

Trasporto di Elettroni Secondario nel centro di reazione del Fotosistema I: descrizione delle cinetiche di ossidazione dei fillochinoni legati alle subunità PsaA e PsaB

I. PANORAMICA DELLA STRUTTURA DEL FOTOSISTEMA I

I fotosistemi sono grandi complessi macromolecolari composti da molte subunità proteiche, alcune delle quali legano pigmenti e altri gruppi prostetici e al cui interno avvengono le reazioni che portano alla conversione dell'energia primaria per via fotochimica. Nella fotosintesi ossigenica due di tali complessi, chiamati fotosistema II (PSII) e fotosistema I operano in serie. Il PS II catalizza l'ossidazione dell'acqua e la riduzione del plastochinone mentre il fotosistema I (PS I) catalizza l'ossidazione della plastocianina, una piccola proteina solubile che agisce come trasportatore di elettroni, e la riduzione della ferredossina. Negli organismi eucariotici, come le piante superiori e le alghe verdi, i fotosistemi sono localizzati nella membrana tilacoidale dei cloroplasti, insieme agli altri complessi attivi nelle reazioni di trasferimento di elettroni fotosintetici, ovvero il citocromo *b_f* e l'ATPasi/sintasi. Nei procarioti, per esempio nei cianobatteri, i complessi fotosintetici sono localizzati in regioni specializzate della membrana plasmatica che sono anche, per analogia con gli eucarioti, chiamate tilacoidi, ma non hanno la caratteristica struttura morfologica di questi ultimi.

Entrambi i fotosistemi sono funzionalmente organizzati in due unità: il *core* e l'*antenna esterna*. Le reazioni fotochimiche primarie avvengono a livello di alcuni cromofori specializzati e cofattori redox presenti nel core detti *centri di reazione*. D'altra parte, la maggior parte dei pigmenti legati al core ha funzione di raccolta della luce e sono per questo noti collettivamente come antenna interna. L'antenna esterna ha invece solo la funzione di raccolta della luce, e in genere aumenta la probabilità di assorbimento e la gamma di radia-

* Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Dipartimento di Biologia, Milano

