假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC Ⅱ的聚集态对 Chl *a* 电子激发态性质的影响

左 萍[①] 陈 晖[②*] 吴义室[①] 沈世华[②] 王 鹏[①] 艾希成[①]
张建平[①*] 李良璧[②] 匡廷云[②]

(① 中国科学院化学研究所分子科学中心, 分子动态与稳态结构国家重点实验室, 北京 100080; ② 中国科学院植物研究所, 光合作用与环境分子生理学重点实验室, 北京 100093. * 联系人, E-mail: chenh@ibcas.ac.cn, jpzhang@mail.iccas.ac.cn)

摘要 采用稳态吸收、荧光和皮秒时间分辨荧光光谱手段研究了假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)捕光色素-蛋白复合物 LHC Ⅱ(light-harvesting complex Ⅱ)的单体、三聚体和寡聚体中叶绿素(Chl)*a* 的电子激发态性质. 稳态光谱结果表明: 选择性激发 Chl *a* 或 Chl *b* 时, LHC Ⅱ寡聚体中 Chl *a* 的荧光强度减弱并非由 Chl *b* → Chl *a* 传能效率的降低造成, 主要是由聚集体内激发态 Chl *a* 的快速猝灭机制引起的. 时间分辨荧光动力学分析表明: 不同聚集态 LHC Ⅱ中 Chl *a* 的荧光动力学遵从双指数衰减行为, 长寿命组分(4.1~4.7 ns)来源于 LHC Ⅱ中 Chl *a* 的荧光发射; 短寿命组分(135~540 ps)归属为组成聚集体的蛋白单体内 Chl *a* 分子间的激发态能量平衡过程, 该能量平衡过程的时间尺度因 LHC Ⅱ的聚集程度不同而异, 在寡聚体(135 ps)中比在单体(540 ps)和三聚体(520 ps)中的平衡显著加快. 上述结果表明, LHC Ⅱ的三聚体向 PS Ⅱ反应中心传能的本领最强, 而寡聚体则具有较强的猝灭 LHC Ⅱ内 Chl *a* 电子激发态的能力, 这可能是一种通过 LHC Ⅱ分子结构的转换来实现光保护功能的机制.

关键词 捕光色素-蛋白复合物 时间分辨荧光 能量传递 假根羽藻(***Bryopsis corticulans***)

在植物或藻类的光系统Ⅱ(photosystem Ⅱ, PS Ⅱ)中, 捕光色素-蛋白复合物LHC Ⅱ(light-harvesting complex Ⅱ)起到捕获光能和光保护的双重作用. LHC Ⅱ吸收光能, 并通过内周捕光天线CP43 和CP47 将捕获的光能转变成电子激发能传递到反应中心, 诱发原初电荷分离[1]. LHC Ⅱ的捕光功能主要由其中的叶绿素(Chl)*a*, Chl *b*和类胡萝卜素等色素分子来执行, 它们的吸收范围覆盖整个可见光光谱, 因而可以充分利用太阳能. 就LHC Ⅱ的光保护功能而言: LHC Ⅱ中潜在的非光化学能量猝灭中心, 例如叶黄素(Xanthophylls), Xanthophylls-Chl *a*分子对和Chl *a*-Chl *a*分子对等, 可以直接猝灭单重激发态的Chl *a*并以热的形式耗散过剩的电子激发能, 从而避免强光导致的损伤[2~6]; 此外, 类胡萝卜素可以通过猝灭三重激发态叶绿素而避免有害单重态氧的产生, 并且可以直接清除光合作用体系中的单重态氧[1,7,8]. LHC Ⅱ中的色素分子, 特别是叶绿素分子的激发态性质与LHC Ⅱ的捕光和光保护功能密切相关. 处于不同色素-蛋白环境中的叶绿素分子电子激发态性质的差异对LHC Ⅱ生理功能的发挥有重要影响.

