UPPSALA
UNIVERSITET

Ett Annorlunda Solningsbeteende

grön svavelbakteries fotosyntes

Linda Holmer

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2013
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Gröna svavelbakteriers fotosyntes skiljer sig från den hos växter. Gemensamt för de båda systemen är att processen drivs av solljus samt att det sker en reduktion av koldioxid, dock bildar bakteriernas fotosyntes inte syrgas som (bi-) produkt utan svavel. Det speciella med de gröna svavelbakterierna är att de har en effektiv ljusupptagningsförmåga. Syftet med detta arbete är att undersöka hur de gröna svavelbakteriernas fotosyntes går till samt hur de kan ha en sådan effektiv ljusupptagning.

Fotosyntesen hos grön svavelbakterie drivs av flera viktiga komponenter. En sådan är klorosomen som är ett antennkomplex som absorberar ljus. Komplexet består av bakterieklorofyller som formar aggregatstrukturer utan proteininblandning (vilket spar in energikostnad), aggregatstrukturerna tros höja komplexets absorptionsförmåga. En annan viktig komponent i processen är Fenna-Matthews-Olsen (FMO) (protein) komplexet som kopplar den absorberade ljusenergin hela vägen från klorosomen till reaktionscenter. Mellan klorosomen och FMO länkar basplattan. Basplattan är ett protein-pigmentkomplex som kallas CsmA-BChl *a* (CsmA engelsk förkortning för chlorosomal protein A (klorosomprotein A); BChl *a* engelsk förkortning för bachterial chlorophyll *a* (bakterieklorofyll *a*)), och är i högsta grad inblandad i energiöverföringen. I fotosyntesprocessen ingår även karotenoider, vilka kan tillskrivas tre huvuduppgifter; inblandning i ljusansamling, strukturstabilisering och ljusskydd. Skyddet sker med en så kallad dämpningsprocess (fritt översatt från eng. quenching process) där karotenoiderna hindrar för mycket bildande av bakterieklorofylltripletter (dessa har en högre energinivå på grund av excitationer), som annars leder till ökad känslighet för fria syreradikaler.

Kartläggning av den gröna svavelbakteriens fotosyntetiska evolution skulle kunna bidra till en större förståelse för bakterien. Till exempel varför de använder ett system som är beroende av ljus när deras livsmiljöer ofta har en mycket låg ljustillgång. Större kunskap kring grön svavelbakteries fotosyntes, med tanke på dess effektiva ljusupptagning, skulle kunna bidra till utveckling av artificiell bioenergi.

Inledning

Växternas fotosyntes är en förutsättning för livet på jorden. Reaktionen involverar bland annat solljus och koldioxid, samt produkten syrgas. Men det förekommer andra former av fotosyntes. En sådan form utförs av organismer med vissa komponenter utbytta sett till den ”traditionella” fotosyntesen, men där solljuset fortfarande är en viktig del. Ett exempel på en sådan är de gröna svavelbakteriernas fotosyntes. Dessa bakterier tillhör en av tre grupper fotosyntetiserande bakterier; de andra två är cyanobakterier och purpurbakterier. Cyanobakterierna har en oxygen fotosyntes, det vill säga det produceras syrgas likt den hos växterna. De oxygena fotosyntetiserande organismerna använder vatten som elektrondonator vilket purpurbakterier och gröna svavelbakterier inte gör. Dessa två grupper utför en anoxisk fotosyntes, där ingen syrgas produceras. Som elektrondonator används reducerade ämnen (som är mer lättoxiderade), som exempelvis vätesulfid (H_2S) och svavel (S) (för att generera NADH och NADPH till koldioxidreduceringen). När vätesulfid används bildar de gröna

svavelbakterierna svavelkulor utanför cellen (hos purpurbakterier bildas svavelkulor inne i cellen). Anledningen till att de anoxiska bakterierna inte kan producera syrgas beror på att de saknar fotosystem II, de har bara ett fotosystem som motsvarar fotosystem I hos växter (Prescott *et al*. 1999).

Gröna svavelbakterier tillhör en grupp bakterier som kallas anoxyphotobacteria (Pedersen 2013). Svavelbakterierna är anaeroba[1] och fotoautotrofa[2] (Frigaard & Bryant 2004) och de är inte mobila då de saknar flageller, men vissa arter är utrustade med gasfyllda vesiklar som göra att de kan justera sig i djupled (för optimal ljusfångst eller vätesulfidtillgång). De som inte har vesiklar befinner sig i sulfidrika bottnar i sjöar och dammar. Morfologiskt kan bakterierna vara utformade som stavar, kocker och vibrier; och de kan växa enskilt eller forma kedjor samt kluster (Prescott *et al*. 1999). *Chlorobium tepidum* används oftast som modellorganism för gröna svavelbakterier, dess genom[3] har helt sekvenserats (Frigaard & Bryant 2004).

Det pågår en global fotosyntesforskning kring de gröna svavelbakteriernas förmåga att fånga ljus. På senare år har forskare kommit fram till att gröna svavelbakterier är mycket effektiva i sin ljusupptagningsförmåga (exempelvis Renger 2009; Pedersen *et al.* 2010 och Fujita *et al.* 2012). Det specifika för bakterien är att den kan samla ljus trots väldigt liten tillgång till solljus i sin omgivning. I studier har man intresserat sig för hur organismens komponenter samverkar, inte enbart för att det är en intressant organismstudie, kunskaper om denna process skulle kunna bidra till utveckling inom artificiell bioenergi i form av solceller (exempelvis Fujita *et al*. 2012 och Renaud *et al*. 2011).

Syftet med detta arbete är att undersöka hur de gröna svavelbakteriernas fotosyntes går till, samt hur deras effektiva ljusupptagningsförmåga fungerar.

Arbetets frågeställningar är;
Hur fungerar de gröna svavelbakteriernas fotosyntes; vilka mekanismer och komponenter ingår? Vilka evolutionära teorier finns kring de gröna svavelbakteriernas fotosyntes?

Arbetet inleds med en överblick av de gröna svavelbakteriernas fotosyntes som följs av en fördjupning av några viktiga delar. Innan diskussionsdelen finns ett avsnitt som behandlar evolutionen av de gröna svavelbakteriernas fotosyntes.

Anoxygen fotosyntes

Gröna svavelbakteriers fotosyntesreaktion kan skrivas;

$CO_2 + 2H_2S + \text{ljus} \rightarrow 2S + (CH_2O)$ [4] $+ H_2O$

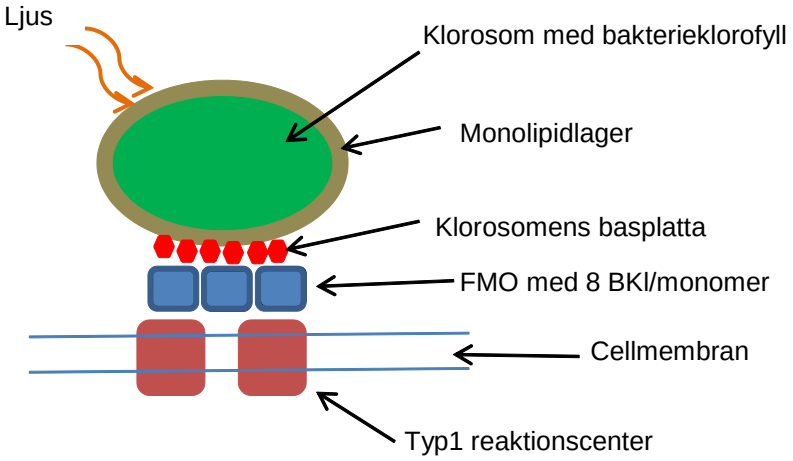
Och jämföras med växternas fotosyntesreaktion;

[1] Kan växa utan tillgång till syre, t.ex. i bottensediment i sjöar (Nationalencyklopedin 2013a).
[2] En organism som lever av ljus som enda energikälla samt CO_2 som enda kolkälla (Madigan *et al.* 2012).
[3] 2 154 946 baspar (bp), strain TLS.
[4] Förenklad formel av (organisk) kolhydratförening.

