

# VU Research Portal

## The Electronic Structure of Photosystem II

Romero Mesa, E.

2011

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Romero Mesa, E. (2011). *The Electronic Structure of Photosystem II: Charge Separation Dynamics*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

# SAMENVATTING

Het hoofddoel van dit proefschrift is het bestuderen hoe fotosynthetische organismen de energie van zonlicht omzetten in electrochemische energie door middel van ladingsscheiding (CS). CS is één van de cruciale processen van fotosynthetische energieomzetting. Het vindt plaats in het reactie centrum van fotosysteem II (PSII RC), een pigment-eiwit complex in de fotosynthetische membranen van zuurstof producerende organismen (cyanobacteriën, algen en hogere planten). Het netwerk van fotosynthetische membranen zit in een celorganel (de chloroplast), en bevat de complete fotosynthetische machinerie, die bestaat uit vele verschillende pigment-eiwit complexen met verschillende functies.

Lichtoogstende complexen, zogenaamde “antennes”, absorberen zonlicht, en dragen de energie daarvan over aan het fotochemisch actieve RC. Wanneer deze excitatie energie het RC bereikt, leidt dit tot een serie energie- en electron-overdrachtsreacties tussen de chromoforen en electron-acceptoren in het RC (zes chlorofyllen, twee pheophytines, twee  $\beta$ -carotenen en twee quinonen). Hierdoor wordt de energie omgezet in een ladingsgescheiden toestand, die een electrochemische gradiënt creëert over het fotosynthetische membraan, en zodoende de fotosynthetische organismen van energie voorziet.

Het ladingsscheidingsproces (CS) in PSII RC is uitgebreid bestudeerd sinds de eerste biochemische isolatie in 1987 door Nanba en Satoh. Ondanks de schijnbare eenvoud van het geïsoleerde RC, is interpretatie van spectroscopische data complex, door de spectrale overlap van de chlorofyllen en pheophytines. Bijgevolg is er een lang en uitgebreid debat gaande over het mechanisme en de tijdschaal van CS. In hoofdstuk 2 rapporteren we een gedetailleerde tijdsopgeloste absorptie spectroscopie studie naar de moleculaire mechanismen van CS. De opzet van het experiment en het gebruik van globale en “target” analyse, maakten het mogelijk om aan te tonen dat CS optreedt via twee verschillende routes. Verschillende combinaties van chromoforen zijn betrokken in elk stadium van het proces. De eiwitconfiguratie bepaalt welke van de twee routes wordt gevolgd, maar uiteindelijk bereikt ieder RC dezelfde ladingsgescheiden toestand. Dit resultaat laat goed de rol van het eiwit zien in het controleren van de CS dynamica in het PSII RC. In hoofdstuk 3 verifiëren we het concept van de twee CS routes, door geavanceerde fysische modellering van de tijdsopgeloste absorptie kinetiek, met behulp van “modified Redfield-generalized Förster theory”.

In hoofdstuk 4 rapporteren we een onverwachte observatie in de experimenten in hoofdstuk 2. Tot dusverre werd algemeen aangenomen dat alleen de chlorofyllen en pheophytines deelnamen aan de energie-overdrachtsprocessen in het RC. Desalniettemin zien we een verstoring van de energie van de twee  $\beta$ -carotenen in het RC wanneer de perifere chlorofyllen (Chls<sub>z</sub>) geëxciteerd zijn. Dit suggereert dat de elektronische toestanden van de Chls<sub>z</sub> en de  $\beta$ -carotenen gemengd zijn. De Chls<sub>z</sub> bevinden zich op tegenovergelegen zijden aan de periferie van het complex (op  $\approx 25 \text{ \AA}$  van de centrale chromoforen, die  $\approx 10 \text{ \AA}$  van elkaar zijn gescheiden). Energieoverdracht van Chls<sub>z</sub> naar de centrale chromoforen duurt  $\approx 10 \text{ ps}$  ( $1 \text{ ps} = 10^{-9} \text{ s}$ ), veel sneller dan de verwachte tijden (tot  $100 \text{ ps}$ ) op basis van theoretische berekeningen. Het ontbreken van  $\beta$ -carotenen in die berekeningen, en hun elektronische menging met Chls<sub>z</sub>, leidde tot de hypothese dat de  $\beta$ -carotenen betrokken zijn bij het versnellen van energieoverdracht tussen Chls<sub>z</sub> en de chromoforen in het centrum van het complex.

In hoofdstuk 5 bestuderen we de eigenschappen van de elektronische toestanden die CS initiëren met een gecombineerde aanpak: Stark spectroscopie (een extreem gevoelige techniek voor de beweging van lading tijdens een elektronische overgang), toegepast op puntmutanten (waarbij de verandering van een enkel aminozuur de pigment-eiwit interacties verandert ten opzichte van de natuurlijke vorm, het wild-type). De Stark spectra van wild-type PSII is vergeleken met acht verschillende puntmutanten. Hieruit bleek dat de elektronische toestanden die CS initiëren een mengsel zijn van collectief-geëxciteerde toestanden (excitonen) en ladingsgescheiden (CT) toestanden. Het CT karakter van deze gemengde toestanden bevordert ultrasnelle en efficiënte CS in het PSII RC. Dit werk levert verder bewijs voor het bestaan van twee CS routes, en voor de mogelijkheid van het eiwit tot fijnafstelling van de energie van de exciton- en CT-toestanden en de mate van menging tussen deze toestanden. Zodoende beïnvloedt het eiwit de CS dynamica.

In hoofdstuk 6 bestuderen we de pigment-eiwit interacties op een directe manier, door het gebruik van licht-geïnduceerde Fourier-transformatie infrarood (FTIR) spectroscopie. Een vergelijking tussen verscheidene PSII preparaten met verschillende antenne-grootte wijst er op dat de vibrationele eigenschappen van het RC onafhankelijk zijn van de totale omvang van het PSII complex en niet veranderen tijdens de isolatieprocedure. Het vergelijken van het wild-type RC met twee puntmutanten maakte het mogelijk om de specifieke pigment-eiwit interacties te identificeren die wellicht bepalen welke CS route plaatsvindt in een RC.

In hoofdstuk 7 bestuderen we een ander pigment-eiwit complex, Lhca4, een perifeer lichtoogstend complex van fotosysteem I. Lhca4 onderscheidt zich door de aanwezigheid van rode chlorofyllen, met een absorptie- en emissie-energie die veel lager is dan voor doorsnee antenne chlorofyllen. Met Stark spectroscopie hebben we aangetoond dat de lage energie van de rode chlorofyllen veroorzaakt wordt door het mengen van de laagste energie-toestand met een CT toestand.

Al met al, beschrijft dit proefschrift onderzoek naar de electronische structuur en energie-dynamica in fotosynthetische pigment-eiwit complexen. Dit heeft als doel inzicht te verkrijgen in de ontwerpprincipes die leiden tot hun efficiënte omzetting van zonne-energie in electrochemische energie. Het begrijpen van deze principes is erg belangrijk in de huidige tijd, met nijpende problemen zoals de energiecrisis en klimaatverandering. Daarom moeten we schone alternatieven vinden voor fossiele brandstoffen. Vandaar dat we hopen dat het werk in dit proefschrift bijdraagt aan de inspanningen van de wetenschappelijke gemeenschap voor het bereiken van efficiënt en schoon gebruik van de onze grootste energiebron: de Zon.