1994 年Kühlbrandt等人获得了 3.4 Å分辨率的豌豆LHC Ⅱ晶体结构[9], 之后, Dekker等人[10]又利用电子显微术结合图像分析对菠菜PS Ⅱ的LHC Ⅱ进行了结构分析. 最近, Liu等人[11]利用X射线晶体衍射手段解析出 2.72 Å 分辨率的菠菜LHC Ⅱ的晶体结构[11]. 这一晶体学结构显示, 每个LHC Ⅱ单体中结合着 8 个 Chl *a*和 6 个Chl *b*, 2 个叶黄素(Lutein), 1 个新黄质(Neoxanthin)和 1 个紫黄质(Violaxanthin). 色素分子主要通过配位键和范德华力等与脱辅基蛋白的氨基酸残基结合. 目前已知LHC Ⅱ存在多种聚集形态, 如单体、三聚体和寡聚体等[12~14], 不同的蛋白质分子结构影响其色素分子的结合环境[15], 从而势必会对色素分子的电子激发态性质产生较大的影响[16,17], 因此, 不同聚集态LHC Ⅱ其吸能和传能作用可能具有较大的差异.

假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)是一种生长在潮间带的海生绿藻, 在每个潮汐周期中, 它都经历着露出海平面暴露在强烈的阳光照射与没入海水中接收较弱的蓝绿光这一剧烈的光照变化. 我们从其类囊体膜中分离、纯化获得不同蛋白质聚集形式的 LHC Ⅱ, 即单体、三聚体和寡聚体, 并且运用稳态光谱和时间分辨荧光光谱手段对假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)不

同聚集态的 LHC II 中 Chl *a* 的激发态性质进行分析、研究, 试图阐明不同蛋白质分子结构对 LHC II 中 Chl *a* 分子间的能量平衡速率及其对 LHC II 向 PS II 反应中心传递激发能的影响.

1 材料与方法

1.1 样品制备和稳态光谱

用阴离子交换色谱层析和凝胶过滤色谱层析方法从假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)叶绿体的类囊体膜中分离、纯化出LHC II, 经蔗糖密度梯度离心分离获得LHC II 的单体、三聚体和寡聚体[18,19].

LHC II 样品被分散悬浮在含 0.05% 去垢剂 n-Dodycel-β-D-Maltoside 的 TMK(20 mmol/L Tricine-NaOH, pH 8.0, 40 mmol/L $MgCl_2$, 80 mmol/L KCl)缓冲体系中, 为了对 LHC II 的单体、三聚体和寡聚体进行光谱学分析和研究, 稳态荧光和时间分辨荧光光谱实验中所用 LHC II 的叶绿素浓度均调整为 15 μg/mL.

稳态吸收光谱用 U-3310 光谱仪(Hitachi, 日本)测定, 稳态荧光发射和荧光激发光谱由 F-2500 (Hitachi, 日本)荧光光谱仪检测. 实验都是在室温下进行的.

1.2 时间分辨荧光光谱

由掺钛蓝宝石激光器(Tsunami, Spectra Physics)产生的锁模脉冲(800 nm, 80 fs, 82 MHz), 经再生放大器(Spitfire, Spectra Physics)后, 获得能量放大的激光脉冲(800 nm, 120 fs, 1 kHz), 再经由光学参量放大器(OPA-800 CF, Spectra Physics)产生 650 nm 的激发脉冲. 照射到样品上的单脉冲能量约为 1 μJ. 样品产生的荧光由单光子记数型条纹相机(C2909, Hamamatsu)检测, 获得时间分辨和光谱分辨的三维荧光光谱. 仪器时间响应函数约为 30 ps(半峰宽). 实验都是在室温下进行的. 荧光动力学分析软件是基于 Matlab 5.2 (MathWorks)编制的.

2 实验结果

2.1 稳态吸收光谱

图 1 给出了 LHC II 单体、三聚体和寡聚体在室温下的吸收光谱. LHC II 在整个可见光谱区均有吸收: 位于 470 和 652 nm 的吸收分别对应于 Chl *b* 的 Soret 和 Q_y 吸收带, 436 和 670 nm 的吸收分别对应于 Chl *a* 的 Soret 和 Q_y 吸收带; 类胡萝卜素的主吸收谱带位于 420~520 nm范围, 由于被Chl *b*的吸收所掩盖而表现不明显[20]. 比较不同聚集态LHC II 的Q_y吸收带发现, 寡聚体中Chl *a*的吸收峰(675 nm)相对于其他LHC II 有约 5 nm的红移, 这是由于蛋白质高度聚集造成色素之间的距离缩短, 从而导致分子间电子-电子相互作用增强、Chl *a*激发态能级降低. 另外, 寡聚体中 Chl *b*在 470 nm(Soret)和 652 nm(Q_y)处的吸收相对于 Chl *a*在 436 和 675 nm处的吸收大大减弱, 说明与三聚体和单体相比寡聚体中Chl *b*的含量减少了. 磷脂分子(磷脂酰甘油等)有助于稳定LHC II 的聚集态[21], LHC II 的晶体结构[11]显示磷脂位于单体之间的区域, 它们的存在可能引起部分氨基酸残基和Chl *b*的结合位点被掩盖, 使得Chl *b*分子无法与之结合而丢失, 导致寡聚体中Chl *b*的含量减少.

