



Universiteit
Leiden

The Netherlands

**Ab initio modeling of primary processes in photosynthesis :
protein induced activation of bacteriochlorophylls for efficient
light harvesting and charge separation**

Wawrzyniak, P.K.

Citation

Wawrzyniak, P. K. (2011, January 26). *Ab initio modeling of primary processes in photosynthesis : protein induced activation of bacteriochlorophylls for efficient light harvesting and charge separation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/16380>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/16380>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Summaries

Summary

When in 1780 the English chemist Joseph Priestley was performing his famous experiment with a mint plant and a burning candle enclosed in a glass jar, he was probably not aware of the importance of the process he was going to discover. Now, 230 years later, we know a lot more about photosynthesis, but still many details, like the origin of the functional asymmetry in bacterial reaction centers, remain unknown. A detailed understanding of those processes may provide a significant insight as to the nature and functioning mechanism of the solar energy conversion machinery. This knowledge will be beneficial for the development of artificial photosynthetic devices, which would facilitate the solution of the global energy problem. The work presented in this thesis focuses on the functional asymmetry and the role of bacteriochlorophylls *a*-protein interactions in the bacterial reaction center and light-harvesting complex II, providing a basis for building a model of the electron transfer process.

Specifically, the aim of this thesis is to investigate interactions between bacteriochlorophylls *a* and neighboring residues, mostly histidines, both in the LH2 and BRC systems in order to address the open questions regarding the nature of BChl *a*-His complexes and asymmetry of the special pair. The electronic structure of the special pair may be perturbed both in the ground and excited states by proximal histidines, facilitating thereby the asymmetric electron transfer along one of the protein branches. Since histidine properties and activity depend on the imidazole ring nitrogens, it is crucial to know their

exact protonation state, which is generally hard to derive from structural data. Also it is important to gain a deeper insight into the electronic structure of BChl *a*-His complexes, especially in view of recent experiments revealing a rather unusual behavior for the histidyl residues in the LH2 complex. To reach these goals molecular modeling tools based on quantum chemistry and in particular on density functional theory are used. An introduction to the theoretical approach is given in chapter **2**.

The study presented in chapter **3** revolves around NMR chemical shifts for various protonation states of histidine imidazole ring and presents an investigation of, among others, the neutral _{π} and anionic species, which have not been widely studied so far. The bacteriochlorophyll *a*-histidine complexes in the LH2 system are also analyzed in detail. It is found that due to protein-induced steric and electrostatic stress, the Mg-coordinated histidines are pushed closer to the corresponding BChl *a* molecules, thereby inducing a much larger charge transfer. This charge transfer is found to depend on the distance between the two species and their relative orientation. As a result, the imidazole ring of the axial His residues is in a frustrated state much different from the formal neutral _{π} . These results clarify the unusual behavior observed experimentally for some histidyl residues in the LH2 complex.

The following two chapters shift the focus to the special pair of the bacterial reaction center. Since both bacteriochlorophylls *a* of the special pair form, similarly to LH2, a BChl *a*-His complex with the N _{τ} nitrogen of histidine, the knowledge of His protonation states is crucial. Therefore, chapter **4** concentrates on the protonation state assignment for the axial and non-axial histidines in BRC. It is established that the four axial ones are neutral with the N _{π} atom protonated. Interestingly, one of them has a special electronic structure which is different from the other three due to the presence of a hydrogen-bonded water at the N _{π} nitrogen. This interaction causes a reorganization of electron density within the imidazole ring, in turn inducing the coordinated histidine and bacteriochlorophyll *a* to come closer. Based solely on these results it is however difficult to establish whether His L173 or His M202 is the “special” one, as both have a water molecule in the vicinity of the N _{π} nitrogen.

