PSII aus dem Cyanobakterium *Thermosynechococcus elongatus* wurden mit Hilfe der Röntgenbeugung (Diffraktion) im Rahmen des früheren Sonderforschungsbereichs (Sfb) 312 „Gerichtete Membranprozesse“ und des jetzigen Sfb 498 „Protein-Cofaktor-Wechselwirkungen“ in langjähriger Zusammenarbeit zwischen Freier Universität (Institut für Chemie und Biochemie/Kristallographie) und Technischer Universität (Institut für Physikalische Chemie/Max-Volmer-Laboratorium) ermittelt. Im Zentrum der Röntgenbeugung stehen Kristalle, die aus PSI- sowie PSII-Proteinpräparationen an der Technischen Universität gewonnen werden. Dazu müssen die Photo-

Grüne Farbe

Schematische Ansicht der Thylakoidmembran mit den photosynthetisch wirkenden Protein-Komplexen Photosystem I und II (PSI, PSII), dem Cytochrom- b_6f -Komplex (Cyt- b_6f) und der ATP-Synthase. Die kleinen Proteine Cytochrom- c_6 (Cyt- c_6) und Ferredoxin transportieren Elektronen (e^-), das Enzym Flavinnucleotid Reduktase (FNR) produziert NADPH, das mit ATP in Dunkelreaktionen CO_2 zu Zuckern reduziert. Protonen (H^+), die in das Lumen abgegeben werden, treiben die ATP-Synthase an.



Saenger/Loll

systeme mit seifenartigen Detergentien (Tensiden) aus der Thylakoidmembran herausgelöst und mit chromatographischen Methoden gereinigt werden, bevor sie durch Zugabe von Reagenzien, die die Löslichkeit der Photosysteme in Wasser verringern, kristallisiert werden können.

Die erhaltenen Kristalle sind aus Elementarzellen aufgebaut, in denen die einzelnen Molekülkomplexe PSI oder PSII streng geordnet vorliegen und ein „Kristallgitter“ aufbauen. Lässt man nun Röntgenstrahlen einer bestimmten Wellenlänge von etwa 1 \AA (10^{-10} m) auf diese Kristalle fallen, so werden die Elektronen in den einzelnen Atomen von PSI oder PSII angeregt und senden Röntgenstrahlen derselben Wellenlänge aus. Wegen des regelmäßigen Aufbaus des Kristallgitters tritt konstruktive Interferenz auf und erzeugt Beugungsbilder, die viele Reflexe (Punkte) zeigen. Die Intensität dieser Reflexe werden mit Filmen oder durch elektronische Flächenzähler gemessen. Weil PSI und PSII mit Molekulargewichten von circa 1,1 und 0,7 Millionen sehr groß

und dadurch die Intensität der Reflexe sehr schwach sind, ist es unumgänglich, hochbrillante Röntgenstrahlung zu verwenden, die von Synchrotronen wie dem Berliner BESSY erzeugt werden.

Hierfür sind die Röntgen-Strahlrohre der Proteinstruktur-Fabrik am BESSY der Freien Universität oder die Strahlrohre der European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) in Grenoble sehr gut geeignet. Die Aus-

wertung der 230.000 bis 150.000 Röntgenreflexe, **BESSY**

die mit PSI- oder PSII-Kristallen erhalten wurden, lieferten Elektronendichte-Verteilungen, die am Computer ausgewertet wurden und zu einem Strukturmodell des kristallisierten Moleküls führten. Dieses Modell ist umso detaillierter, je höher die Auflösung des Beugungsmusters ist. Für PSI konnte ein Modell mit atomarer Auflösung erstellt werden, während die Auflösung von PSII derzeit etwas geringer und das erstellte Modell an manchen Stellen zu undeutlich ist, um einzelne Atome mit Sicherheit lokalisieren zu können. Da die Auflösung von der Qualität der Kristalle abhängt und diese wiederum von der Reinheit des für die Kristallisation eingesetzten Moleküls und des Kristallisationsvorgangs, werden zur Zeit an der Technischen Universität die experimentellen Bedingungen variiert, die zu einer höheren Auflösung der Kristalle führen sollen.

Die Photosynthese läuft in zwei sehr unterschiedlichen Reaktionsströmen ab, der Licht-Reaktion und der Dunkel-Reaktion. Die Licht-Reaktion geschieht in der Thylakoidmembran. Beginnend mit PSII wird Lichtenergie von Chlorophyllen eingefangen und dient dazu, Wasser (H_2O) zu Sauerstoff (O_2), Protonen (H^+) und Elektronen (e^-) zu oxidieren. Der Sauerstoff entweicht in die Atmosphäre, H^+ wird zu einem Teil in den Innenraum (Lumen) des Thylakoidsacks abgegeben und zu einem anderen Teil dazu benutzt, um mit Elektronen das

Pigment Plastochinon (PQ und PQB in Abbildung **Mit Licht** Seite 66 beziehungsweise Seite 69) zu Plastohydrochinon PQH₂ zu reduzieren, das daraufhin den PSII-Komplex verlässt. Es wandert (diffundiert) in der Thylakoidmembran zum Cytochrom- b_6f -Komplex, wo es wieder zu Plastochinon, Protonen und Elektronen oxidiert wird. Das Plastochinon wird vom PSII aufgenommen, um einen neuen photosynthetischen Zyklus zu durchlaufen.