$CO_2 + 2H_2O + \text{ljus} \rightarrow O_2 + (CH_2O) + H_2O$

I växternas fotosyntes oxideras vatten till syrgas och koldioxid reduceras. Hos anoxyphotobacteria sker en oxidation av något svavelämne, istället för vatten, och en reduktion av koldioxid. Båda reaktionerna producerar organiskt kol (Björn 2013).

Gröna svavelbakterier lever i anoxiska vatten- och landmiljöer där både sulfid och solljus finns. Vanligen är ljusintensiteten mycket låg där bakterierna lever, som exempelvis i anoxiska lager i stratifierade sjöar. Ett exempel finns i Svarta Havet där *Chlorobium phaeobacteroides* lever vid ett djup på ungefär 100 meter. Ljusintensiteten där är ca 10^6 gånger lägre än vid ytan (har beräknats till ca 3 nmol fotoner m−2 s−1). För att bakterierna ska kunna överleva under dessa förutsättningar har de utvecklat ett ljusupptagningsantennkomplex, nämligen klorosomer (Frigaard & Bryant 2004).



Figur 1. Förenklad bild över de fotosyntetiserande delarna hos grön svavelbakterie. FMO; Fenna-Matthews-Olsen proteinkomplex. BKl; bakterieklorofyll (omritad efter Pedersen *et al.* 2010 och Renger 2010).

Fotosyntesprocessen i korthet

Klorosomerna är speciellt utformade fotosyntetiska antenner som gör det möjligt för gröna svavelbakterier att växa på stora djup med låg ljustillgång. Klorosomen är ellipsformad och består av en samling bakterieklorofyll (BKl). BKl är ett fotosyntetiskt pigment i likhet med klorofyller och karotenoider. Hos grön svavelbakterie finns antingen BKl *c*, *d*, eller *e* i klorosomen (Pedersen *et al*. 2010). BKl:er är inblandade i andra delar av bakteriens fotosyntes; i FMO komplexet och i basplattan. I dessa komponenter handlar det om ytterligare en form BKl, BKl *a*. Till skillnad mot andra antennkomplex (hos andra fototrofer) är klorosomens BKl inte fästa vid proteiner, utan BKl *c*, *d* och *e* är formade som täta stavliknande konstruktioner (Madigan *et al*. 2012).

I figur 1 ses en förenkling av grön svavelbakteries fotosyntesmaskineri. FMO (vattenlösligt protein) komplexet fungerar som en länk mellan klorosomen och reaktionscenter av typ 1RC. Basplattan, som är rödfärgad i figur 1, kallas CsmA-BChl *a*, är också en del av själva

antennkomplexet. Plattan överför ljusenergi till FMO som i sin tur kopplar till reaktionscenter (Pedersen *et al.* 2010). Alltså, fotoner absorberas av klorosomen (antennkomplexet) som länkar till FMO; därifrån transporteras energin till reaktionscenter där en fotokemisk reaktion sker som resulterar i kemisk energi (Thilgam 2012).

Gröna svavelbakterier använder ljus med lång våglängd och låg ljusintensitet i fotosyntesen (Pedersen *et al.* 2010). Studier visar att vid låg ljusintensitet uppgår kvantumeffektiviteten av överföringen till hela 90 % eller högre, alltså nästan varje absorberad foton når reaktionscenter där energiomvandling sker i och med en laddningsseparation. Detta sker inte hos fotosyntetiserande organismer som använder hög ljusintensitet. Där skyddas reaktionscenter av mekanismer som leder till dämpningsprocesser (fri översättning från eng. quench). De molekylära bakomliggande faktorerna till detta, både dämpning och den höga effektiviteten av ljusupptagning, är inte hundraprocentigt kartlagda i dagsläget (Renger, 2009). Det finns även frågetecken kring hur de initiala oxidationsreaktionerna (de initiala reaktionerna hos anoxygena svaveloxiderande fototrofer generellt) sker samt exakt hur produktionen och förbrukningen av svavelkulorna går till hos grön svavelbakterie (Frigaard och Bryant, 2004) (Harada *et al.* 2012). Men eftersom det har konstaterats att det finns skillnader mellan organismer som använder låg respektive hög ljusintensitet kan det vara intressant att titta närmare på några delar hos grön svavelbakterie.

Följande stycken kommer att gå in djupare på några komponenter hos grön svavelbakteries fotosyntes, informationen baseras på relativt nya forskningsstudier.

Klorosomen

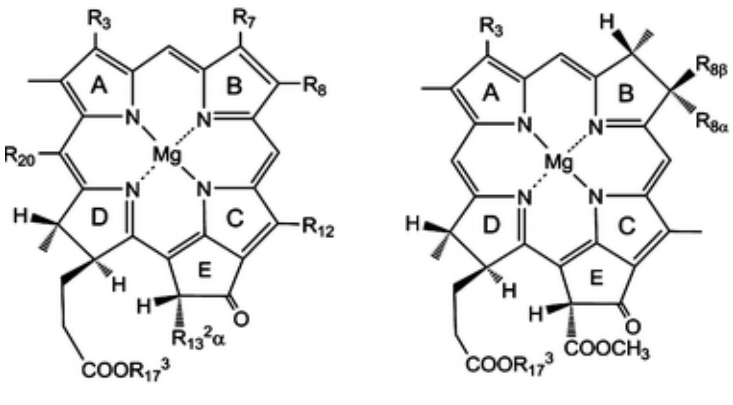
Att gröna svavelbakterier kan leva i miljöer med låg ljustillgång är tack vare klorosomerna och deras effektiva ljusupptagningsförmåga. En enda klorosom kan tillgodogöra sig stor ljusabsorption eftersom den innehåller hundratusentals BKl:er. Klorosomerna sitter på insidan av bakteriens cytoplasmamembran och storleken är runt 200 nm × 50 nm ×25 nm. Proteiner har inget med utformningen av BKl komplexen att göra utan dessa pigmentmolekyler formar själva en struktur i aggregatliknande form (Shibata *et al*. 2010). Proteinoberoendet och självformning av aggregaten gör troligen att cellens storlek kan optimeras (rent fysiskt) och att cellen har råd med det höga BKl innehållet så att den kan växa vid låg ljusintensitet (Frigaard & Bryant 2004).

Uppbyggnad

Klorosomerna innehåller, i dagsläget känt, det största antal kromoforer[5] bland fotosyntetiserande organismer (Frigaard & Bryant 2004). Detta bidrar till antennkomplexens absorptionsegenskaper. Hos *C. tepidum* innehåller varje klorosom mer än 2×10^5 BKl *c* molekyler, och en cell kan innehålla 200-250 klorosomer. Man har upptäckt att vissa BKl:er har metylgrupper vilket inte finns hos klorofyller. Det sker alltså metyleringar men man vet inte riktigt vilken påverkan de har; men de tros vara inblandade i storleksformeringen av

[5] En atomgrupp hos en molekyl som absorberar elektromagnetisk strålning, här ljus, genom elektronexcitationer (Nationalencyklopedin 2013b).

aggregaten samt absorptionen hos BKl-aggregaten. Intressant är att mutanter av *C. tepidum* (som har BKl *c* i klorosomen) med brist på BKl *c* har uppvisat en mycket långsammare tillväxthastighet än vildtypen, och även den strukturella formen hos klorosomen ändras (Frigaard & Bryant 2004). Den kemiska strukturen för BKl benämns som en tetrapyrrol med en femte isocyklisk[6] ring, i figur 2 kan två av dessa undergrupper ses (man delar in Kl och BKl i tre undergrupper; porfyrintyp, klortyp och bakterieklortyp).



KLOROTYP;
klorofyll *a*, *b* och *d* samt bakterieklorofyll *c*, *d* och *e*.

BAKTERIEKLOROTYP;
bakterieklorofyll *a*.

Figur 2. Kemisk struktur för bakterieklorofyll och klorofyll (omritad efter Niedzwiedzki & Blankenship 2010). **R** står för olika grupper som skiljer sig åt mellan molekylerna, exempelvis en metylgrupp eller ett väte (R_{17}^{3} är antingen fytyl (bla. Kl *a* och BKl *a*), geranylgeranyl eller farnesyl (bla. BKl *c*, *d* och *e*)). Magnesiumatomen är femkoordinerad med fyra kväveatomer samt en femte löslig molekyl (eng. solventmolekyl) (Ellervee & Freiberg 2008).