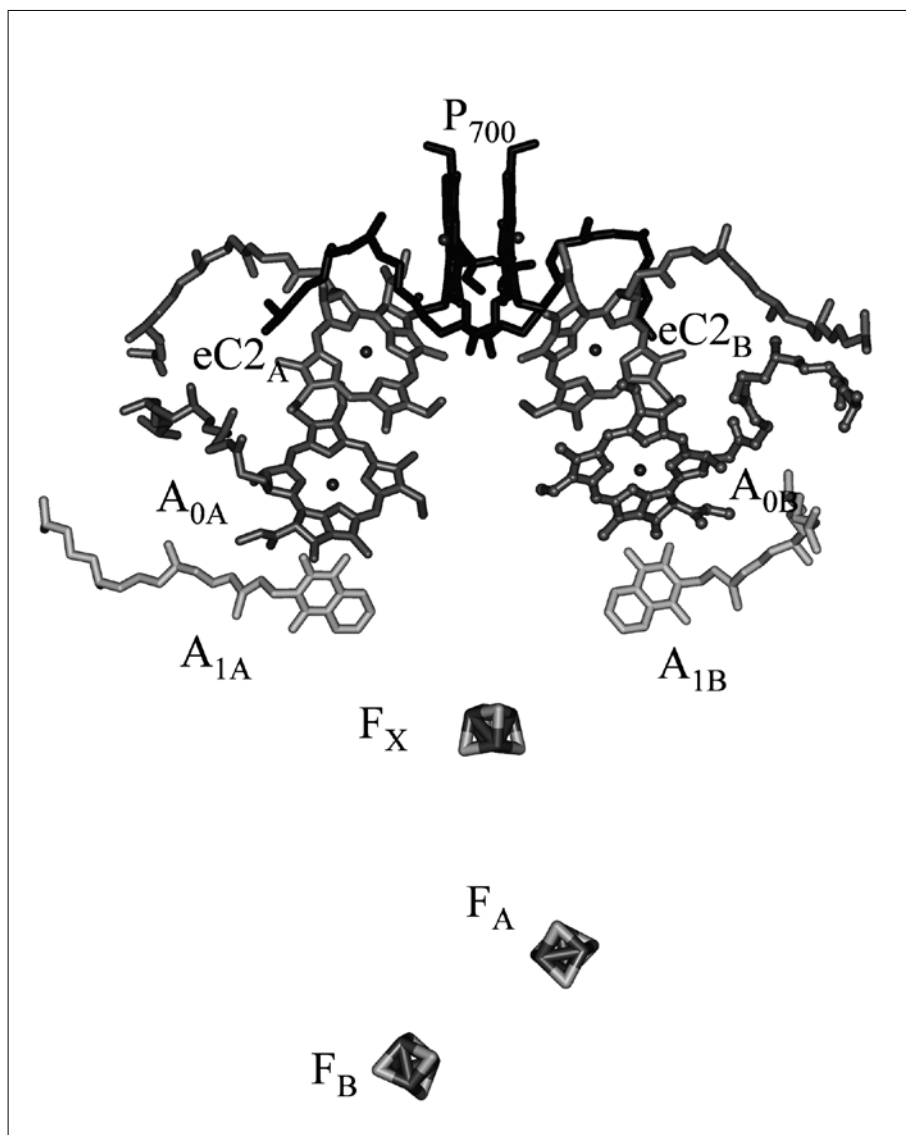


Fig. 1 Rappresentazione schematica delle catene di trasporto di elettroni nel fotosistema I ripresa dal modello strutturale di Jordan et al. (2001)

zione luminosa assorbita rispetto alla sola antenna interna. I core sia del PS II che del PS I sono ben conservati attraverso l'evoluzione, mentre l'antenna esterna mostra una grande variabilità, che riflette l'adattamento alle diverse nicchie ambientali.

Nel caso del PS I il core è costituito da 12-13 polipeptidi differenti, il numero specifico varia da specie a specie (Jensen et al., 2003). Le subunità PsaA e PsaB, formano un eterodimero che lega una vasta gamma di cofattori tra cui circa 80 clorofille *a* (Chl *a*), 30 molecole di β -carotene, due molecole di fillochinone (k_{ET}) e un centro ferro-zolfo [4Fe -4S], detto F_X . Due altri centri [4Fe-4S], detti F_A e F_B sono coordinati alla subunità PsaC. La maggior parte dei pigmenti legati al core del PS I ha funzione di antenna interna, mentre un gruppo di 6 molecole di Chl *a*, uno dei quali è l'epimero in posizione 13' (Chl *a'*), catalizza le reazioni fotochimiche. All'interno di queste sei molecole sono contenuti sia il donatore che l'accettore primario di elettroni. Modelli cristallografici del core basati sulla diffrazione a raggi X sono stati ottenuti sia in un sistema modello dei cianobatteri (Jordan et al., 2001) sia in uno delle piante superiori (Ben-Shem et al., 2003). Il confronto tra i due modelli strutturali non evidenzia differenze né nell'organizzazione, né nei siti di legame specifici ai putativi cofattori coinvolti nelle reazioni di trasferimento elettronico.

La catena di trasferimento di elettroni del PS I possiede un asse di simmetria C₂, perpendicolare al piano della putativa membrana tilacoidale, così che esistono due potenziali catene di cofattori, identiche dal punto vista chimico (fig. 1) e che si distinguono solo per leggere variazioni nell'interazione con la matrice proteica. Il gruppo di pigmenti assegnati al centro di reazione è spazialmente separato dalle altre clorofille che compongono l'antenna interna, con una distanza media di circa 18 Å. Il centro di reazione fotochimico può essere descritto come composto da tre pseudo-dimeri di clorofilla. Uno di questi si trova all'interfaccia tra PsaA e PsaB, è parallelo all'asse di simmetria, contiene l'epimero (chl *a'*) ed è generalmente attribuito a P_{700} , che costituisce, in forma cationica (P_{700}^+), il donatore di elettroni terminale. Negli studi strutturali le clorofille che compongono P_{700} sono chiamate come $eC1_{A/B}$ dove il pedice indica la subunità a cui sono coordinate (Jordan et al., 2001). Gli altri due dimeri sono composti delle coppie di clorofille $eC2_A/eC3_A$ ed $eC2_B/eC3_B$. Le clorofille eC_2 sono anche note come clorofille "accessorie", mentre eC_3 è altrimenti conosciuta come A_0 e rappresenta il primo accettore di elettroni osservato chiaramente tramite metodi spettroscopici (Brettel, 1997). Le cinetiche di riduzione di A_0 , che sono spesso discusse in termini di separazione di carica primaria, avvengono in poche decine di picosecondi, con limiti superiori nell'ordine di ~ 1 ps discussi in letteratura (Gobets e van Grondelle, 2001, Santabarbara et al., 2005). È stato suggerito che la separazione di carica potrebbe partire dalle clorofille accessorie (Müller et al., 2003; 2010), anziché da P_{700} come più comunemente considerato. Indipendentemente dei modelli dettagliati delle