Die am Cytochrom- b_6f -Komplex freigegebenen Protonen und Elektronen werden ebenfalls in den Innenraum des Thylakoidsacks abgegeben, und die Elektronen werden von dem kleinen, im Lumen befindlichen Protein Cytochrom- c_6 aufgenommen, zum PSI transportiert und an dieses abgegeben. Im PSI werden die Elektronen durch Lichtenergie auf ein sehr hohes elektrochemisches Reduktionspotenzial gebracht und an der Außenseite (dem Cytoplasma/Stroma) des Thyla-

Prof. Dr.-Ing. Wolfram Saenger



Geboren 1939 in Frankfurt am Main. Studium der Chemie an der Technischen Hochschule Darmstadt. Promotion 1965 bei Prof. F. Cramer zum Dr.-Ing. über die Kinetik von Cyclodextrin-Einschlussverbindungen. Während eines zweijährigen Aufenthalts an der Harvard University erlernte er bei Prof. J. Z. Gougoutas die Röntgenstruktur-Analyse und gründete danach am Göttinger Max-Planck Institut für Experimentelle Medizin

eine Gruppe, die sich mit der Strukturbestimmung von Oligosacchariden, Nucleinsäuren sowie Proteinen befasste. Seit 1981 betreut er den Lehrstuhl für Kristallographie an der Freien Universität. Er erhielt mehrere Auszeichnungen, darunter den Leibniz- und den Humboldt-Preis, ist Mitglied der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften und von EMBO, sowie Sprecher des Sonderforschungsbereichs 449 „Struktur und Funktion membranständiger Rezeptoren“.

Kontakt

Freie Universität Berlin
 Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
 Institut für Chemie und Biochemie/Kristallographie
 Takustraße 6
 14195 Berlin
 Tel.: 030 – 838 534 12
 Fax: 030 – 838 567 02
 E-Mail: saenger@chemie.fu-berlin.de



koidsacks an das kleine Protein Ferredoxin abgegeben. Von diesem werden die Elektronen zur NADP⁺-Reduktase transportiert, um dort NADP⁺ unter Verwendung von Protonen in das starke Reduktionsmittel NADPH umzuwandeln.

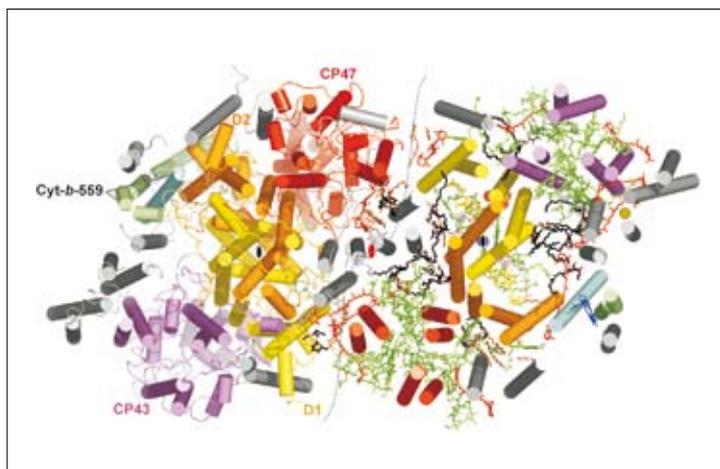
Die Protonen, die von PSII und dem Cytochrom-b₆f-Komplex in das Lumen des Thylakoidsacks abgegeben wurden, erzeugen dort einen sauren pH-Wert von etwa 5. Da der pH-Wert auf der Cytoplasma/Stroma-Seite der Thylakoidmembran neutral ist (pH 7), entsteht ein Protonengradient über der Membran, der die ATP-Synthase antreibt und damit für die Erzeugung von ATP genutzt wird.

Die Dunkel-Reaktionen laufen, wie schon der Name sagt, ohne Lichtenergie ab, doch werden hier die in der Lichtreaktion erzeugten Verbindungen NADPH als Reduktionsmittel und ATP als Energieträger benutzt, um im Calvin-Zyklus CO₂ zu Kohlenhydraten (C_nO_nH_{2n}) zu