Absorption och skyddande egenskaper

Bakterieklorofyllen har två par av så kallade överföringsband (fritt översatt från engelska; transition band), Soretband (förkortas ofta som B) och Q-band. Med dessa mäts absorptionsintensitet för blått respektive rött ljus (Shibata *et al*. 2010). I tabell 1 ses absorptionsmaximum för långvågigt ljus (rött) hos BKl. Studier har visat att BKl:ens strukturella omformning (de självformande aggregaten) ändrar absorptionsegenskaperna, absorptionsmaxima förskjuts till ett högre värde. BKl:en hos grön svavelbakterie i grundform överlappar med absorptionsmaxima hos Kl, men BKl:ens aggregatform visar alltså en förändrad absorptionsförmåga. Denna förändring tros göra det möjligt för gröna svavelbakterier att leva på större djup jämfört med andra fotosyntetiserande organismer (Harada *et al.* 2012). En annan studie pekar på att BKl *a* har en annan ljusabsorberande egenskap jämfört med exempelvis Kl *a*; på grund av en annan kemisk utformning av molekylen (mer detaljerat; hos ring II) (studien visar en röd ljusabsorption hos BKl *a* på upp till 780 nm) (Grimm *et al.* 2006).

[6] En cyklisk kemisk förening som endast består av en sorts atom (oftast kol) (Nationalencyklopedin 2013c).

Tabell 1. Klorofyll; Kl. Bakterieklorofyll; BKl (Prescott *et al.* 1999).

Pigment	Absorptionsmaximum rött ljus (nm)
Kl *a*	680-685
BKl *a*	805-810
BKl *c*	745-760
BKl *d*	725-745
BKl *e*	715-725

Oxygena fotorofa organismer har klorofyll (Kl) *a* och *b*, och vissa cyanobakterier även Kl *d* och *f*. Fluorescens[7] för fritt Kl *a* blir totalt dämpat vid en viss koncentration, detta sker inte med Bkl trots att de finns i större koncentrationer i klorosomer jämfört med Kl hos kloroplasterna (exempelvis i fotosystem II hos vissa växter) (Harada *et al.* 2012). Total dämpning uppstår av ett fenomen som heter koncentrationsdämpning (fritt översatt från eng. concentration quenching) vilket innebär att om en pigmentmolekyl är defekt medföljer det att dess exciterade tillstånd blir väldigt kortlivat (den faller tillbaka till sitt grundtillstånd). Om molekylen är isolerad är det problemfritt men om den ligger tätt packad med andra uppstår en degradering av exciterad energi i hela enheten. Den defekta molekylen fungerar som en sänka, och därför visar klorofyller en mycket kort fluorescens (Grimm *et al*. 2006). Då detta inte sker hos BKl skulle det kunna vara en förklaring till den mycket snabba överföringen av energin hos klorosomerna i gröna svavelbakterier (Harada *et al.* 2012).

”Nytt” bakterieklorofyll

Ny forskning tyder på att det skulle kunna finnas ytterligare ett bakterieklorofyll, BKl *f*. Det har inte kunnat observeras i naturen utan vid *in vivo* studier på isolerade bakterier i laboratoriemiljö. I studier på gröna svavelbakterier har man slagit ut gener som kodar för c-20 metyltransferas som är involverat i syntesen av BKl *e*. Bakteriemutanten har istället uttryckt BKl *f* som bidrar till ett bredare absorptionsspektra (Harada *et al.* 2012).

Det som talar för att BKl *f* skulle förekomma i naturen är den liknelse som kan dras till förhållandet mellan BKl *c* och *d* (skillnaden mellan dem är en metyl- eller vätegrupp). Hos grön svavelbakterie *Chlorobaculum (C.) parvum NCIB 8327* kan en naturlig mutation ske och då producerar denna bakteriestrain bara BKl *d*. Men det kan även ske en andra mutation vilket gör att produktion av BKl *c* sker vid låg ljusintensitet. I och med dessa spontana mutationer skulle en grön svavelbakterie lika väl kunna skifta från produktion av BKl *e* till BKl *f* (Harada *et al.* 2012).

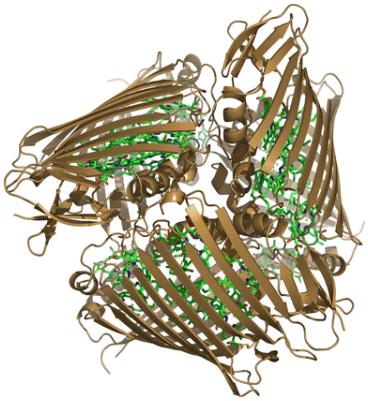
Studier visar att BKl *f* utökar fotonabsorptionsspektrat men när det handlar om bakteriernas upptag på djup, där mest gröngult ljus (~530 nm) finns att tillgå, är det organismer som till större del innehåller BKl *e* (absorption på ~520 nm) som effektivare kan tillgodogöra sig ljuset bättre än organismer med mer BKl *c*- och *d* innehåll; och organsimser med det

[7] Fluorescens är när materia som har absorberat ljus sänder ut den energin i form av ljus. Ljusabsorptionen ger ett energitillskott som inte är stabilt utan det instabila tillståndet avger ljus (Holmström 2013).

eventuella BKl *f* (absorption på ~510 nm). Det som också talar emot BKl *f* naturliga existens är att dess energiöverföring till BKl *a* (i basplattakomplexet), som blir lägre än de andra BKl:na på grund av att det är ett större energigap mellan dem. Men det är viktigt att poängtera att det trots det sker en energiöverföring. Om organismer med både BKl *e* och BKl *f* skulle leva i samma miljö kan det tänkas att organismer med BKl *e* skulle vara mer konkurrensmässigt fördelaktiga än organismer med BKl *f* (Harada *et al*. 2012).

FMO komplexet

Fotosyntesen hos gröna svavelbakterier involverar energiöverföringskomplexet FMO. Komplexet består av tre identiska monomerer. Enheterna sammankopplar ett nätverk av bakterieklorofyller som figur 3 illustrerar. De första studierna på 1970-talet fann att komplexet hade sju stycken BKl, men nyligen har ett åttonde upptäckts. FMO-processen går huvudsakligen ut på att överföra excitationer från klorosomerna till reaktionscenter (Renaud *et al.* 2011).



Figur 3. De tre enheterna hos Fenna-Matthews-Olsen proteinkomplexet som omger de åtta bakterieklorofyllen hos grön svavelbakterie *Pelodictyon Phaeum*. Alfahelixarna nära vecket ger stabilitet genom protein-protein interaktion och bakterieklorofyll 8 ligger i gränsskiktet mellan två enheter. Från Larson *et al.* (2011), med tillstånd från upphovsrättsinnehavaren.

Aminosyror och konserveringsgrad

FMO strukturen tycks kunna variera mellan olika arter av grön svavelbakterie. I en studie jämförs arten *Pelodictyon phaeum* med tidigare forskning på andra arter av grön svavelbakterie. Det finns skillnader i aminosyrasekvenserna hos några av bakterieklorofyllen, dock inte massiva, och det är positionen av BKl 8 som utgör den främsta olikheten. Men studien visar dock, trots att det finns skillnader, att det finns en hög konserveringsgrad. Bland annat sättet hur BKl:na i position 1 till 7 är arrangerade och hur proteinregionen runt BKl 3 är bevarad. FMO:s tre subenheter hos *P. phaeum* består vardera av 362 aminosyror som formar långa och korta β-flak och flera α-helixar. Två stora β-flak omsluter de åtta BKl:na och det tros vara två α-helixar som ligger mot membranet som underlättar överföringen av energin till reaktionscenter. Gemensamt för BKl:na 1-7 är att de är femkoordinerade med en magnesiumatom (Larson *et al.* 2011) som kan ses i figur 2.

Komplexets stabilitet och bakterieklorofyllens positioner
Stabiliteten hos FMO trimeren är beroende av flera komponenter, förutom en viss β-strand och några α-helixar är det protein-protein interaktioner mellan enheterna som bidrar till stabiliteten. Och eftersom många av aminosyrorna är polära, och laddade, formar de en saltbrygga mellan enheterna vilket också bidrar till stabiliteten.