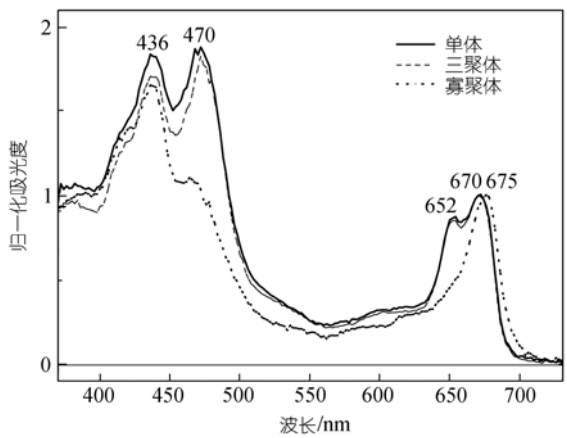


图 1 假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC II 单体、三聚体和寡聚体的紫外-可见吸收光谱

已对 Chl *a* Q_y 吸收峰值归一化

2.2 稳态荧光光谱

在室温下分别用 436 和 470 nm 的激发光激发不同聚集态的 LHC II 样品, 分别得到如图 2(a)和 2(b)所示的荧光光谱. 从 LHC II 的吸收光谱可知在 436 nm 处主要激发了 Chl *a*, 将其从基态激发至高电子激发态(Soret), 然后内转换至 Q_x 态和最低单重激发态 Q_y, 最终从 Q_y 态发荧光(图 2(a)). 从图 2(a)还可以看到单体、三聚体的荧光强度相差不大, 而寡聚体荧光则显著减弱. 当用 470 nm 的光激发样品时(图 2(b)), 发现与 436 nm 激发得到的荧光光谱不同, 除了 Chl *a* 的荧光峰(682 nm)外, 在其短波方向增加了一个肩峰(655 nm), 而且寡聚体中该峰很明显, 这是属于 Chl *b* 的荧光发射带. 470 nm 的光脉冲主要将 Chl *b* 激发至其高电子激发态, 然后经内转换至 Q_y 态发荧光或者

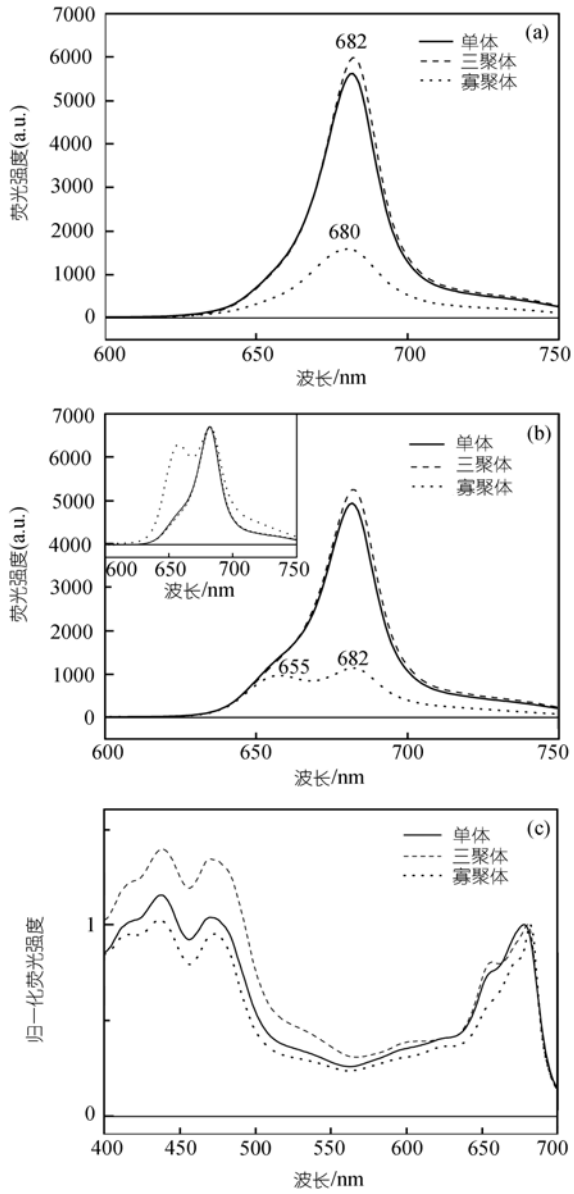


图 2 假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC II 在 436 nm 激发下(a)和 470 nm 激发下(b)的荧光发射光谱以及在 700 nm 观测波长下的荧光激发光谱(c)

