



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Photodynamics of Light Harvesting Systems

Ruijter, Ward Piet Frans de

Citation

Ruijter, W. P. F. de. (2005, November 7). *Photodynamics of Light Harvesting Systems*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4332>

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/1887/4332>

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

Summary

Light harvesting (LH) lies at the basis of photosynthesis, the process in which energy from the sun is stored by a photochemical reaction. The photophysics of light absorption and energy transfer is the key to a detailed understanding of the first steps in this process. This thesis describes the investigation of four types of LH systems that are expressed by bacteria, depending on light conditions. They are the LH complexes 2 and 3 from the bacterium *Rhodospseudomonas (Rps.) acidophila*, LH4 from *Rps. palustris*, and chlorosomes from the bacteria *Chlorobium (C.) tepidum*, *Chloroflexus (Cfl.) aurantiacus*, and *Prosthecochloris (Ptc.) aestuarii*. All systems have been studied by optical single-particle spectroscopy in order to eliminate the averaging effects that are typical for ensemble measurements. In this way, the spectral details of the individual systems are revealed, allowing for a better understanding of the photodynamics that are associated with their spatial structures.

The spatial structures of the LH complexes 2, 3 and 4 are ring-shaped. The pigments that are responsible for their absorption characteristics in the near infrared (NIR) are bacteriochlorophyll (BChl) *a* molecules. LH2 and LH3 both contain two rings of pigments, while LH4 has three rings. All complexes have a single ring in which the center-to-center distances between the pigments are approximately 9 Å, while the pigments of the other ring(s) are separated by around 20 Å. The shortest of the two distances results in strong electronic interactions that have a profound impact on the optical spectra.

The fluorescence excitation spectra of individual LH4 complexes from *Rps. palustris* are described and discussed in Chapter 2. The spectra are very heterogeneous and contain relatively broad as well as narrow bands, which all are polarization dependent. It is shown that an exciton model can adequately reproduce the polarization behavior of the spectra, the experimental distributions of the number of observed peaks per complex and of the widths of the absorption bands. The simulations indicate that the excited states are mainly localized on one or a few subunits of the complex, and provide further evidence supporting the recently proposed structure model which deviates significantly from the structure of the more extensively studied LH2 complex.

The lowest excited state of the LH2 complex from *Rps. acidophila*, as well as LH4 from *Rps. palustris*, is studied by means of fluorescence emission spectroscopy in Chapter 3. In general, the fluorescence spectrum is much broader than predicted by the lifetime-limited bandwidth. This result is interpreted in terms of light-induced spectral diffusion. The local dissipation of light energy leads to nuclear motion by radiationless processes. As a result, the system may relax to other conformational substates upon excitation. Moreover, the spectra of the individual complexes of LH2 and LH4 show a profound difference in their susceptibility for spectral diffusion. In Chapter 4, fluorescence spectra from individual LH3 complexes from *Rps. acidophila* are also shown to be broader than the LH2 spectra of Chapter 3. An explanation based on the structural parameters of the LH3 complex is given. In brief, the lack of a hydrogen bond to the C3-acetyl group of the β -B820 pigment increases the light-induced spectral diffusion compared to LH2. For both LH2 in Chapter 3 as LH3 in Chapter 4 it is shown that the position of the spectral maximum of the fluorescence is very sensitive to the degree of disorder in the system, which depends on the solvent matrix. It explains

the different disorder parameters between single-molecule experiments on LH2 and experiments on bulk samples.

The strong interactions that give rise to the characteristic features in the spectra from the LH complexes are also present in chlorosomes. The inter-molecular distances of the BChl molecules in these vesicular structures are of the same order as for the LH complexes from purple bacteria. The BChls are supposedly arranged into tube-like structures that lie parallel to each other. The tube-like structures transfer the energy that they absorb to a BChl *a* containing baseplate, which is situated in the lipid envelope of the chlorosome. Fluorescence from a chlorosome is emitted by this baseplate.

The spectroscopic measurements on individual chlorosomes provide not only a clean test for the degree of organization of the tube-like aggregates in the chlorosomes, but also for theoretical models that were applied to simulations of their optical spectra. In Chapter 5 we report on the fluorescence excitation spectra of individual chlorosomes and show that their spectra were heterogeneous concerning their reduced linear dichroism as well as the position of the spectral maximum. In addition, atomic force microscopy (AFM) measurements of their dimensions also showed a large range of values. Our results show that the organization of the pigments within the chlorosomes is not as uniform as has previously been assumed. Based on statistical analysis of these distributions we suggest a correlation between the size of the chlorosomes and the optical spectra.

Samenvatting

Het 'oogsten' van licht staat aan de basis van fotosynthese, het proces waarmee energie van de zon wordt opgeslagen door een fotochemische reactie. De fotofysica van absorptie en energietransport is de sleutel voor een gedetailleerd begrip van de eerste stappen in dit proces. Dit proefschrift beschrijft het onderzoek naar vier soorten licht-oogstende systemen die door bacteriën worden gemaakt, afhankelijk van het omgevingslicht. Dit zijn de LH complexen 2 en 3 van de bacterie *Rhodospseudomonas (Rps.) acidophila* (waarbij LH staat voor het Engelse 'Light Harvesting'), LH4 van *Rps. palustris* en chlorosomen van de bacteriën *Chlorobium (C.) tepidum*, *Chloroflexus (Cfl.) aurantiacus* en *Prosthecochloris (Ptc.) aestuarii*. Alle systemen zijn bestudeerd door middel van optische spectroscopie aan individuele deeltjes om het effect van middeling dat optreedt bij metingen aan een ensemble van deeltjes te elimineren. Op deze manier worden de spectrale details van de individuele systemen onthuld, wat een beter begrip van de fotodynamica die geassocieerd wordt met hun ruimtelijke structuren mogelijk maakt.