Finally, chapter 5 shows that the electronic asymmetry is an intrinsic property of the special pair and is strongly modulated by the specific orientation of the 3^1 acetyl group of P_L bacteriochlorophyll *a*. When out of plane, the bulky P_L acetyl group penetrates heavily the P_M electronic density inducing the asymmetry, which can be neutralized by rotation of the P_L acetyl into the bacteriochlorophyll *a* plane. The orientation of the group is forced and maintained by the hydrogen bond with His L168. Changes in the acetyl orientation are reflected in the absorption spectrum and in the localization of the relevant molecular orbitals and therefore, the biophysical properties of the special pair can be tuned in this way. It is also found that the P_M BChl *a* has consequently a larger electron density than P_L , and that the asymmetry is slightly enhanced by the axial histidines due to differences in their relative orientation with the respect to the corresponding bacteriochlorophylls *a*.

In chapter 6 the results described in the previous parts are used to propose a model for the primary electron transfer based on a proton-coupled electron transfer mechanism. It involves proton transfer or a shift in the hydrogen bond equilibrium between His M202 and the nearby water molecule, which would cause the histidine to attain a partially negative character. A new hydrogen bond between the water molecule and the 13^1 carbonyl of B_A would be then formed. Subsequent fine tuning of the B_A redox potential through the 13^1 carbonyl, as well as charge transfer and shortening of the His M202– P_M distance, would facilitate the electron transfer from P^* to B_A . Next, as a consequence of the charged BChl *a* preference to be coordinated to the carbonyl rather than to the methyl group, the 3^1 acetyl of P_L would rotate breaking the hydrogen bond with His L168. This rotation would effectively stabilize the positive charge on the special pair and prevent charge recombination. In that respect the acetyl group would act as a valve for that process.

Samenvatting

Toen de Engels chemicus John Priestley in 1870 zijn beroemde experiment uitvoerde met een muntplant en een brandende kaars opgesloten in een glazen pot, was hij zich waarschijnlijk niet bewust van het belang van het proces dat

hij zou gaan ontdekken. Nu, 230 jaar later, weten we veel meer van de fotosynthese, maar nog steeds zijn er veel details onbekend, zoals de oorsprong van de functionele asymmetrie in bacteriele reactie centra. Een gedetailleerd begrip van die processen geeft mogelijk een belangrijk inzicht in de natuur en functie van de zonne-energie conversie machinerie. Deze kennis zal ten goede komen aan de ontwikkeling van kunstmatige fotosynthetische apparaten, wat de oplossing voor het globale energie probleem zou faciliteren. Het werk gepresenteerd in dit proefschrift is gericht op de functionele asymmetrie en de rol van de bacteriochlorofyll *a*-eiwit interacties in het bacteriele reactiecentrum en licht-antenne complex 2, om zo een basis te leggen voor een model voor het proces van electron overdracht.

In het bijzonder is het doel van dit proefschrift om interacties tussen bacteriochlorofyllen *a* en naburige residuen, met name histidines, te bestuderen in LH2 en BRC systemen, om zo de open vragen te beantwoorden aangaande de natuur van BChl *a*-His complexen en de asymmetrie van het speciale paar. De electronische structuur van het speciale paar zou verstoord kunnen zijn in zowel de grond- als in de aangeslagen toestanden door naburige histidines en zo de asymmetrische electron overdracht faciliteren langs één van de eiwit takken. Aangezien de eigenschappen en activiteit van histidines afhangen van de imidazool ring stikstoffen, is het cruciaal om hun exacte geprotoneerde toestand te weten, welke in het algemeen moeilijk te halen valt uit structurele data. Ook is het belangrijk om een beter inzicht te verkrijgen in de electronische structuur van BChl *a*-His complexen, vooral in het kader van recente experimenten die een nogal ongebruikelijk gedrag tonen voor de histidyl residuen in het LH2 complex. Om deze doelen te bereiken zijn moleculaire modelering-middelen toegepast, die gebaseerd zijn op de quantum chemie en in het bijzonder op dichtheids-functionaaltheorie. Een inleiding in de theoretische benadering wordt gegeven in hoofdstuk 2.