reazioni fotochimiche primarie, $A_{0(A/B)}$ è sempre considerato essere l'accettore primario di elettroni. Essi sono localizzati in prossimità delle molecole di fillochinone (A_{1A} e A_{1B} rispettivamente), che sono i successivi intermedi nella catena di trasporto. Questi vengono ridotti alla forma di semi-chinone radicale nell'intervallo di 40-60 ps (e.g. Brettel, 1997; Santabarbara et al., 2005). L'ossidazione del semi-chinone A_1 da parte del successivo accettore che è il centro $[4Fe-4S] F_x$ mostra cinetiche multi-esponenziali caratterizzate da un minimo di due ben distinti tempi di vita nell'ordine di circa ~ 20 e ~ 200 nanosecondi. La fase più rapida della cinetiche è associata all'ossidazione di A_{1B} , mentre la fase lenta è associata all'ossidazione di A_{1A} , secondo il modello "bidirezionale" di trasferimento di elettroni (Santabarbara et al., 2005; 2010a; Rappaport et al., 2006). La bidirezionalità sembra essere una proprietà caratteristica del PS I, dato che sia nel centro di reazione del PS II, così come in quello dei batteri purpurei, che fanno parte della famiglia dei centri di Tipo-II, il trasferimento di elettroni è asimmetrico così che le reazioni fotochimiche avvengono unicamente in una delle due possibili catene redox evidenziate dagli studi strutturali. Gli accettore terminali nel PS I sono dei centri ferro-zolfo, noti come F_A e F_B , i quali operano a cascata e, a differenza degli altri gruppi attivi in reazioni di ossidoriduzione, sono coordinati dalla subunità PsaC.

L'analisi delle strutture del PS I non fornisce ovvie indicazioni che spieghino le differenti cinetiche di ossidazione di A_{1B} e A_{1A} che differiscono di quasi un ordine di grandezza. È ragionevole supporre che esse possano derivare da differenze nelle proprietà chimico-fisiche determinate da specifiche interazioni dei fillochinoni con le subunità alle quali sono coordinati, PsaA e PsaB. Questa ipotesi è discussa in questo articolo.

2. DESCRIZIONE GENERALE DELLA MODELLISTICA DEL TRASPORTO DI ELETTRONI NEL PS I

Al fine di descrivere le cinetiche di ossidazione A_1 verrà utilizzata una modellizzazione che consiste nella soluzione di un sistema di equazioni differenziali lineari del tipo (in notazione matriciale):

$$\dot{S}(t) = \mathbf{R} \cdot S(t) \quad (1)$$

dove $S(t)$ sono i vettori delle evoluzioni temporali delle specie coinvolte nel trasporto di elettroni, $\dot{S}(t)$ è la loro derivata prima, mentre \mathbf{R} è la matrice

che ha come elementi le costanti di velocità reazione tra coppie di donatori-accettori. Il sistema (1) ha come soluzione generale:

$$S(t) = \sum_{i=1}^n V_i e^{\gamma_i t} \quad (2)$$

dove γ_i e V_i sono, rispettivamente gli autovalori e gli autovettori della matrice \mathbf{R} .

Le costanti di velocità di reazione ($k_{D \rightarrow A}$) tra un donatore (D) e accettore (A), ovvero gli elementi di \mathbf{R} , sono descritte, secondo la teoria attribuita a Marcus (Marcus e Sutin, 1985, DeVault, 1984), dalla relazione:

$$k_{D \rightarrow A} = \frac{\pi}{h} \frac{|H_{DA}|^2}{\sqrt{\pi \lambda_i k_b T}} e^{-\frac{(\Delta G^0 + \lambda_i)^2}{4 \lambda_i k_b T}} \quad (3)$$

dove, k_b è la costante di Boltzmann, h è la costante di Dirac, $|H_{DA}|$ è l'elemento elettronico dell'Hamiltoniano del sistema, ΔG^0 è la differenza di energia libera in condizioni standard, λ_i è l'energia di riorganizzazione (totale). Nel caso di reazioni reversibili, la velocità della reazione *inversa*, cioè il trasferimento di un elettrone dall'accettore al donatore può essere ottenuto semplicemente sostituendo ΔG^0 con $-\Delta G^0$ nell'Equazione (3). Ne risulta che rapporto tra le costanti di reazione "diretta" e "inversa" è descritto dalla distribuzione di Boltzmann:

$$\frac{k_{D \rightarrow A}}{k_{A \rightarrow D}} = e^{-\frac{\Delta G^0}{k_b T}} \quad (4)$$

ed è quindi equivalente alla costante di equilibrio, K_{eq} . Quindi, la velocità di trasferimento di elettroni è determinata da tre incognite, $|H_{DA}|$, ΔG^0 e λ_i .

Valutazione dei parametri che determinano i valori delle costanti di velocità:

Differenza di energia libera (ΔG^0). ΔG^0 è determinabile da misure indipendenti, per esempio tramite titolazioni redox dei donatori e degli accettori di elettroni. Tuttavia, tali titolazioni spesso non sono possibili in campioni biologici, soprattutto quando questi operano ad alti potenziali. Nel caso del PS I solo i potenziali del donatore terminale P_{700}^* e degli accettori $F_{A/B/X}$ sono stati determinati direttamente (elencati da Brettel, 1997). I valori riportati in letteratura sono abbastanza variabili, in particolare per F_X . Negli altri casi i valori saranno scelti in modo da riprodurre i valori sperimentali.

