

## Forschungsschwerpunkte – Dr. Jan Michael Schuller

---

Bei der Photosynthese wandeln Zellen mithilfe von Sonnenlicht Wasser und Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) in Biomasse und Sauerstoff um. Mein Forschungsprogramm ist um genau diese beiden primären Ressourcen der Photosynthese-Maschinerie herum aufgebaut: Licht und CO<sub>2</sub>. Ich möchte im Detail verstehen, wie die Energie des Lichts genutzt wird, um CO<sub>2</sub> zu fixieren.

Eine zentrale Rolle spielt dabei das Enzym Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/-oxygenase (Rubisco), vermutlich das am häufigsten vorkommende Enzym auf der Erde. Doch Rubisco arbeitet vergleichsweise langsam und reagiert außer mit CO<sub>2</sub> auch mit Sauerstoff. Besonders die Photosynthese der Pflanzen ist von dieser Schwachstelle betroffen, und schon lange wird daran gearbeitet, die Photosynthese leistungsfähiger zu machen. Ein Blick in die Mikrobiologie verrät eine mögliche Lösung des Problems. Cyanobakterien, die ebenso wie Pflanzen die Photosynthese beherrschen, nutzen einen Trick, um ihre CO<sub>2</sub>-Fixierung besonders effizient zu gestalten. Sie bündeln Rubisco in Mikrokompartimenten namens Carboxysomen. Ebenfalls eingeschlossen in diese Gas-undurchlässigen Proteinhüllen ist noch ein zweites Enzym: die Kohlensäure-Anhydrase. Diese wandelt Bicarbonat in CO<sub>2</sub> um und erhöht somit die lokale Konzentration von CO<sub>2</sub>, und zwar genau dort, wo dies benötigt wird, nämlich in der unmittelbaren Nähe des katalytischen Zentrums der Rubisco. Deshalb geht das Enzym nur wenige Nebenreaktionen mit Sauerstoff ein und ist dadurch deutlich effizienter als in Organismen ohne Carboxysomen.

Damit dieses System reibungslos funktioniert, wird jedoch eine konstante Zufuhr von Bicarbonat benötigt, das sozusagen als Brennstoff für die CO<sub>2</sub>-Fixierung in der Cyanobakterienzelle dient. Bicarbonat wiederum wird durch eine Gleichgewichtsreaktion von CO<sub>2</sub> mit Wasser gebildet. Die für ein funktionierendes Carboxysom-System benötigte Konzentration an Bicarbonat beträgt jedoch mehr als das 30-Fache, was dieses chemische Gleichgewicht erlaubt. Die Zelle muss also Energie aufwenden, um die Bicarbonat-Konzentration, den Treibstoff für Rubisco, aktiv zu beschaffen. Die Gesamtheit der dafür zur Verfügung stehenden aktiven molekularen Maschinen und Transporter wird als Kohlenstoff-Konzentrationsmechanismus (CCM) bezeichnet. Dessen mechanistische und strukturelle Untersuchung ist der Schwerpunkt meiner aktuellen Forschung.

Meine momentane Arbeit konzentriert sich auf eine spezielle Klasse von membrangebundenen, Redox-getriebenen molekularen Protonenpumpen, nämlich die sogenannten Komplex-I-Enzyme. In photosynthetisch aktiven Bakterien ist dieser Komplex für einen molekularen Kurzschluss verantwortlich, dem zyklischen Elektronenfluss. Hierbei werden Elektronen zurück in die Elektronen-Transportkette der Photosynthese-Reaktion gespeist, um zusätzliche chemische Energie in Form von ATP zu produzieren, anstatt sie in Form von Biomasse zu speichern. Eine spezialisierte Form des NDH-1-Komplexes, der NDH-1MS-Komplex, enthält alternative Untereinheiten, die unter Verwendung der vom Redox-Cofaktor Ferredoxin gelieferten Energie die Umwandlung von CO<sub>2</sub> zu Bicarbonat entgegen dem chemischen Gleichgewicht vorantreiben.