De studie gepresenteerd in hoofdstuk 3 gaat over NMR chemische verschuivingen voor verschillende protonatietoestanden van de histidine imidazool ring en presenteert een onderzoek naar, onder andere, de neutral π en anionische variant, die tot dusver niet wijdverbreid onderzocht zijn. De bacteriochlorofyll *a*-histidine complexen in het LH2 systeem zijn ook in detail geana-

lyseerd. Er is gevonden dat door eiwit-geïnduceerde en electrostatische stress, de Mg-gecoördineerde histidines dichter tegen de corresponderende BChl *a* moleculen aangedrukt worden, waardoor een veel grotere ladingsoverdracht ontstaat. Deze ladingsoverdracht blijkt af te hangen van de afstand tussen de twee species alsmede hun relatieve orientatie. Als resultaat bevindt de imidazool ring van de axiale His residuen zich in een gefrustreerde toestand die erg verschilt van de formele neutral π . Deze resultaten verklaren het ongewone gedrag wat voor sommige histidyl residuen in het LH2 complex experimenteel is waargenomen.

De volgende twee hoofdstukken verschuiven het focus naar het speciale paar van het bacterieel reactiecentrum. Aangezien beide bacteriochlorofyllen *a* van het speciale paar een BChl *a*-His complex vormen met de N τ stikstof van histidine, net als in LH2, is kennis van de His protonatie-toestanden cruciaal. Daarom concentreert hoofdstuk 4 zich op de toekenning van de protonatie-toestand van de axiale en non-axiale histidines in het BRC. Er is vastgesteld dat de vier axiale histidines neutraal zijn met het N π atoom geprotoneerd. Interessant is dat één van hen een speciale elektronische structuur heeft, die afwijkt van de drie anderen, door de aanwezigheid van een waterstof-gebonden water aan de N π stikstof. Deze interactie veroorzaakt een reorganisatie van de electronendichtheid binnen de imidazool ring, waardoor vervolgens de gecoördineerde histidine en bacteriochlorofyll *a* dichter bij elkaar komen te zitten. Slechts op deze resultaten gebaseerd, is het moeilijk om vast te stellen of His L173 danwel His M202 de “speciale” histidine is, aangezien beide een water molecuul hebben in de buurt van de N π stikstof.

Hoofdstuk 5 tenslotte laat zien dat de elektronische asymmetrie een intrinsieke eigenschap is van het speciale paar en sterk gemoduleerd wordt door de specifieke orientatie van de 3¹ acetyl groep van P_L bacteriochlorofyll *a*. Wanneer hij uit het vlak ligt, dringt de omvangrijke P_L acetyl groep zwaar door in de P_M electronendichtheid, hierbij de asymmetrie veroorzakend, die geneutraliseerd kan worden door rotatie van de P_L acetyl in het vlak van de bacteriochlorofyll *a*. De orientatie van de groep wordt geforceerd en onderhouden door de waterstof brug met His L168. Veranderingen in de rotatie van de acetyl zijn gereflecteerd in het absorptie spectrum en in de plaatsing

van de relevante moleculaire orbitalen. Daarom kunnen de biofysische eigenschappen van het speciale paar op deze manier afgestemd worden. Er is ook gevonden dat de P_M BChl *a* als gevolg hiervan een grotere electronendichtheid heeft dan P_L en dat de asymmetrie enigszins versterkt wordt door de axiale histidines, door verschillen in hun relatieve orientatie ten opzichte van de corresponderende bacteriochlorofyllen *a*.

In hoofdstuk 6 worden de resultaten beschreven in de vorige delen gebruikt om een model te presenteren voor de primaire electron overdracht, gebaseerd op een proton-gekoppeld electron-overdracht mechanisme. Het betreft proton overdracht of een verschuiving in het waterstof brug-evenwicht tussen His M202 en het nabij gelegen watermolecuul, waardoor de histidine een partieel negatief ladingskarakter krijgt. Daardoor wordt een nieuwe waterstof brug gevormd tussen het watermolecuul en de 13^1 carbonyl van B_A . De daaropvolgende fijn-afstemming van de B_A redox potentiaal door de 13^1 carbonyl, alsmede de ladingsoverdracht en het verkleinen van de His M202- P_M afstand, vergemakkelijken de electron overdracht van P^* naar B_A . Vervolgens zal de 3^1 acetyl van P_L draaien en de waterstof brug met His L168 verbreken, vanwege de voorkeur van het geladen BChl *a* om gecoördineerd te zijn naar de carbonyl, meer dan naar de methyl groep. Deze rotatie zal effectief de positieve lading op het speciale paar stabiliseren en ladingsrecombinatie voorkomen. In dat opzicht zou de acetyl groep als een ventiel voor dat proces functioneren.