Energia di riorganizzazione (λ_i). In un'analisi estensiva di varie proteine coinvolte nel trasporto di elettroni, Moser, Dutton e collaboratori (1992), hanno verificato che λ_i è contenuta in una finestra piuttosto raccolta di valori,

in genere tra 0.5 e 1 eV e con una media di ~0.7 eV. Verranno utilizzati valori in questo intervallo.

Elemento elettronico dell'Hamiltoniano ($|H_{DA}\rangle$). Il valore di $|H_{DA}|$ dipende dalla forma e la profondità della barriera di tunneling attraverso cui gli elettroni devono transitare perché la reazione abbia luogo (DeVault, 1984). Considerando una barriera di tunneling rettangolare, è possibile descrivere l'elemento elettronico in prima approssimazione come:

$$|H_{DA}|^2 = |H_{DA}|_0^2 \times e^{-\beta r_{DA}} \quad [5]$$

dove $|H_{DA}|_0^2$ è il valore massimo in condizioni di “contatto”, smorzato esponenzialmente in funzione della distanza donatore-accettore, r_{DA} e modulato dalla costante di attenuazione, β , che dipende del mezzo circostante. Moser et al. (1992) hanno proposto un valore medio di β di $1,3\text{--}1,4 \text{ \AA}^{-1}$. r_{DA} è la distanza “edge-to-edge” tra i cofattori coinvolti nella reazione, corretta per i raggi di van del Waals (~ 3.6 Å). Una buona approssimazione per il valore di $|H_{DA}|_0^2$ è ottenuta considerando una barriera di potenziale di ~ 2 eV che risulta in un valore di circa $\sim 1 \cdot 10^{-3} \text{ eV}^2$. Va sottolineato che questi valori dei parametri sono approssimati. Pertanto la descrizione delle costanti, deve essere considerata anch'essa come una approssimazione e in genere affidabile all'interno dell'ordine di grandezza.

3. DESCRIZIONE DEL TRASPORTO SECONDARIO DI ELETTRONI NEL PS I

Le cinetiche di ossidazione del fillochinone A_1^- da parte del centro $4\text{Fe-4S } F_x$ sono descritte da cinetiche dominate, nei ceppi selvatici, da due componenti caratterizzate da tempi di vita nell'intervallo dei 5-25 ns e dei 200-350 ns (e.g. Santabarbara et al., 2005; 2010a; Rappaport et al., 2006). È stata anche osservata una fase “intermedia”, a cui è associato un tempo di vita di circa 160-180 ns (e.g. Agalarov e Brettel, 2003; Byrdin et al., 2007). Esiste al momento un consenso generale nel considerare che il componente veloce (5-25 ns) rappresenti l'ossidazione di A_{1B}^- mentre la fase “lenta” (200-350 ns) sia dominata dall'ossidazione di A_{1A}^- , in accordo con il modello di trasporto di elettroni (ET) bidirezionale. Le evidenze sperimentali a favore del trasporto bidirezionale sono state ottenute dall'analisi di mutanti del centro di reazione del PS I, in cui le catene laterali di residui coinvolti nei siti di legame dei fillochinoni A_1 e delle clorofille A_0 sono state sostituiti nelle subunità PsA e PsB. Nel caso dei fillochinoni la principale interazione con la proteina è

di tipo idrofobico (“ π -stacking”) tramite l’anello indolico di un residuo di triptofano (PsaA-Trp697, PsaB-Trp677, la numerazione si riferisce a *S. elongatus*). La sostituzione del residuo PsaA-Trp697 con diverse catene laterali determina un rallentamento delle cinetiche di ossidazione, a seguito di una variazione del componente da 250 ns (WT) che passa a un valore nell’intervallo dei 450-1200 ns nei mutanti (Rappaport et al., 2006; Santabarbara et al., 2005; 2010a). D’altra parte, i tempi di vita della fase rapida di ossidazione (~ 20 ns) non sono influenzati da mutazioni della proteina PsaA. L’effetto opposto è stato osservato per mutanti del residuo PsaB-Trp677 che producono un rallentamento del tempo di vita di ~ 20 ns (WT) a 40-80 ns, mentre il valore del componente di ~ 250 ns rimane costante. Significativamente, in doppi mutanti PsaA-Trp697/PsaB-Trp677 si osserva un rallentamento di entrambe le componenti (Rappaport et al., 2006; Santabarbara et al., 2005). Questo tipo di comportamento viene osservato non solo nei mutanti dei residui coinvolti nell’interazione- π , ma in generale per sostituzione di residui presenti nell’intorno del sito di legame dei chinoni, e spesso l’effetto sulle componenti cinetiche è comparabile a quello che si osserva per i residui che apparentemente interagiscono più strettamente con le molecole di cofattori attivi nel trasporto redox (Rappaport et al., 2006; Santabarbara et al., 2005; 2010a).