Um zu verstehen, wie diese großen photosynthetisch aktiven Protonenpumpen funktionieren, habe ich die dreidimensionale Struktur dieser Enzymkomplexe ermittelt. Für die Bestimmung der Struktur habe ich die Einzelpartikel-Analyse mittels Kryo-Elektronenmikroskopie angewendet. Hierbei werden, im Gegensatz zum Lichtmikroskop, Elektronen für die Bildgebung der Makromoleküle verwendet. Die deutlich kleinere Wellenlänge der Elektronen erlaubt die Visualisierung deutlich kleinerer Strukturen, wie zum Beispiel die atomaren Strukturen unserer Enzyme, welche im Größenbereich von 0,1 nm liegen. Um den Elektronenstrahl nicht durch Luftmoleküle abzulenken, muss die Probe sich im Vakuum befinden. Dazu ist es notwendig, das Makromolekül in einer dünnen Schicht aus glasartigem Eis einzufrieren. Im Elektronenmikroskop werden durch eine hochsensitive Kamera Tausende Bilder des Moleküls in zufälligen Orientierungen, wie sie beim Einfrieren jeweils zustande kamen, eingefangen. Durch computergestützte Bildanalyse kann daraus dann berechnet werden, wie die Raumstruktur des Enzyms aussieht. Aus der räumlichen Struktur des Enzyms kann man nachfolgend ableiten, wie es als Biokatalysator funktioniert und wie sich die Spezifität der Reaktion gestaltet.

Unsere strukturelle Analyse zeigt, wie die Natur verschiedene Module, ähnlich Legosteinen, innerhalb dieser großen Proteine kombiniert hat, um eine neue biologische Funktion zu erhalten und sich so der jeweiligen Redox-Umgebung anzupassen. In Chloroplasten ist der hauptsächlich verfügbare Redox-Kofaktor Ferredoxin und in Mitochondrien NADH. Der L-förmige photosynthetische Komplex I ist in Struktur und Funktion homolog zum respiratorischen Komplex I. Ihm fehlt jedoch das NADH-Akzeptor-Modul am peripheren Arm, das die Untereinheiten bildet, welche die Eisen-Schwefel-Komplexe und die Flavin-Bindungsstelle enthält. Diese sind allesamt für die Oxidation von NADH und die Übertragung der Elektronen zur Reduktion von Chinon verantwortlich. Stattdessen enthält der photosynthetische Komplex I sieben Photosynthese-spezifische Untereinheiten, von denen vier an einer mutmaßlichen Bindungsstelle für reduziertes Ferredoxin beteiligt zu sein scheinen.

Um die Interaktion mit Ferredoxin genauer zu untersuchen, haben wir einen minimalen zyklischen Elektronenfluss im Reagenzgefäß nachgestellt und gezeigt, dass der Elektronentransfer von Ferredoxin auf Komplex I höchst effizient abläuft. Verantwortlich für diese effiziente Ferredoxin-Interaktion ist eine der Untereinheiten, NdhS, die einen besonders flexiblen Terminus in ihrer Struktur besitzt, welcher Ferredoxin wie eine Angel einfängt. Dadurch wird Ferredoxin direkt herangezogen und sofort in die optimale Bindeposition für die Elektronenübergabe gebracht. Dieses Ergebnis führt auf einzigartige Art und Weise die Struktur mit der Funktion des photosynthetischen Komplex I zusammen und zeigt darüber hinaus, wie die modulare evolutionäre Anpassung auf diese spezifische Redox-Umgebung erfolgt ist.