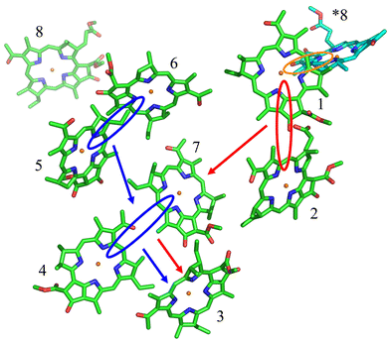
BKl 1-7 är omringade av proteinenheterna och BKl 8 ligger egentligen i gränsskiktet mellan enheterna. BKl:na är asymmetriskt arrangerade och det närmsta avståndet mellan BKl 1-7 är 11 Å mätt Mg-Mg avståndet[8] och det längsta är 30 Å. Ingen förutom BKl 8 ligger nära någon av de angränsande enheterna. BKl 8 ligger längre ifrån sina BKl:er i sin enhet jämfört med avståndet till grannenheten. I den egna enheten ligger BKl 8 mellan 20 till 40 Å från de övriga sju men endast 12 Å till grannenhetens BKl 1. Studier på *P. phaeum* visar att BKl 8 faktiskt interagerar med aminosyror från de andra enheterna.

BKl 3 tros ha den lägsta och BKl 6 den högsta pigmentenergin, det vill säga den energi som överförs från FMO till reaktionscenter. Detta stöds av den höga aminosyrakonserveringen som finns hos de båda BKl:en, som tyder på att de har en viktig roll i energiöverföringen (Larson *et al.* 2011).

BKl 3 är ett exempel på där hög grad av konservering förekommer mellan arterna, BKl 5 har vissa skillnader när det gäller interaktioner med omgivande proteiner men koordineringen är till stor del bevarad. Det som tycks skilja sig mest åt är BKl 8, både dess position och orientering finns inte bevarad i samma utsträckning mellan arterna (Larson *et al.* 2011).

BKl 8
Som förklaring till varför BKl 8 inte upptäckts tidigare kan dess labila egenskaper ha bidragit till att den har försvunnit vid (den laboratoriska) reningsfasen av FMO. Ännu har man inte kunna fastställa vilken betydelse skillnaderna med BKl 1-7 har, då dessa är relativt små. För BKl 8 kan en viktigare roll tillskrivas då den ligger mellan enheterna och om den interagerar med BKl 1 i excitationskopplingen, skulle dess position således spela en stor roll (Larson *et al.* 2011). I figur 4 ses BKl:erna och deras excitationsenergiöverföring mellan varandra.

[8] BKl:na består av en porfyrinring med en Mg centralt (Balaban *et al*. 2004). Mg fungerar som elektronacceptor region hos molekylen (Huijser *et al*. 2008).



Figur 4. De åtta bakterieklorofyllens komposition i ett av de tre Fenna-Matthew-Olsen komplexen (inte utritad). Bakterieklorofyllen är ritade som atomer och de blåa- och röda ringarna visar den beräknade excitationsenergikopplingen och hur den flödar (pilarna) mellan bakterieklorofyllen. Bakterieklorofyll *8 (turkosfärgad) tillhör grannenheten hos komplexet och illustrationen visar hur nära den ligger bakterieklorofyll 1, och den orangea elipsen står för hypotesen om den extra kopplingen som skulle kunna ske. Från Larson *et al.* (2011), med tillstånd från upphovsrättsinnehavaren.

Som figur 4 visar kan det antas att BKl 1, 6 och 8, som finns nära basplattan, tar emot energi från klorosomerna. BKl 3 och 4 befinner sig nära reaktionscenter och denna ordning överensstämmer med beräkningar för BKl:nas överföring av energi. BKl 1, 6 och 8 har stor överföringsenergi (eng; transition energy) och BKl 3 och 4 har låg överföringsenergi, av detta skulle FMO kunna liknas vid en tratt som för energin från den ena sidan (med hög energi) till den andra (med låg energi) (Ritschel *et al.* 2011).

Basplattakomplexet

Basplattan kan ses som en del av antennkomplexet, den fungerar i ljusupptagningen men den har även en viktig strukturell funktion för klorosomen. I basplattan finns klorosomproteinet CsmA som binder till BKl *a*. I *C. tepidum* fördelas det totala antalet BKl *a* (ungefär) till 60 % i FMO, 10 % i reaktionscenter och 30 % bundet till CsmA proteinet i basplattan (se gärna figur 5 för tydligare bildförklaring). De åtta bakterieklorofyllen som finns i FMO klassas alltså som BKl *a*. Det finns mycket av CsmA proteinet, troligen står det för hälften av klorosomproteininnehållet. CsmA-BKl *a* strukturen är stel, en så kallad parakristallinstruktur (Pedersen *et al.* 2010).

Basplattan länkar mellan BKl i klorosomen och FMO proteinet. Strukturen är ganska enkelt uppbyggd med CsmA proteinet, en BKl *a* molekyl och en eller två karotenoider. CsmA är ett membranprotein med en hydrofob N-terminal och en hydrofil C-terminal (Pedersen *et al.* 2010).

Plattan som medspelare och stöttepelare

Eftersom basplattan länkar till FMO-komplexet tyder det på att det är dessa två, FMO och CsmA, som kopplar energin från klorosomerna till reaktionscenter. C-terminalen hos CsmA sticker ut från membranet och där skulle interaktionen till FMO kunna ske. C-terminalsekvensen är i hög grad konserverad och interaktionen tros ske genom hydrofila

interaktioner. Vatten kan ta sig emellan basplattan och FMO, vilket tyder på att FMO-proteinerna inte ligger speciellt tätt packade mot basplattan (Pedersen *et al.* 2010).

BKl 3 och 4 befinner sig närmast reaktionscenter i membranet och är alltså i hög grad inblandade i energiöverföringen. BKl 1 ligger närmast basplattan (och därmed närmast klorosomen jämfört med de övriga BKl:en) och BKl 8 ligger i skiktet emellan FMO-enheterna nära basplattan och detta skulle, som tidigare har belysts, tyda på en ökad energiöverförings effektivitet mellan basplattan och FMO-proteinerna (Pedersen *et al.* 2010).

Aminosyran histidin är känd för att koordinera Mg^{2+} joner hos klorofyller, vilket är detsamma hos FMO-proteiner. Då CsmA sekvenser från gröna svavelbakterier har konserverade histidiner i centrala delar hos peptiden tros denna del vara ansvarig för pigmentkoordinationen. Man har hittat likvärdiga mängder av CsmA och BKl *a* i basplattan hos olika gröna svavelbakterier (då varje histidin binder till en BKl *a*), alltså är basplattan strukturellt väldigt lik hos olika gröna svavelbakterier (Pedersen *et al.* 2010).

CsmA-BKl *a* formar tillsammans dimerer, med två tätt packade BKl *a*-molekyler mellan två CsmA proteiner. Dimererna utgör sen oligomerer som formar ett 2D gitter/galler. Oligomeriseringen skulle kunna tänkas stabiliseras av karotenoider. Om CsmA funktionen endast är ljusansansamling skulle celler kunna överleva utan det, eftersom bakterieklorofyll och andra pigmentmolekyler finns i övriga delar i fotosyntesmaskineriet. Studier på muterade *C. tepidum* där CsmA slagits ut eller tystats visar att cellernas viabilitet påverkas negativt. Andra mutanter med annat klorosomalt protein borttaget har inte visat samma grad av negativ påverkan (med andra klorosomalproteiner menas exempelvis CsmB eler CsmF, se figur 5). CsmA har därför troligen en mycket viktig roll för cellen och organismen. Detta indikerar att basplattan har en mycket viktig funktion i fotosyntesen, även en strukturell sådan (Pedersen *et al.* 2010).