Le strutture indicano anche che solo uno dei gruppi chetonici di entrambi i chinoni è localizzato in prossimità di un possibile donatore di legame idrogeno, il legame peptidico che coinvolge i residui PsaA-Leu722 e PsaB-Leu706. Per cui non è possibile sopprimere completamente questa interazione, attraverso la sostituzione della catena laterale. Nonostante questo, in mutanti in cui la leucina è stata sostituita sia con una treonina che con una tirosina, è stato osservata una accelerazione dei tempi di decadimento, in particolare in mutanti della subunità PsaA-Leu722 e il tempo di vita “lento” diviene ~ 180 ns rispetto a 250 ns nel WT, mentre in mutanti di PsaB-Leu706 diviene ~ 15 invece di 25 ns (Santabarbara et al., 2010b; Srinivasan et al., 2011).

Quindi, nonostante le evidenze per il trasporto bidirezionale sono solide non c’è una spiegazione semplice, dal punto di vista strutturale, per la differenza di circa un ordine di grandezza dei tempi di vita associati all’ossidazione di A_{1A}^- e A_{1B}^- . Il legame di entrambi i fillochinoni alle rispettive subunità proteiche, PsaA e PsaB è molto simile. F_x è un accettore comune a entrambe le catene di trasferimento di elettroni, e la distanza “edge-to-edge” tra i due chinononi e F_x è la medesima, nel limite di frazioni di Å. Pertanto, è ragionevole considerare che i tempi di vita da ~ 20 -ns and ~ 250 -ns siano causati da diverse proprietà

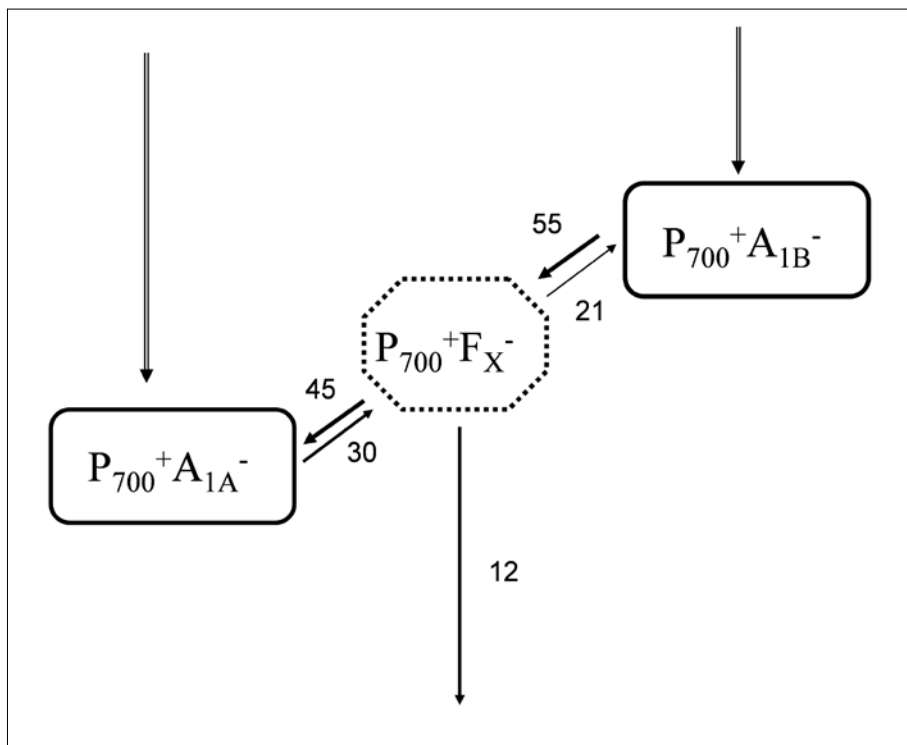


Fig. 2 *Modello cinetico delle reazioni di trasporto elettronico secondario nel fotosistema I. Le velocità di reazione sono riportate in μs^{-1}*

chimico-fisiche del sistema, come l'energia di riorganizzazione (λ_i) o differenze di energia libera (ΔG^0). Il valore di λ_i dovrebbe essere, con buona approssimazione, relativamente costante per porzioni ristrette del complesso proteico. È improbabile spiegare un ordine di grandezza di differenza nei tempi di vita misurati per i fillochinoni che distano meno di 15 Å tra loro solo nei termini di distinti valori di λ_i .

È stato quindi proposto un modello relativamente semplice (Santabarbara et al., 2005a), che descrive in modo semi-quantitativo la cinetica di ossidazione e che considera un importante contributo della reversibilità del ET per entrambe le reazioni di ossidazione ($A_{1A/B}^- \rightarrow F_x^-$), mentre il successivo passo nella catena di trasferimento, rappresentato dalla riduzione di F_A da parte di F_x^r (l'apice *r* indica la forma ridotta del centro 4Fe-4S) è considerato come sostanzialmente irreversibile e quindi associato a un valore largamente negativo di $\Delta G_{F_x^r \rightarrow F_A}^0 \leq -150$ meV derivante dalle titolazioni redox dei cofattori (fig. 2).