Streszczenie

Kiedy w 1780 roku angielski chemik Joseph Priestley przeprowadzał swoje pionierskie doświadczenie z gałązką mięty i zamkniętą w szklanym słoju palącą się świecą, najprawdopodobniej nie był świadomy znaczenia procesu który odkryje. Obecnie, 230 lat później, nasza wiedza o fotosyntezie jest znacznie większa, jednak wciąż wiele szczegółów, jak na przykład źródło pochodzenia funkcjonalnej asymetrii w fotosyntetycznym centrum reakcji bakterii (BRC), pozostaje nieznanych. Szczegółowe zrozumienie tych zagadnień może przynieść znaczący wgląd w naturę i mechanizm funkcjonowania procesu przemiany energii słonecznej. Ta wiedza przyczyni się do rozwoju urządzeń przeprowa-

działających fotosyntezę w sposób sztuczny, co być może ułatwi rozwiązanie globalnego problemu energetycznego. Badania zawarte w niniejszej rozprawie są skupione na funkcjonalnej asymetrii i roli oddziaływań pomiędzy bakteriochlorofilem *a* (BChl *a*) a białkiem w centrum reakcji bakterii i w kompleksie LH2, dając podstawy do stworzenia modelu wyjaśniającego proces przeniesienia elektronu.

W szczególności celem niniejszej dysertacji jest zbadanie oddziaływań pomiędzy bakteriochlorofilem *a* i sąsiadującymi resztami aminokwasowymi, głównie histydynowymi, w kompleksach LH2 i BRC, w celu rozwiania wątpliwości dotyczących natury kompleksów BChl *a*-His i asymetrii specjalnej pary. Struktura elektronowa specjalnej pary może być zaburzona przez sąsiadujące reszty histydynowe zarówno w stanie podstawowym jak i w stanie wzbudzonym, ułatwiając w ten sposób asymetryczne przeniesienie elektronu wzdłuż jednej z dwóch gałęzi białka. Ponieważ aktywność i właściwości histydyny zależą od atomów azotu w pierścieniu imidazolowym, znajomość ich dokładnego stanu protonowego jest niezbędna. Jednakże zazwyczaj jest on trudny do określenia na podstawie danych strukturalnych. Ponadto, ważne jest, aby uzyskać dokładniejszy wgląd w strukturę elektronową kompleksów BChl *a*-His, zwłaszcza w świetle ostatnich doświadczeń pokazujących dość nietypowe zachowanie histydyn w kompleksie LH2. Do osiągnięcia powyższych celów wykorzystano metody modelowania molekularnego oparte na chemii kwantowej, a w szczególności na teorii funkcjonałów gęstości. Krótkie omówienie podejścia teoretycznego jest przedstawione w rozdziale drugim.

Badania zaprezentowane w rozdziale trzecim koncentrują się na przesunięciach chemicznych NMR różnych stanów protonacyjnych pierścienia imidazolowego histydyny, między innymi formy anionowej oraz neutralnej π , które do tej pory nie były zbyt powszechnie badane. Szczegółowej analizie poddano również kompleksy bakteriochlorofilu *a* z histydyną w LH2. Okazuje się, że z powodu sterycznego i elektrostatycznego oddziaływania wywołanego sąsiadującym białkiem, histydyny skoordynowane z atomami magnezu są wypychane bliżej poszczególnych molekuł bakteriochlorofilu *a*, powodując tym samym większe przeniesienie ładunku. Jego wielkość zależy również od odległości pomiędzy tymi dwoma molekułami i od ich wzajemnej orientacji.