De ruimtelijke structuren van de LH complexen 2, 3 en 4 zijn ringvormig. De pigmenten die verantwoordelijk zijn voor hun absorptiekenmerken in het nabije infrarood (NIR) zijn bacteriochlorofiel (BChl) *a* moleculen. LH2 en LH3 hebben beiden twee pigment-ringen, terwijl LH4 er drie heeft. Alle complexen hebben één ring waarin de afstand tussen de middelpunten van de pigmenten ongeveer 9 Å is. In de overige ringen zijn de pigmenten gescheiden door een afstand van rond de 20 Å. De korste van de twee afstanden resulteert in sterke elektronische interacties die een vergaande invloed hebben op de optische spectra.

De fluorescentie excitatie spectra van individuele LH4 complexen van *Rps. palustris* zijn beschreven en bediscussieerd in Hoofdstuk 2. De spectra zijn erg heterogeen en hebben zowel relatief brede als smalle banden, welke allemaal polarisatieafhankelijk zijn. Het wordt aangetoond dat een exciton model zowel deze polarisatieafhankelijkheid, de experimentele distributies van het aantal geobserveerde pieken per complex als de breedte van de absorptiebanden adequaat reproduceert. De simulaties geven aan dat de geëxciteerde toestanden hoofdzakelijk zijn gelokaliseerd op één of een paar subeenheden van het complex. Bovendien ondersteunen ze het recentelijk voorgestelde structuurmodel dat significant anders is dan de structuur van het in meer detail bestudeerde LH2 complex.

De laagste geëxciteerde toestand van het LH2 complex van *Rps. acidophila* en van het LH4 complex van *Rps. palustris* wordt bestudeerd met behulp van fluorescentie emissie spectroscopie in Hoofdstuk 3. In het algemeen zijn de fluorescentie spectra veel breder dan werd verwacht op basis van een levensduur-gelimiteerde bandbreedte. Dit resultaat wordt geïnterpreteerd als het optreden van licht-geïnduceerde spectrale diffusie. De lokale dissipatie van lichtenergie leidt tot een nucleaire beweging door middel van stralingsloze processen. Dit resulteert erin dat het systeem na iedere excitatie een relaxatie kan ondergaan naar verschillende conformationele subtoestanden. De spectra van de individuele LH2 en LH4 complexen vertonen grote verschillen in hun susceptibiliteit voor spectrale diffusie. De LH2 spectra zijn significant smaller dan die van LH4. De fluorescentie spectra van individuele LH3 complexen die worden getoond in Hoofdstuk 4 zijn ook breder dan die van LH2 in Hoofdstuk 3. Een verklaring gebaseerd op de structurele parameters van het LH3 complex wordt gegeven. Het ontbreken van een waterstofbrug bij de C3-acetyl groep van de

β -B820 pigmenten zorgt voor een toename van de spectrale diffusie in vergelijking tot LH2. Voor zowel LH2 in Hoofdstuk 3 als voor LH3 in Hoofdstuk 4 wordt aangetoond dat de positie van het spectrale maximum erg gevoelig is voor de mate van wanorde in het systeem, wat afhankelijk is van de solvent matrix. Dit verklaart de verschillende waarden voor de wanorde die zijn gevonden voor experimenten aan individuele complexen en aan bulk monsters.

De sterke interacties die aan de basis liggen van de karakteristieke kenmerken in de spectra van de LH complexen zijn ook aanwezig in de chlorosomen. De intermoleculaire afstanden van de BChl moleculen in deze blaasvormige structuren zijn van dezelfde orde als voor de LH complexen van de purperbacteriën. De BChl-en worden verondersteld in cilindrische structuren te zijn geordend die naast elkaar liggen in het chlorosoom. De cilindrische structuren dragen de energie die ze absorberen over naar een “basisplaat” die BChl *a* bevat, welke in het lipide omhulsel van het chlorosoom is gesitueerd. Fluorescentie van een chlorosoom wordt door deze “basisplaat” uitgezonden.

De spectroscopische metingen aan individuele chlorosomen zijn niet alleen een goede test voor de mate van organisatie van de cilindrische aggregaten in de chlorosomen, maar ook voor de theoretische modellen die zijn gebruikt om hun optische spectra te simuleren. In Hoofdstuk 5 rapporteren wij over de fluorescentie excitatie spectra van individuele chlorosomen en laten zien dat hun spectra heterogeen zijn met betrekking tot het gereduceerde lineaire dichroïsme en de positie van het spectrale maximum. In aanvulling daarop hebben atoomkracht-microscopie (AFM) metingen aangetoond dat ook de dimensies van de chlorosomen grote variatie laat zien. Onze resultaten laten zien dat de organisatie van de pigmenten in de chlorosomen niet zo uniform is als eerder werd aangenomen. Gebaseerd op de statistische analyse van de distributies suggereren wij een correlatie tussen de grootte van de chlorosomen en de optische spectra.