Considerando un valore comune di λ_i è necessario aggiustare solo i valo-

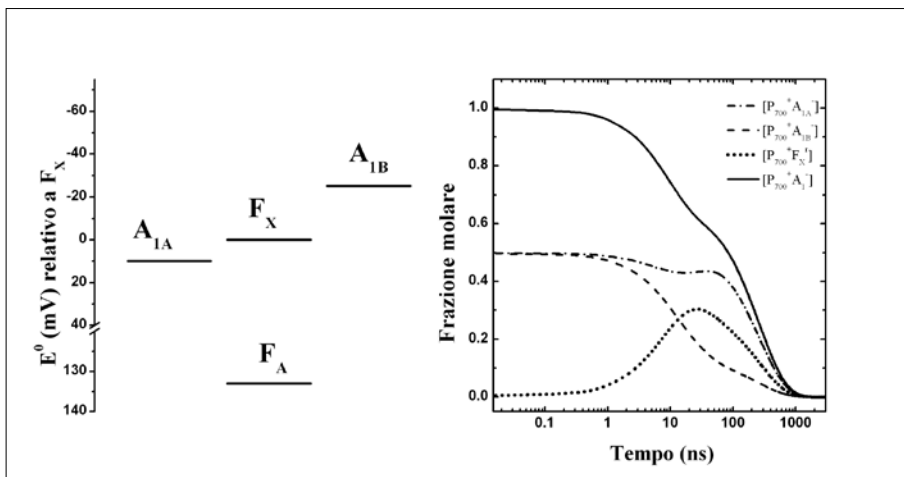


Fig. 3 Pannello A: schema energetico dei cofattori coinvolti nelle reazioni secondarie, utilizzando come riferimento interno. Pannello B: Evoluzione temporale delle popolazione delle coppie radicaliche $[P_{700}^+ A_{1A}^-]$ (linea tratteggiata), $[P_{700}^+ A_{1B}^-]$ (linea punto-tratto) e $[P_{700}^+ F_X^-]$ (linea punteggiata). È inoltre riportata l'evoluzione di $[P_{700}^+ A_{1A}^-]$ totale. Tempi di vita derivati dal modello: 9 ns, 21 ns, 258 ns

ri dell'energia libera, dato che, come descritto nella sezione 2, tutti gli altri parametri sono fissati o derivati dal modello strutturale, come ad esempio le distanze che sono 9 Å tra $A_{1A/B}$ e F_X e 11.6 Å tra F_X e F_A . Per valori di λ_i dell'ordine di 0,5-0,75 eV, ovvero quelli comunemente riportati per proteine attive nel trasferimento elettronico, il valore di $\Delta G_{A_{1A}^- \rightarrow F_X}^0$ varia tra 0 e 50 meV e quello di $\Delta G_{A_{1B}^- \rightarrow F_X}^0$ tra - (15-50) meV, così che, in generale, $\Delta G_{A_{1A}^- \rightarrow F_X}^0 \pm 2,5 k_b T$ a temperatura ambiente. Inoltre, da questi valori di $\Delta G_{A_{1A/B}^- \rightarrow F_X}^0$ risulta che la differenza di potenziale redox standard tra i due fillochinoni è nell'intervallo 20-120 mV che è relativamente contenuta, e può essere razionalizzata sulla base della diversa forza del legame idrogeno tra i due fillochinoni e le rispettive subunità proteiche PsaB e PsaA come suggerito da recenti analisi spettroscopiche (Berthold et al., 2012).

In figura 3 sono riportate le evoluzioni della popolazione delle coppie radicaliche $[P_{700}^+ A_{1A}^-]$, $[P_{700}^+ A_{1B}^-]$ e $[P_{700}^+ F_X^-]$ calcolate secondo il modello minimo appena descritto e considerando un valore medio di $\lambda_i = 0.7$ eV. In questo caso, il valore di $\Delta G_{A_{1A}^- \rightarrow F_X}^0 = 10$ meV, quello di $\Delta G_{A_{1B}^- \rightarrow F_X}^0 = -25$ meV. Le caratteristiche più significative di questa descrizione dell'ossidazione di A_{1A}^- possono essere riassunte come:

- i. la reazione di ossidazione A_{1A}^- appare essere accoppiata a un gradiente energetico minore rispetto all'ossidazione di A_{1B}^- . Mentre l'ossidazione di A_{1B}^- appare essere sempre favorevole dal punto di vista termodinamico, quella