Karotenoider

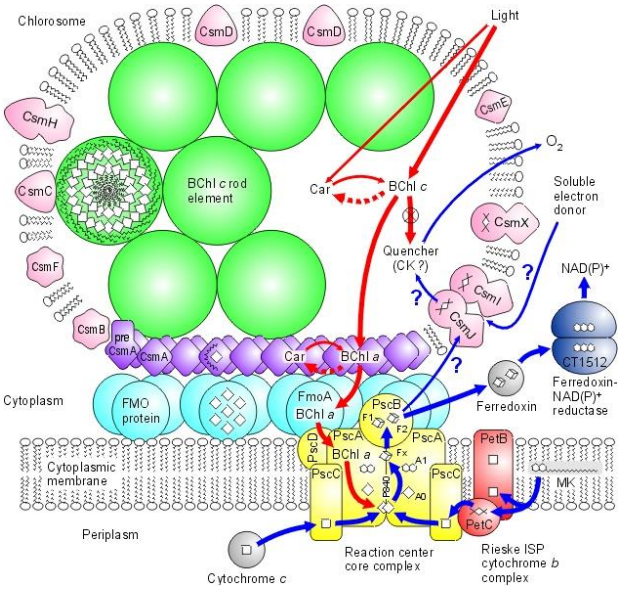
I fotosyntesprocessen hos gröna svavelbakterier ingår karotenoider, dessa finns i klorosomen samt basplattan, det vill säga hos alla komplex som innehåller BKl med undantag för FMO komplexet. I klorosomen uppgår karotenoider till ungefär en på var tionde BKl (Frigaard & Bryant 2004). De interagerar med CsmA i basplattan och tros fungera som ett molekylärt lim. I *C. tepidum* är klorobakten den sort som förekommer mest (fri översättning från eng; chlorobactene) (Pedersen *et al.* 2010).

Dämpningsprocess

Karotenoiderna är hydrofoba pigment som ligger inbäddade i det fotosyntetiska membranet i klorosomen, i figur 5 ses de även i basplattan. Karotenoiderna är nära länkade till BKl:en i antennkomplexet, och eftersom de kan absorbera ljus överför de energi till reaktionscenter. De har även egenskaper som gör att de fungerar som ljusskydd. Ljus kan bli farligt för celler då det kan katalysera (foto)oxidationsreaktioner; detta i sin tur leder till att det produceras toxiskt syre, så kallat enkel syrgas (fri översättning från eng. singlet oxygen). Den enkla syrgasen kan oxidera komponenter hos fotosyntesen vilket resulterar i att processen påverkas

negativt. Karotenoiderna dämpar enkel syrgas genom att absorbera mycket av det ljus som annars skulle leda till (foto)oxidation (Madigan *et al*. 2012).

När BKl absorberar ljus och blir exciterade kan de överföra sin energi till O_2 som då blir till enkelt syre. Karotenoiderna agerar här genom att absorbera energi från enkel syrgas som då faller tillbaka till sitt icke-exciterade tillstånd (Prescott *et al*. 2009); de röda pilarna i figur 5 indikerar hur detta skulle kunna gå till hos grön svavelbakterie.



Figur 5. Beskrivning av grön svavelbakteries fotosyntes, baserad på *C. tepidum*. Från Frigaard (2013) med tillstånd från upphovsrättsinnehavaren, ej publicerade data. Observera att det yttre membranet inte är utritad hos den gram-negativa bakterien. Karotenoider (Car) är involverade i alla komplex som innehåller bakterieklorofyll (BChl), utom hos Fenna-Matthews-Olsen (FMO) komplexet. Under oxiska förhållanden (som är skadlig för organismen) dämpar karotenoider excitationsöverföringen från BChl *c* till reaktionscenter. (Dämpningen tros aktiveras genom oxidation, med elektroner som direkt eller indirekt överförs till O_2; och den inaktiveras av reduktion av klorosomproteinerna (Csm) Csml och CsmJ). De röda pilarna visar excitationsöverföringen och de blå pilarna visar elektronöverföringen.

I relativt ny forskning har karotenoidernas dämpningsprocess hos gröna svavelbakterier studerats. Exciterade BKl:er kan anta ytterligare ett energitillstånd som kallas tripletter, och det är dessa tripletter av BKl *a* och BKl *c* som har studerats (Frigaard & Bryant 2004). Denna energinivå tros vara den som kan resultera i att farligt enkel syrgas kan bildas, och då karotenoidernas triplettillstånd har en energinivå under den för enkel syrgas kan de enkelt konkurrera om energiöverföringen; resultatet blir att den farliga komponenten inte bildas och att livslängden hos BKl tripletterna förkortas (Gall *et al*. 2011). Det är bara de färgade karotenoiderna som kan göra detta, vilket hos mutanter (som saknar de färgade karotenoiderna) ger en överproduktion av tripletter (Frigaard & Bryant 2004).

I studier som gjorts på *C. tepidum* i rumstemperatur har man funnit att BKl *c* och BKl *a* tripletter överfört dess excitation till närliggande karotenoidpigment med nästan hundraprocentig effektivitet. Men vid ändrad temperatur kan karotenoidpigmenten inte dämpa

BKl tripletter lika effektivt (Frigaard & Bryant 2004), studier på *C. tepidum* vid mycket låga temperaturer visar att karotenoidpigmenten förlorar dämpningseffektivitet (Melø *et al*. 2000). Dessa resultat tyder alltså på en temperaturkänslighet när det gäller karotenoidernas dämpning.

Tre huvudsyften

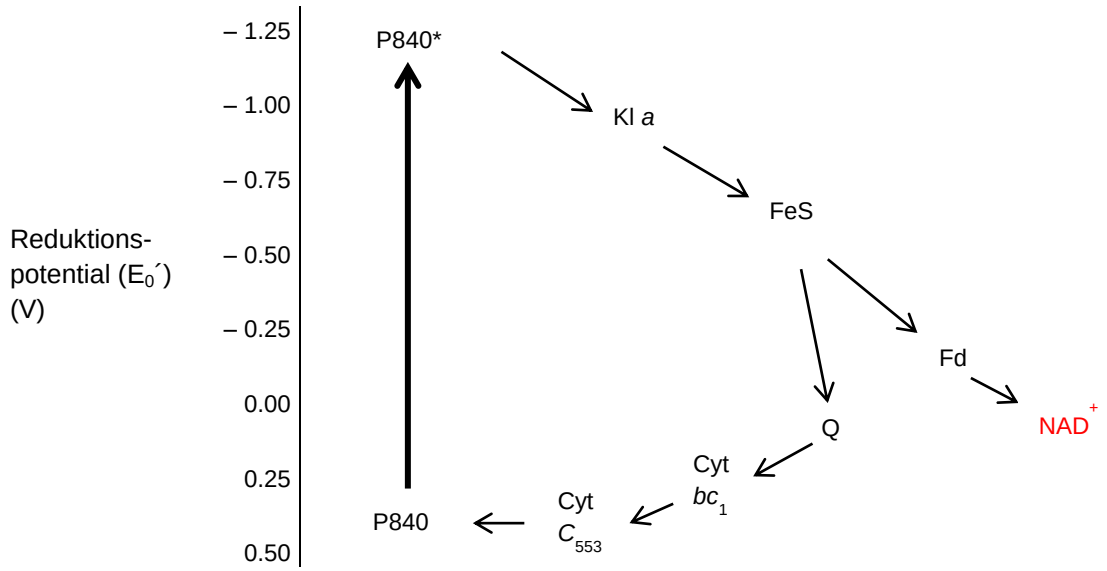
Sammanfattningsvis har karotenoider tre huvudsakliga uppgifter i fotosyntesen; ljusinsamling, ljusskydd och stabilisering. Men det är bara de färgade karotenoiderna som kan fungera som ljusansamlare och ljusskydd. Färgade karotenoider har en form av kromofor som kan absorbera ljus mellan 400-700 nm, där ingår absorption av blått ljus. Studier på mutanter av *C. tepidum*, som saknar färgade karotenoider, har påvisat en lägre tillväxthastighet. Detta resultat skulle kunna skvallra om karotenoidernas påverkan, men då mutanterna även hade en lägre nivå av BKl *a* som är en viktig komponent i fotosyntesen, kan det vara det som har påverkat tillväxten. I ljusskyddandet dämpar karotenoiderna BKl tripletter och på så sätt motverkas bildning av skadlig enkel syrgas. Den stabiliserande egenskapen sker mellan vissa pigment-protein komplex (Frigaard *et al*. 2004).