In einer weiteren Arbeit konnten wir zeigen, wie ein zweiter modularer „Legostein“ ausgetauscht wird, um eine neue Funktion zu erhalten: An der Spitze des Membranarms werden im NDH-1MS-Komplex bei Kohlenstoffmangel zwei Protonenkanäle mit alternativen Untereinheiten ersetzt. Die alternativen Varianten assoziieren dann mit einer Kohlensäure-Anhydrase, die entgegen dem chemischen Gleichgewicht  $\text{CO}_2$  hydriert, um Bicarbonat herzustellen. Die Struktur dieses Komplexes wartete mit einigen Überraschungen auf. So hatte das Proteinmodul, das für die  $\text{CO}_2$ -Umwandlung verantwortlich ist, eine einzigartige Struktur, die noch nie jemand zuvor gesehen hat. Unerwarteterweise scheint auch der Mechanismus des Komplexes nicht eine direkte Kopplung der Kohlensäure-Anhydrase mit einem Protonenkanal zu sein, der die bei der Bicarbonat-Bildung freiwerdenden Protonen aktiv entfernt. Stattdessen enthält diese Untereinheit einen hydrophoben Gastunnel, der zum aktiven Zentrum der Kohlensäure-Anhydrase führt und als „Rohrleitung“ für  $\text{CO}_2$  dienen könnte. Diese Hypothese wird durch Computersimulationen unterstützt. Am Ende der Reaktion steht der Elektronenübertrag von Ferredoxin auf Plastochinon, dem nächsten Glied in der Elektronentransportkette. Wie dieser Übertrag an einem Ende des Moleküls und über 10 nm entfernt mit der gerichteten  $\text{CO}_2$ -Hydrierung auf der anderen Seite zusammenhängt, ist Bestandteil aktiver Forschung, die im Rahmen des Emmy Noether-Programms der DFG an der Philipps Universität Marburg gefördert und durchgeführt wird.

Ein weiterer Fokus meiner Arbeitsgruppe ist es zu verstehen, wie die Assemblierung und Biosynthese von Komplexen der photosynthetischen Maschinen und Membranen vonstattengehen. Hier liegt der Schwerpunkt auf dem Photosystem II, da es das einzige Enzym ist, das Wasser in Protonen, Sauerstoff und Elektronen aufspalten kann und so die nötige Energie für die  $\text{CO}_2$ -Fixierung liefert. Diese einzigartige molekulare Maschine besteht aus mehr als 100 Teilen, die alle in präzisen Positionen platziert werden müssen, um einen funktionierenden Komplex zu bilden. Menschen haben das Konzept des Montage-Fließbands entwickelt, um

den Bau einer komplexen Maschine zeitlich und räumlich zu koordinieren. Die Natur hat eine ähnliche Lösung gefunden. Der Zusammenbau von PSII wird durch mehr als 20 Proteinfaktoren erleichtert, die helfen, einen funktionalen Komplex zu konstruieren. Allerdings waren die molekularen Mechanismen dieser Montagefaktoren noch weitgehend unbekannt, bis unsere jüngste Studie die molekulare Architektur eines wichtigen PSII-Assemblierungs-Intermediats mit drei gebundenen Assemblierungsfaktoren entschlüsselte. Unsere Struktur zeigt, wie die für die Integrität der Proteine gefährliche Photochemie des PSII während des Zusammenbaus durch die transient assoziierten Helferproteine gesteuert wird. Mit anderen Worten: Wir können nun verstehen, wie eine noch nicht zusammengebaute, aber bereits teilweise schon aktive biomolekulare Maschine vor gefährlichen Photoreaktionen geschützt wird. Die Struktur zeigte außerdem, wie das unreife aktive Zentrum des PSII aussieht, bevor das wasserspaltende Metallocluster eingebaut wird. Aus diesen Ergebnissen ergibt sich ein hervorragender Ausgangspunkt, um den interessantesten und wichtigsten Schritt in der PSII-Assemblierung zu studieren, nämlich den Aufbau des einzigartigen wasserspaltenden aktiven Zentrums.

Mit dieser wichtigen Grundlagenforschung wollen wir letztlich die katalytischen Mechanismen der Enzyme der Photosynthese so gut verstehen, dass wir in ihre Funktion eingreifen und sie letztlich für zukünftige biotechnologische Anwendungen nutzen können, um so einen Beitrag zum Klimawandel und zur Deckung des weltweit wachsenden Bedarfs an Nahrungsmitteln zu leisten.