- di A_{1A}^- sembra essere leggermente endoergonica o, al limite, leggermente esoergonica. Quindi, queste reazioni sono trascinate energeticamente dall'accoppiamento con l'ossidazione di F_x^r che è largamente favorevole.
- ii. Le reali costanti di velocità per l'ossidazione dei due fillochinoni, $k_{A_{1A}^- \rightarrow F_x}$ e $k_{A_{1B}^- \rightarrow F_x}$ differiscono solo di un fattore due. Per l'esempio riportato sopra i valori sono $30 \mu s^{-1}$ e $55 \mu s^{-1}$, mentre la differenza nei tempi di vita (che sono descritti dagli autovalori del modello cinetico) è circa dieci volte. Ciò è dovuto alla differenza nelle velocità della reazione *inverse* ($k_{F_x^r \rightarrow A_{1A}^-}$), che sono determinate dalle rispettive costanti di equilibrio. Se la reazione $A_{1A}^- \rightarrow F_x$ è leggermente endoergonica ne consegue che $k_{F_x^r \rightarrow A_{1A}^-} \geq k_{A_{1A}^- \rightarrow F_x}$, l'opposto per $A_{1B}^- \rightarrow F_x$.
- iii. In questo scenario energetico, l'approssimazione comunemente adottata $\tau_{obs}^{-1} \sim k_{ET}$, in cui τ_{obs}^{-1} è il tempo di vita misurato e k_{ET} è la vera costante di velocità, non è applicabile. In particolare, per le reazioni considerate, l'approssimazione è accettabile per $A_{1B}^- \rightarrow F_x$ ma non per $A_{1A}^- \rightarrow F_x$.
- iv. Dato che il modello cinetico considera tre intermedi, risultano tre tempi di vita calcolati. Vale a dire, più di quelli normalmente risolti sperimentalmente. Per il modello delle figura 2, due di questi tempi di vita sono compresi nell'intervallo di 8-30 ns; comunemente, a uno di questi tempi di vita è associata un'ampiezza frazionale molto piccola quando viene considerata l'evoluzione totale della coppia radicalica $[P_{700}^+ A_1^-] = ([P_{700}^+ A_{1A}^-] + [P_{700}^+ A_{1B}^-])$. Per tanto il tempo misurato di ~ 20 ns è descritto collettivamente dai due componenti (9 e 21 ns) che nella modellistica hanno valori nell'ordine della decina di nanosecondi. Il tempo di vita più lungo misurato sperimentalmente invece corrisponde direttamente a quello ricavato dalla modellistica.
- v. La piccola ampiezza associata al secondo tempo nelle decine di ns quando viene considerato il suo contributo totale a $[P_{700}^+ A_1^-]$ è dovuto al segno opposto dell'ampiezza (gli autovettori associati a questo autovalore del modello cinetico) nelle due coppie radicaliche che contengono i fillochinoni. Il segno è positivo per $[P_{700}^+ A_{1B}^-]$, indicando un decadimento, mentre è negativo per $[P_{700}^+ A_{1A}^-]$, cioè un popolamento di questa coppia radicalica. Questo è interpretabile come un effettivo trasferimento netto di popolazione da A_{1B}^- a A_{1A}^- , mediato da F_x^r (Santabarbara et al., 2010b), favorito dal fatto che la coppia A_{1A}^-/A_{1A} sia la più ossidante della terna considerata.
- Il modello appena descritto non intende descrivere quantitativamente i risultati sperimentali, tuttavia fornisce una descrizione semi-qualitativa che fornisce una spiegazione semplice per evidenze sperimentali diverse, in termini di una singola variabile microscopica, la differenza di energia libera stan-

dard per le reazioni. È altresì evidente che ulteriori studi sono necessari per delucidare con precisione i valori dei parametri chimico-fisici che controllano queste reazioni.

RIASSUNTO

Le cinetiche di trasporto di elettroni che coinvolgono gli accettori secondari all'interno del centro di reazione del fotosistema (PS) I sono descritte da complessi decadimenti multi-esponenziali. Questo è in parte dovuto al fatto che nel PS I esistono due catene di trasporto funzionali, mentre una sola è attiva nel PS II. I tempi di vita misurati sembrano suggerire differenze nell'ordine di 10 volte nella velocità di reazione tra le due catene. D'altra parte i dati strutturali non forniscono elementi in grado di razionalizzare questa differenza. Viene qui descritto un modello in cui i dati sperimentali possono essere spiegati in termini di differenti valore per le differenze nell'energia libera di Gibbs associata alle due catene di trasporto attive nel PS I.

ABSTRACT

The kinetics of electron transfer involving the secondary electron transfer acceptors in the reaction centre of Photosystem (PS) I are described by complex multi-exponential decay. This is in part explained by the observation that two parallel electron transfer chains are active in electron transfer process, according to the bidirectional mechanism. The measured lifetimes suggests difference of about an order of magnitude in between the oxidation kinetics attributed to the two electron transfer chains. Yet, the structural data do not provide elements which allow to rationalise such differences. It is here described a kinetic model by which the experimental data are explained in terms of distinct Gibbs free energy difference associated with the reactions occurring on the two parallel redox chains of PS I.