Reaktionscenter

Reaktionscenter omgärdas alltså av de ljusansamlande (fri översättning från eng. light harvesting) klorosomerna. Ljusenergin som fångas upp av pigmentmolekylerna överförs till BKl *a* i reaktionscenter där den omvandlas till ATP.

Den fotosyntetiska ljusreaktionen startar när excitationsenergi träffar ett specialpar av BKl *a* i reaktionscenter. Specialparet omvandlas från en svag elektrondonator till en stark elektrondonator; det som menas är att de får en större elektronegativ reduktionspotential. En membranpotential[9] (fri översättning från eng. proton motive force (PMF)) genereras då elektroner flödar genom membranet från en bärare av låg elektropositiv reduktionspotential (E_0´) till en med hög E_0´. Denna membranpotential driver ATP syntesen. Hos grön svavelbakterie kallas specialparet i reaktionscenter för P840. P840 betyder att BKl *a* molekylen absorberar ljus mest effektivt vid våglängd 840 nm. Innan excitation sker hos reaktionscenter är E_0´ på ungefär + 0,25 V och efter excitation har den en potential på ungefär - 1,25 V, i figur 6 ses en schematisk bild över elektronöverföringen. Det är ett cykliskt elektronflöde som generar membranpotentialen; elektronerna vandrar genom en serie av elektronbärare (Madigan *et al*. 2012).

[9] Proton motive force (PMF) är egentligen energi då protoner separerar från hydroxyljoner över ett cytoplasmamembran vilket genererar till en membranpotential (Madigan *et a*. 2012). Jag väljer ändå att använda översättningen membranpotential.



Figur 6. Grön svavelbakteries elektronflöde i reaktionscenter. Ljusenergi från antennkomplexet träffar P840 i reaktionscenter. P840 absorberar energi och blir exciterad; dess reduktionspotential blir mycket negativ. Därefter donerar den sin exciterade elektron till en acceptor; Klorofyll *a* vidare till järn-svavel (FeS). Proteinet ferrodoxin (Fd) (som alltså reduceras av FeS proteiner) är den direkta elektrondonatorn till koldioxidfixeringen. Slutligen går elektronflödet tillbaka till P840 genom två former av cytokrom (cyt).

Fotofosforylering

ATP syntetiseras i och med elektronflödet och generering av membranpotentialen. Elektronflödet avslutas när cytokrom c_{553} donerar en elektron till specialparet; vilket gör att P840 återvänder till sitt grundtillstånd ((E_0´= +0,25 V)). När specialparet återvänder till grundtillståndet blir reaktionscenter återigen mottaglig att absorbera ny energi och repetera processen. Denna mekanism för ATP syntes kallas fotofosforylering; egentligen cyklisk fotofosforylering då elektronerna rör sig i en loop. Fotofosforyleringen är lik den fotosyntetiska respirationen hos växter då det sker en uppbyggnad av membranpotential genom att elektroner flödar genom membran; men skillnaden är att i (den cykliska) fotofosforyleringen finns inget netto inflöde av elektroner eller konsumtion av elektroner, de vandrar helt enkelt i ett kretslopp (Madigan *et al*. 2012).

Vad händer sen?

Efter ljusreaktionen hos växternas fotosyntes följer mörkerreaktionen och calvin cykeln (då sockermolekyler bildas som organismen behöver till cellunderhåll). Hos grön svavelbakterie följer inte calvin cykeln utan omvänd citronsyracykel[10]. Sammanfattat fungerar cykeln i koldioxidfixeringen enligt följande; den startar med oxalacetat och varje varv av cykeln genererar pyruvat (som produkt) med inblandning av tre koldioxidmolekyler. I cykeln behövs 5ATP samt FADH och NADPH som reduktionsmedel. Pyruvat omvandlas därefter i ett led av reaktioner slutligen till socker (hexos) som kan användas som cellmaterial (Madigan *et al*. 2012).

[10] ”Vanlig” citronsyracykel pyruvat oxideras till koldioxid. För varje pyruvatmolekyl som oxideras frigörs tre koldioxidmolekyler (Madigan *et al*. 2012).

Evolution

I det material som detta arbete har behandlat har några studier antytt en hel del om gröna svavelbakteriers evolutionära utveckling. Vissa jämförande studier tycks komma fram till samma sak, nämligen att det finns en hög konserveringsgrad i vissa delar hos de gröna svavelbakteriernas fotosyntes. Exempelvis den hos de åtta bakterieklorofyllen i FMO-komplexet.

Homodimeriskt reaktionscenter

Gröna svavelbakterier tros vara bland de första fotosyntetiska cellerna, det baseras på dess reaktionscenter som är ett homodimeriskt[11] typ 1 komplex. Detta i sin tur tyder på att klorosomerna kan vara bland de första antennsystemen (Pedersen *et al.* 2010).

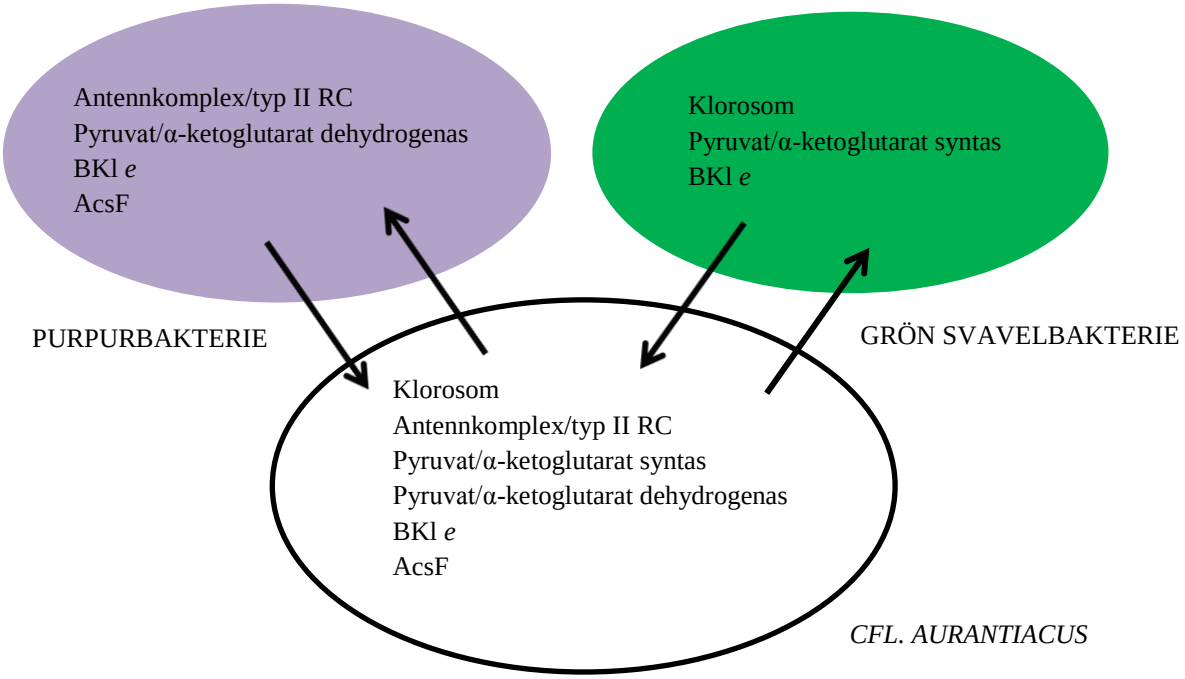
Fotosystem I (PS I) har med stor sannolikhet utvecklats utifrån homodimeriska reaktionscenter, likt den hos grön bakterie. Dagens PS I, hos bland annat cyanobakterier, kan alltså ha formats utifrån ett homodimeriskt reaktionscenter via fördubbling av gener som resulterat i ett heterodimeriskt reaktionscenter som därefter utvecklats till dagens PS I. Organismers fotosyntesevolution har utvecklats till att mer effektivt kunna ansamla ljus, hos gröna bakterier har klorosomerna och FMO-komplexet tillkommit det homodimeriska reaktionscentret. Alltså verkar det som om PS I reaktionscenter hos bakterier och växter är homologa och har evolverat utifrån en gemensam förmoder/fader, däremot har ljusansamlingskomplexen inget genetiskt gemensamt utan har istället utvecklats separat. Vad gäller FMO så har dess symmetriska placering troligen behållits relativt oförändrad (Ben-Shem *et al*. 2004).