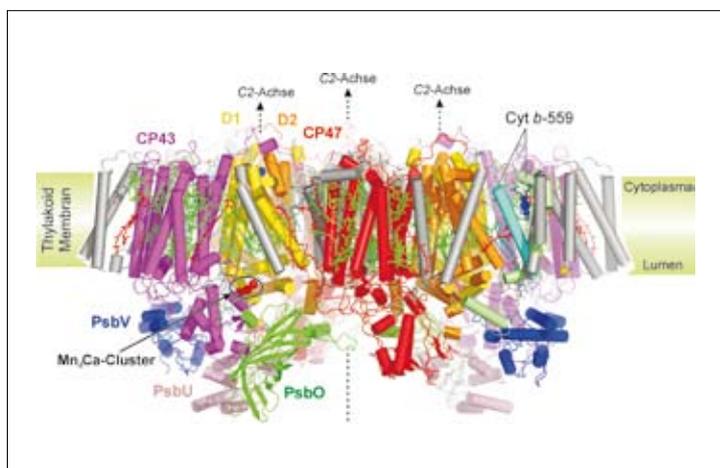
Ohne Licht

reduzieren und damit Nahrung für alle Lebewesen zu erzeugen. Die eingangs erwähnte einfache Gleichung beschreibt also nur die in der Photosynthese wichtigen Ausgangsstoffe CO₂ und H₂O und die Produkte (C_nO_nH_{2n}) sowie O₂, nicht aber die komplexen Prozesse, die in den Licht- und Dunkel-Reaktionen ablaufen. Wir beschränken uns hier aus Platzmangel nur auf die Beschreibung von PSII, ohne das die „oxygene“ Photosynthese nicht möglich wäre.

Die Abbildungen rechts zeigen die dreidimensionale Struktur des PSII, das aus 20 verschiedenen Proteinen besteht, die folgende Pigmente beherbergen: 35 Chlorophylle, 11 Carotine, 2 Pheophytine, 2 Plastochinone (PQ_A und PQ_B), 2 Hämgruppen, 14 Lipide, ein Eisenatom (Fe²⁺), vier Manganatome (in verschiedenen Oxidationsstufen Mn²⁺, Mn³⁺, Mn⁴⁺) und ein Calciumatom (Ca²⁺), die den in der Natur einzigartigen Mn₄Ca-Cluster bilden. PSII liegt in der Thylakoidmembran und in den untersuchten Kristallen als Homodimer vor, das heißt, zwei PSII-Moleküle bilden einen Komplex. PSII enthält die beiden Antennen-Proteine CP43 und CP47, die insgesamt 29 Chlorophylle binden und damit Lichtenergie einfangen, die an das eigentliche Reaktionszentrum weitergeleitet wird. Dieses besteht aus den beiden Proteinen D1 und D2, die die Elektronen-Leiterkette (Abbildung Seite 69) beherbergen sowie dem Cytochrom-b-559 (Cyt-b-559 in den Abbildungen rechts), das eine Hämgruppe enthält (in blau dargestellt). Wesentlich ist, dass eine C₂-Symmetrieachse (schwarze Ellipsen beziehungsweise Pfeile in den Abbildungen rechts) durch eine Rotation um 180 Grad die jeweils ähnlichen Proteine CP43 in CP47 sowie D1 in D2 überführt. Die C₂-Symmetrie spiegelt sich auch in der Elektronen-Leiterkette wider, deren aktives Zentrum aus zwei Paaren von Chlo-



Schematische Sicht des PSII Homodimers, Blick auf die cytoplasmatische Seite der Thylakoidmembran (von „oben“ in der Abbildung auf Seite 66). Die beiden Monomere im Dimer sind durch eine gepunktete Linie getrennt, die C₂-Symmetrieachsen (die Symmetrie gilt nur ungefähr) durch Ellipsen gekennzeichnet. Die rote Ellipse (Mitte) bezieht die beiden Monomere im Dimer durch eine Rotation um 180 Grad aufeinander, während die schwarzen Ellipsen dies für die Proteinuntereinheiten D1, D2 und CP43, CP47 tun. Die einzelnen Protein-Untereinheiten bestehen aus α-Helices, die als Zylinder in unterschiedlichen Farben dargestellt sind: Reaktionszentrum D1 (gelb), D2 (orange), Antennenproteine CP43 (rot), CP47 (magenta), kleine Untereinheiten in grau. Das linke Monomer ist ohne, das rechte Monomer mit Pigmenten dargestellt, Chlorophylle (grün), Carotine (orange), Lipide (schwarz), Pheophytine (gelb).



Wie die Abbildung oben, Blick entlang der Thylakoidmembran, zusätzlich sind alle Pigmente dargestellt. Bemerkenswert ist die große Ausstülpung des PSII in das Lumen. In dem linken Monomer ist der Mn₄Ca-Cluster gut sichtbar (rote Kugeln Mangan, gelbe Kugel Calcium). „C₂-Achse“ bezeichnet die in Abbildung 2 durch Ellipsen angedeuteten Lagen der C₂-Symmetrieachsen (die Symmetrie gilt nur ungefähr).

rophyllen, P_{D1} und P_{D2} sowie Chl_{D1} und Chl_{D2} besteht und als Pigment 680 (P680) bezeichnet wird.

Nach Anregung durch Lichtenergie, die von den Antennenproteinen CP43 und CP47 eingefangen wurde, stößt P680 ein Elektron aus und bildet das Radikal-Kation P680^{•+} (+ steht für Kation oder positive Ladung, • deu-

