Maciej Michalik, streszczenie rozprawy doktorskiej

Badanie mechanizmu przekazu energii w antenach fotosyntetycznych poprzez wymianę kofaktorów techniką rekonstytucji

Fotosyntetyczne kompleksy antenowe zapewniając wydajną absorpcję i transfer energii wzbudzenia do centrum reakcji z 100% wydajnością kwantową, odpowiadają za zbieranie energii słonecznej i zasilanie pierwotnych reakcji w procesie fotosyntezy. W warunkach nadmiernego oświetlenia kompleksy antenowe regulują strumień energii, dzięki czemu pełnią także funkcję ochronną aparatu fotosyntetycznego. Dla prawidłowego funkcjonowania anten kluczowa jest precyzyjna organizacja przestrzenna i dostrojenie właściwości fotofizycznych chromoforów związanych z kompleksami.

Celem pracy było poznanie mechanizmu funkcjonowania kompleksów antenowych fotosystemu II roślin wyższych (LHCII) i bakterii purpurowych (LH1) poprzez przeprowadzenie rekonstytucji kompleksów pozwalającej na wbudowanie do nich niklowych pochodnych chlorofili (Ni-Chl i Ni-BChl), a następnie analizę wpływu modyfikowanych barwników na własności i funkcjonowanie tych kompleksów. Ni-(B)Chl charakteryzuje się niezwykle krótkim (< 100 fs) czasem życia stanu wzbudzonego i 100% wydajnością dyssypacji energii wzbudzenia na drodze termicznej. Dzięki temu po wbudowaniu do kompleksu antenowego w miejsce barwników natywnych Ni-(B)Chl może służyć jako spektroskopowa sonda energetycznego sprzężenia chromoforów i ścieżek wewnątrzkompleksowego przekazu energii. Wymianę barwników w LH1 zrealizowano poprzez usunięcie stabilizujących strukturę kompleksu karotenoidów, dysocjację kompleksu na podjednostki, stopniowe podstawienie Ni-BChl*a* w miejsce BChl*a* oraz indukowaną karotenoidami oligomeryzację podjednostek. Chlorofile w LHCII wymieniono indukując fałdowanie ekspresyjnej apoproteiny w obecności barwników natywnych i Ni-pochodnych Chl*a* i Chl*b*. Dzięki specyficzności miejsc wiążących Chl*a* i Chl*b* w LHCII Ni-Chl*a* i Ni-Chl*b* mógł zostać wbudowany selektywnie. Po izolacji zmodyfikowanych LH1 i LHCII przeprowadzono pełną charakterystykę modelowych kompleksów poprzez analizę składu barwnikowego, pomiary widm absorpcji, dichroizmu kołowego i emisji fluorescencji oraz czasu życia emisji fluorescencji.

Stwierdzono, że skład barwnikowy LH1 można modyfikować w szerokim zakresie, oraz że zachodzi korelacja pomiędzy ilością wbudowanego Ni-BChl*a*, a stopniem wygaszenia emisji fluorescencji kompleksu. Pojedyncza cząsteczka Ni-BChl*a* jako pułapka wzbudzenia w antenie wygasza emisję 20 sąsiadujących z nią cząsteczek BChl*a*, co świadczy o silnym sprzężeniu ekscytonowym barwników i delokalizacji wzbudzenia w tej antenie. Kompleks LHCII posiadający Ni-Chl*a* lub Ni-Chl*b* występuje w postaci monomerów i traci zdolność do tworzenia formy trimerycznej będącej jego podstawową jednostką funkcjonalną. LHCII silniej wiąże Ni-Chl*a*, który zastępuje Chl*a* jedynie w nielicznych miejscach wiążących, podczas gdy wszystkie miejsca wiązania Chl*b* wykazują specyficzność wobec centralnego

jonu Mg^{2+} i nie rozpoznają niklowych analogów Chl. W przeciwieństwie do LH1 wbudowanie pułapki wzbudzeń do LHCII nie wywołuje drastycznych zmian w funkcjonowaniu i przekazie wzbudzenia w kompleksie, ponieważ wydajność transferu energii z Chl*b* na będący terminalnym emiterem Chl*a* obniża się proporcjonalnie do stopnia zawartości Ni-Chl w LHCII. Świadczy to o słabym sprzężeniu ekscytonowym Chl oraz o obecności wielu kanałów dystrybucji wzbudzenia w LHCII. Biorąc pod uwagę wielofunkcjonalność LHCII, który poza zbieraniem energii słonecznej pełni także funkcje fotoprotekcyjne, regulacyjne i strukturalne, uzyskane wyniki potwierdzają wysoką specjalizację i zdolność do adaptacji kompleksów antenowych roślin wyższych.

Spis publikacji na podstawie których przygotowana została rozprawa:

1. Heriyanto, Michalik, M., Brotosudarmo, T. H. P., Limantara, L., and Fiedor, L. (2014) Reconstitution Approach to Tune Spectral Features of Light Harvesting Complexes for Improved Light Absorption and Energy Transfer, *Energy Procedia*. Elsevier B.V. 47, p. 113–122.
2. Lambrev, P. H., Miloslavina, Y., van Stokkum, I. H. M., Stahl, A. D., Michalik, M., Susz, A., Tworzydło, J., Fiedor, J., Huhn, G., Groot, M. M.-L., van Grondelle, R., Garab, G., and Fiedor, L. (2013) Excitation Energy Trapping and Dissipation by Ni-Substituted Bacteriochlorophyll a in Reconstituted LH1 Complexes from Rhodospirillum rubrum, *J. Phys. Chem. B* 117, p. 11260–11271.
3. Fiedor, L., Fiedor, J., Pilch, M., Susz, A., and Michalik, M. (2012) Controlling Structural and Functional Features of Photosynthetic Antenna, *Acta Phys. Pol. A* 122, p. 255–258.

15 -05- 2018