W rezultacie, pierścień imidazolowy osiowej histydyny jest w stanie zaburzone, który różni się znacznie od formalnego stanu neutralnego π . Wyniki te wyjaśniają nietypowe zachowanie niektórych histydyn w kompleksie LH2.

W kolejnych dwóch rozdziałach uwaga została skupiona na specjalnej parze centrum reakcji bakterii. Znajomość stanu protonacyjnego histydyn ma tutaj kluczowe znaczenie, ponieważ tworzą one kompleksy z bakteriochlorofilami *a* pary specjalnej przy udziale azotu N_τ , podobnie jak ma to miejsce w kompleksie LH2. Dlatego też w rozdziale czwartym skoncentrowano się na ustaleniu stanów protonacyjnych osiowych i nieosiowych histydyn w centrum reakcyjnym bakterii. Okazuje się, że cztery osiowe histydyny znajdują się w stanie neutralnym, a protonowanym atomem jest atom azotu N_π . Co ciekawe, jedna z histydyn ma specjalny stan elektronowy, odmienny od pozostałych trzech, ze względu na obecność wiązania wodorowego pomiędzy atomem azotu N_π , a pobliską cząsteczką wody. To oddziaływanie wywołuje zmianę w rozkładzie gęstości elektronowej pierścienia imidazolowego, co z kolei powoduje zbliżenie histydyny i skoordynowanego z nią bakteriochlorofilu *a*. Jednakże bazując wyłącznie na tych wynikach trudno jest ustalić, która z histydyn, His L173 czy His M202, posiada ten specjalny stan elektronowy, ponieważ obie mają cząsteczkę wody w sąsiedztwie azotu N_π .

W rozdziale piątym pokazano, że asymetria elektronowa jest wewnętrzną właściwością pary specjalnej i jest silnie modulowana przez specyficzną orientację grupy 3^1 acetylowej P_L bakteriochlorofilu *a*. Znajdując się poza płaszczyzną, obszerna grupa acetylowa P_L znacząco penetruje gęstość elektronową P_M powodując asymetrię, która może być zneutralizowana poprzez obrót grupy acetylowej P_L do płaszczyzny bakteriochlorofilu *a*. Orientacja tej grupy jest wywołana i utrzymywana poprzez wiązanie wodorowe z His L168. Zmiany tej orientacji znajdują odzwierciedlenie w widmie absorpcyjnym oraz w położeniu stosownych orbitali molekularnych, umożliwiając tym samym regulację właściwości biofizycznych pary specjalnej. Okazuje się także, że P_M bakteriochlorofil *a* ma większą gęstość elektronową niż P_L , a asymetria jest nieznacznie zwiększana przez osiowe histydyny z powodu różnic w ich położeniu względem odpowiadającym im bakteriochlorofilom *a*.

W rozdziale szóstym wyniki opisane w poprzednich rozdziałach zostały użyte do zaproponowania modelu pierwotnego przeniesienia elektronu, opartego na mechanizmie transferu elektronu sprzężonego z przeniesieniem protonu. Według zaproponowanego modelu, przeniesienie protonu lub przesunięcie równowagi wiązania wodorowego pomiędzy His M202 a pobliską cząsteczką wody spowodowałoby przyjęcie przez histydynę częściowego ujemnego charakteru. Następnie powstałoby nowe wiązanie wodorowe pomiędzy ową cząsteczką wody a grupą 13^1 karbonylową B_A . Dostrojenie potencjału redox B_A poprzez grupę 13^1 karbonylową oraz przeniesienie ładunku i skrócenie odległości pomiędzy His M202 i P_M ułatwiłoby przeniesienie elektronu z P^* do B_A . Ponieważ naładowany bakteriochlorofil *a* preferuje koordynacje z grupą karbonylową a nie metylową, grupa 3^1 acetylowa P_L obróciłaby się doprowadzając do zerwania wiązania wodorowego z His L168. Rotacja ta efektywnie ustabilizowałaby dodatni ładunek na parze specjalnej i zapobiegłaby jego rekombinacji. Tym samym grupa acetylowa odgrywałaby rolę zaworu w tym procesie.