BIBLIOGRAFIA

- AGALAROV R., BRETTEL K. (2003): *Temperature dependence of biphasic forward electron transfer from the phyloquinone(s) A1 in photosystem I: only the slower phase is activated*, «Biochim. Biophys. Acta», 1604, pp. 7-12.
- BEN-SHEM A., FROLOW F., NELSON N. (2003): *Crystal structure of plant photosystem I*, «Nature», 426, pp. 630-635.
- BERTHOLD T., VON GROMOFF E.D., SANTABARBARA S., STEHLE P., LINK G., POLUEKTOV O.G., HEATHCOTE P., BECK C.F., THURNAUER M.C., KOTHE G. (2012): *Exploring the electron transfer pathways in photosystem I by high-time-resolution electron paramagnetic resonance: observation of the B-side radical pair $[P_{700}^+ A_{1B}^-]$ in whole cells of the deuterated green alga Chlamydomonas reinhardtii at cryogenic temperatures*, «J. Am. Chem. Soc.», 134, pp. 5563-5576.

- BRETTEL K. (1997): *Electron transfer and arrangement of the redox cofactor in photosystem I*, «Biochim. Biophys. Acta», 1318, pp. 322-373.
- BYRDIN M., SANTABARBARA S., GU F., FAIRCLOUGH W.V., HEATHCOTE P., REDDING K., RAPPAPORT F. (2006): *Assignment of a kinetic component to electron transfer between iron-sulfur clusters F_X and $F_{A/B}$ of Photosystem I*, «Biochim. Biophys. Acta», 1757, pp. 1529-1538.
- DEVULT D. (1984): *Quantum-Mechanical Tunnelling in Biological Systems*, Cambridge University Press, Cambridge.
- GOBETS B., VAN GRONDELLE R. (2001): *Energy transfer and trapping in Photosystem I*, «Biochim. Biophys. Acta», 1507, pp. 80-99.
- JENSEN P.E., HALDRUP A., ROSGAARD L., SCHELLER H.V. (2003): *Molecular dissection of photosystem I in higher plants: topology structure and function*, «Physiol. Plant.», 119, pp. 313-321.
- JORDAN P., FROMME P., WITT H.T., KLUKAS O., SAENGER W., KRAUSS N. (2001): *Three-dimensional structure of cyanobacterial Photosystem I at 2.5 Å resolution*, «Nature», 411, pp. 909-917.
- MARCUS R.A., SUTIN N. (1985): *Electron transfer in chemistry and biology*, «Biochim. Biophys. Acta», 811, pp. 265-322.
- MOSER C.C., KESKE J.M., WARNCKE K., FARID R.S., DUTTON P.L. (1992): *Nature of biological electron transfer*, «Nature», 355, pp. 796-802.
- MÜLLER M.G., NIKLAS J., LUBITZ W., HOLZWARTH A.R. (2003): *Ultrafast transient absorption studies on Photosystem I reaction centers from Chlamydomonas reinhardtii*, «Biophys. J.», 85, pp. 3899-3922.
- MÜLLER M.G., SLAVOV C., LUTHRA R., REDDING K.E., HOLZWARTH A.R. (2010): *Independent initiation of primary electron transfer in the two branches of the photosystem I reaction center*, «Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.», 107, pp. 4123-4128.
- RAPPAPORT F., DINER B.A., REDDING K. (2006): *Optical Measurements of Secondary Electron Transfer in Photosystem I*. In: Golbeck JH, ed. *Photosystem I: The Light-Driven Plastocyanin: Ferredoxin Oxidoreductase*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 223-244.
- SANTABARBARA S., HEATHCOTE P., EVANS M.C.W. (2005): *Modelling of the electron transfer reactions in Photosystem I by electron tunnelling theory*, «Biochim. Biophys. Acta», 1708, pp. 283-310.
- SANTABARBARA S., GALUPPINI L., CASAZZA A.P. (2010a): *Bidirectional electron transfer in the reaction centre of photosystem I*, «J. Integr. Plant. Biol.», 52, pp. 735-749.
- SANTABARBARA S., REIFSCHNEIDER K., JASAITIS A., GU F., AGOSTINI G., CARBONERA D., RAPPAPORT F., REDDING K.E. (2010b): *Interquinone electron transfer in photosystem I as evidenced by altering the hydrogen bond strength to the phylloquinone(s)*, «J. Phys. Chem. B.», 114, pp. 9300-9312.
- SRINIVASAN N., SANTABARBARA S., RAPPAPORT F., CARBONERA D., REDDING K., VAN DER EST A., GOLBECK J.H. (2011): *Alteration of the H-bond to the A_{1A} phylloquinone in Photosystem I: influence on the kinetics and energetics of electron transfer*, «J. Phys. Chem. B.», 115, pp. 1751-1759.