Med enzymernas hjälp

Fossila fynd, som daterats till för 6 000 år sedan, finns från grön svavelbakteries fotosyntes; men förmågan att fotosyntetisera uppstod långt tidigare än så. När det gäller bakterieklorofyllens evolutionära utveckling verkar BKl *c* enzymer vara besläktade med BKl *a* enzymer, och det kan tyda på att BKl *c* har utvecklats från BKl *a*. En hypotes är att en organism som från början hade BKl *a* baserad fotosyntes utvecklades på grund av stort selektivt tryck på att kunna leva i miljöer med låg ljustillgång (Frigaard & Bryant 2004).

Vid jämförande studier av enzymer som syntetiserar karotenoiden lycopene har man konstaterat att det finns två olika syntesvägar för denna typ av karotenoid. Mellan grön svavelbakterie och cyanobakterie är denna syntes säkerligen besläktad, dock ganska avlägsen. Lycopene har endast konstaterats hos dessa två bakterier och därför pekar det på att dessa enzymer härstammar från ett gemensamt ursprung. Brytningen från den gemensamma förmodern/fadern tros ha skett genom horisontell överföring. Utifrån dessa enzymstudier kan även ett antagande kring grön svavelbakteries och cyanobakteries reaktionscenter göras. Eftersom de lycopena enzymerna bara förekommer hos dessa organismer, som har ett typ I reaktionscenter, är det troligt att deras gemensamma ursprung även hade en form av dagens reaktionscenter I (Frigaard *et al.* 2004).

[11] Homodimerisk struktur är uppbyggd av två identiska underenheter (Ohashi *et al.* 2010).



Figur 7. Trolig genöverföring mellan fototrofa bakterier. Pilarna går i båda riktningar då man inte vet i vilken riktning det har gått. Mellan *Chloroflexus aurantiacus* och grön svavelbakterie finns gemensamma gener för syntes av klorsomer, pyruvatenzym och bakterieklorofyll *e* (omritad efter Tang *et al*. 2011).

Klorosomen och en nyckelfigur

Man tror också att förmågan till att börja producera klorosomer har skett genom en horisontell överföring mellan förmödrar/fäder till dagens gröna svavelbakterier, och andra anoxygena bakterier (Frigaard & Bryant 2004). I figur 7 ses exempel på troliga överföringar mellan fotosyntetiserande bakterier. *C. aurantiacus* har länge setts som en nyckelorganism för fotosyntesens ursprung. Det är en termofil anoxygen fotorof bakterie som kan växa i mörka och anaerobiska miljöer. Vissa karaktärsdrag är alltså gemensamma med andra fotosyntetiska organismer, däribland grön svavelbakterie (Tang *et al*. 2011). Trots detta kan det konstateras att den evolutionära utvecklingen av fotosyntesen är komplicerad att kartlägga. Vissa fotosyntetiska delar, exempelvis syntes av BKl *c*, är nära besläktad med andra gröna (icke-svavel) bakterier, medan andra delar som till exempel karotenoidsyntes är närmare släkt med andra fotosyntetiserande organismer (Frigaard & Bryant 2004).

Sammanfattningsvis tycks de gröna svavelbakteriernas fotosyntetiska evolution ha en mosaisk karaktär, där mycket finns kvar att upptäcka för att kunna skriva deras historia.

Diskussion

Gröna svavelbakteriers fotosyntes är uppbyggd av flera viktiga komponenter. Forskning har bedrivits med fokus på vissa delar av fotosyntesen, och detta arbete har haft som syfte att sammanställa de viktigaste. Vissa bitar har kunnat fastställas, men mycket finns kvar att

upptäcka eller rättare sagt kartlägga. Övergripande för forskningen tycks vara fascinationen, och önskan om att knäcka gåtan, över dessa bakteriers effektiva ljusupptagningsförmåga. Främst för att kunskapen skulle kunna appliceras på utformning av effektivare artificiell energiproduktion i form av solceller.

Vissa likheter med andra fotosyntetiserande organismer finns, men närmast besläktade verkar ändå andra bakterier vara. Den evolutionära utvecklingen av gröna svavelbakteriers fotosyntes är helt klart ett komplext område. Släktskap har bestämts för vissa gener, men när och i vilken riktningen de har överförts finns inga bevisliga svar utan endast hypoteser.

Gemensamt för studier kring bakterierna, både gällande fotosyntes och evolution, är de komplicerade arbetsförhållandena som gör att studier i naturen är mycket svåra att genomföra. Dessutom är både *in vivo* och *in vitro* studier inte är helt oproblematiska. Det är mycket viktigt att vid dessa laboratoriestudier kunna säkerställa att bakteriernas egenskaper inte påverkas när de lyfts från sin naturliga livsmiljö, exempelvis måste faktorer som temperatur, pH och ljus hållas under kontroll. Kontaminering är ett generellt problem på labb trots att noga steriliserings av verktyg och desinficera arbetsytor är en förutsättning för arbete på labb.

Bakteriernas effektivitet

Så vad är det som gör de gröna svavelbakterierna så effektiva i sin ljusupptagningsförmåga? Klorosomernas utformning med bakterieklorofyllens självformande aggregatstruktur, utan någon proteininblandning, har betydelse. Strukturen tycks vara en förutsättning för att kunna hushålla med energiförbrukning och därför blir inte den stora mängden bakterieklorofyll något problem, trots en liten ljustillgång. Visserligen krävs energi till bakterieklorofyllsyntes men en mindre sådan jämfört med att samtidigt behöva producera proteiner. Den stora mängden av BKl *c* verkar även ha en betydande påverkan. Det skulle vara intressant med studier kring detta, varför vissa bakterier ”satsar” extra på denna form av bakterieklorofyllsyntes. Är det bara på grund av dess absorptionsspektra, som tycks ha en bekväm räckvidd, eller finns det andra fördelar? Dessutom är det stora antalet kromoforer en fördel i ljusabsorptionen.

En hypotes till den snabba överföringen av excitationsenergi hos klorsomen är att det inte sker någon dämpning av BKl:ens energi (likt den av Kl) i antennkomplexet. Karotenoiderna tycks ha en stor roll i hela den fotosystemiska apparaturen då de inte bara är involverade i ljusskydd utan även ljusansamling och stabilisering. Det märkliga med dem är att de verkar vara väldigt temperaturkänsliga. Studier vid rumstemperatur visar en nära till 100 procentig överföring av energi men denna överföring sjunker vid lägre temperaturer. Den lägre temperaturen borde vara dess naturliga miljö. Kanske fungerar karotenoiderna och bakterieklorofyllen annorlunda i *in vitro* studier, där komponenterna lyfts ur sitt naturliga sammanhang.

Frågetecken som kan rätas ut?

Den nyligen upptäckta BKl 8, hos överföringskomplexet FMO, kommer troligen kunna tillskrivas en mycket viktig roll i framtiden nu när dess existens är erkänd. Om dess position ligger mellan komplexen borde den i högsta grad vara involverad i excitationskoppling, och därmed vara en viktig komponent. Tydligare är att FMO- och CsmA proteinerna är av stor

betydelse då dessa kopplar energin hela vägen från klorosomen till reaktionscenter, där den användbara kemiska energin uppstår.

Så varför utnyttjar de gröna svavelbakterierna denna fotosyntetiska metod då ljustillgången är svag? Varför överhuvudtaget använda ett system som är beroende av ljus om livsmiljön befinner sig 100 meter under havsytan? Ett svar är helt enkelt att det fungerar. Liksom många system i naturen driver anpassningar organismens utformning. Men många frågor finns obesvarade kring de gröna svavelbakteriernas uppkomst och utveckling. Ett exempel är de nya hypoteserna om ett BKl *f*. Det har aldrig bevisligen upptäckts i naturen, men eftersom det går att få fram på labb är sannolikheten att det existerar relativt stor. Det märkliga är att det breddar fotonabsorptionsspektrat men utkonkurreras av BKl *e*. Varför?

Om en evolutionär kartläggning kunde göras skulle det kunna förtydliga fotosystemmekanismen. Fortfarande vet man inte hur bakterieklorofyllsyntesen (BKl *c/d/e/f*) och de föreliggande oxidationsprocesserna går till. Vissa moment delas med andra fotosystem vilket skulle kunna betyda att selektion har skett. Exempelvis aminosyran histidin i peptidkedjan hos CsmA proteinet. Om släktskap skulle konstateras till någon annan fotosyntetiserande organism, där dessa frågor redan är lösta, skulle det underlätta forskningen och kartläggningen kring gröna svavelbakterier. Och i ett större perspektiv inom området för artificiell energiutveckling.

Framtiden

Sammantaget kan fotosyntesen hos gröna svavelbakterier beskrivas som en kompott av viktiga komponenter som samverkar för att driva ett effektivt system. Vissa delar är mer förstådda än andra, det finns helt klart många frågetecken att reda ut. Det ligger ett optimistiskt skimmer över detta forskningsområde och dess framtidsutsikt. Inte minst när man ser mängden av ny data som kontinuerligt publiceras. Att resurser tilldelas denna typ av forskning är inte svår att förstå. Behovet av bättre och hållbar energi har aldrig varit så stort som nu. Resultat och utveckling går kanske inte i önskvärd hastighet, men nya spännande och betryggande upptäckter sker hela tiden.

Tack

Martin Svenda för handledning.
Katariina Kiviniemi för ditt stöd som kursansvarig.
Karin Wesslén på språkverkstan.
Niels-Ulrik Frigaard för inspirerande mailkonversation samt copyright för bilder.
James Allen och medarbetare för copyright av bilder.
Kursarna i självständigt arbete i biologi 2013 – ”leave no man behind”.

Referenser

Balaban T S, Linke-Schaetzel M, Bhise A D, Vanthuyne N, Roussel C. 2004. Green self-assembling porphyrins and chlorins as mimics of the natural bacteriochlorophylls c, d, and e. European Journal of Organic Chemistry **18**: 3919–3930.

Ben-Shem A, Frolow F, Nelson N. 2004. Evolution of photosystem I - from symmetry through pseudosymmetry to asymmetry. FEBS Letters **564:** 274–280.

Björn L O. 2013. Fotosyntes. Nationalencyklopedin. WWW-dokument: http://www.ne.se.ezproxy.its.uu.se/organiska-föreningar. Hämtad 2013-02-23.

Ellervee A, Freiberg A. 2008. Formation of bacteriochlorophyll a coordination states under external high-pressure. Chemical Physics Letters **450**: 386–390.

Frigaard N-U. 2013. Chlorosome function and structure. University of Denmark. WWW-dokument: http://www.bio.ku.dk/nuf/research/chlorosome.htm. Hämtad 2013-02-28.

Frigaard N-U, Bryant D A. 2004. Seeing green bacteria in a new light: genomics-enabled studies of the photosynthetic apparatus in green sulfur bacteria and filamentous anoxygenic phototrophic bacteria. Archives of Microbiology **182**: 265–276.

Frigaard N-U, Maresca J A, Yunker C E, Jones A D, Bryant D A. 2004. Genetic manipulation of carotenoid biosynthesis in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. Journal of Bacteriology **186**: 5210–5220.

Fujita T, Brookes J C, Saikin S K, Aspuru-Guzik A. 2012. Memory-assisted exciton diffusion in the chlorosome light-harvesting antenna of green sulfur bacteria. The Journal of Physical Chemistry Letters **3**: 2357–2361.

Grimm B, Porra R J, Rüdiger W, Scheer H. 2006. Chlorophylls and bacteriochlorophylls: Biochemistry, biophysics, functions and applications. Advances in photosynthesis and respiration. Springer Netherlands, Dortmund.

Harada J, Mizoguchi T, Tsukatani Y, Noguchi M, Tamiaki H. 2012. A seventh bacterial chlorophyll driving a large light-harvesting antenna. Scientific Reports 2: 671.

Holmström B. 2013. Fluorescens. WWW-dokument: http://www.ne.se.ezproxy.its.uu.se/lang/fluorescens. Hämtad 2013-02-25.

Huijser A, Suijkerbuijk B M J M, Klein Gebbink R J M, Savenije T J, Siebbeles. 2008. Efficient exciton transport in layers of self-assembled porphyrin derivatives. Journal of the American Chemical Society **130**: 2485–2492.

Larson C R, Seng C O, Lauman L, Matthies H J, Wen J, Blankenship R E, Allen J P. 2011. The three-dimensional structure of the FMO protein from *Pelodictyon phaeum* and the implications for energy transfer. Photosynthesis Research **107**: 139–150.

Madigan M, Martinko J, Stahl D, Clark D. 2012. Biology of microorganisms. 13:e uppl. Pearson Education, San Francisco.

Melø T B, Frigaard N-U, Matsuura K, Razi Naqvi K. 2000. Electronic energy transfer involving carotenoid pigments in chlorosomes of two green bacteria: *Chlorobium tepidum* and *Chloroflexus aurantiacus*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **56**: 2001–2010.

Nationalencyklopedin 2013a. Anaeroba bakterier. WWW-dokument: http://www.ne.se.ezproxy.its.uu.se/lang/anaeroba-bakterier. Hämtad 2013-02-25.

Nationalencyklopedin 2013b. Kromoforer. WWW-dokument: http://www.ne.se.ezproxy.its.uu.se/kromoforer. Hämtad 2013-02-13.

Nationalencyklopedin 2013c. Homocykliska föreningar. WWW-dokument: http://www.ne.se.ezproxy.its.uu.se/homocykliska-föreningar. Hämtad 2013-02-28.

Niedzwiedzki D M, Blankenship R E. 2010. Singlet and triplet excited state properties of natural chlorophylls and bacteriochlorophylls. Photosynthesis Research **106**: 227–238.

Ohashi S, Iemura T, Okada N, Itoh S, Furukawa H, Okuda M, Ohnishi-Kameyama M, Ogawa T, Miyashita H, Watanabe T, Itoh S, Oh-oka H, Inoue K, Kobayashi M. 2010. An overview on chlorophylls and quinones in the photosystem I-type reaction centers. Photosynthesis Research **104**: 305–319.

Pedersen M Ø, Linnanto J, Frigaard N-U, Nielsen N C, Miller M. 2010. A model of the protein–pigment baseplate complex in chlorosomes of photosynthetic green bacteria. Photosynthesis Research **104**: 233–243.

Pedersen K. 2013. Fototrofa bakterier. Nationalencyklopedin. WWW-dokument: http://www.ne.se.ezproxy.its.uu.se/lang/fototrofa-bakterier. Hämtad 2013-02-01.

Prescott L M, Harley J P, Klein D A. 1999. Microbiology. 4:e uppl. McGraw-Hill Companies, USA.

Renaud N, Ratner M A, Mujica V. 2011. A stochastic surrogate Hamiltonian approach of coherent and incoherent exciton transport in the Fenna-Matthews-Olson complex. The Journal of Chemical Physics 135: 075102.

Renger T. 2009. Theory of excitation energy transfer: from structure to function. Photosynthesis Research **102**: 471–485.

Ritschel G, Roden J, Strunz W T, Aspuru-Guzik A, Eisfeld A. 2011. Absence of quantum oscillations and dependence on site energies in electronic excitation transfer in the Fenna–Matthews–Olson trimer. Journal of Physical Chemistry Letters **2**: 2912–2917.

Shibata Y, Tateishi S, Nakabayashi S, Itoh S, Tamiaki H. 2010. Intensity borrowing via excitonic couplings among soret and qy transitions of bacteriochlorophylls in the pigment aggregates of chlorosomes, the light-harvesting antennae of green sulfur bacteria. Biochemistry **49**: 7504–7515.

Tang K-H, Barry K, Chertkov O, Dalin E, Han C S, Hauser L J, Honchak B M, Karbach L E, Land M L, Lapidus A, Larimer F W, Mikhailova N, Pitluck S, Pierson B K, Blankenship R E. 2011. Complete genome sequence of the filamentous anoxygenic phototrophic bacterium Chloroflexus aurantiacus. BMC Genomics 12: 334.

Thilagam A. 2012. Multipartite entanglement in the Fenna-Matthews-Olson (FMO) pigment-protein complex. The Journal of Chemical Physics **136**: 175104.