(b)中插图已将相应荧光发射谱在约 682 nm 处进行了归一化. (c)中的荧光激发谱已归一化

将能量传递给 Chl *a*, 再从 Chl *a* 的 Q_y 态发荧光, 所以样品同时表现出 Chl *b* 和 Chl *a* 的荧光.

将不同聚集态 LHC II 的荧光发射光谱在 682 nm 处归一化(图 2(b)内插图), 可以看到, 寡聚体中 Chl *b* 荧光峰的相对强度很大, 而从吸收光谱已知在寡聚体中 Chl *b* 的含量较单体和三聚体中少, 这似乎表明在寡聚体中 Chl *b* 向 Chl *a* 能量传递的能力较单体和三聚体低. 为了澄清这一点, 测定了LHC II 单体、三聚体和寡聚体的荧光激发谱(图 2(c)), 并将其与图 1 中的吸收光谱相比较, 目的在于得到Chl *b*向Chl *a*能量传递的效率. 由于LHC II 中各种色素的光谱重叠严重, 无法采用Akahane等人[22]的方法选择一个合理的归一化位点来计算能量传递效率, 我们采用了Das等人[23]的方法来估算Chl *b*向Chl *a*的能量传递效率, 即从吸收谱和荧光激发谱中解析出各种色素的吸收贡献, 然后积分激发谱中Chl *b*的面积和吸收谱中Chl *b*的面积, 将二者的比值作为Chl *b*向Chl *a*的能量传递效率. 这样得到的Chl *b*向Chl *a*能量传递的效率在不同聚集态LHC II 中分别为: 79%(单体), 85%(三聚体)和 91%(寡聚体). 其中, 寡聚体中Chl *b*向Chl *a*的能量传递效率最高. 显然, 前述寡聚体中Chl *b*的荧光相对较强的现象并不能说明Chl *b*向Chl *a*传能的效率低.

2.3 皮秒时间分辨荧光光谱

图 3 是以中心波长为 650 nm 的脉冲激光激发 3 种不同聚集形式的 LHC II 所得到的时间分辨荧光光谱. 可以看出, 0.1 ns 以后随着时间变化荧光光谱形状几乎没有变化, 只是强度逐渐衰减. 但是零时刻的荧光光谱在短波长 665 nm 左右有弱的荧光, 这个弱荧光在 0~0.1 ns 之间消失, 表明在 100 ps 以内已经完成了 Chl *b* 向 Chl *a* 的能量传递, 由于时间分辨率(30 ps)的限制, 以下我们将主要讨论 Chl *a* 在较慢时间尺度上的发光动力学行为.

比较 3 种不同聚集形式的 LHC II 的荧光动力学衰减曲线(图 4)发现, 单体和三聚体荧光强度的衰减动力学行为基本一致, 而寡聚体的荧光衰减较单体和三聚体加快了. 为了对其动力学过程进行全面的分析, 选取 20 个代表性波长下的荧光动力学衰减曲线进行了 Global 全局分析. 采用双指数函数就能够得到理想的拟合结果. 图 5 是 Global 拟合得到的 DAFS 特征谱(decay associated fluorescence spectra), 其中上图是 0.0~0.5 ns 的积分荧光光谱; 中图实线是实验得到的组分 1 的积分荧光光谱(由 0.0~0.5 ns 的积分荧光光谱减去 3.5~4.6 ns 的积分荧光光谱得到), 圆圈代表拟合得到的组分 1 的 DAFS 特征光谱; 下图实线和圆圈分别对应于组分 2 的积分荧光光谱(积分范围 3.5~4.6 ns)和拟合得到的 DAFS 特征光谱. 从图中可以看到拟合得到的两个组分的特征光谱与两个不同时间段的积分光谱符合得很好, 表明 Global 拟合

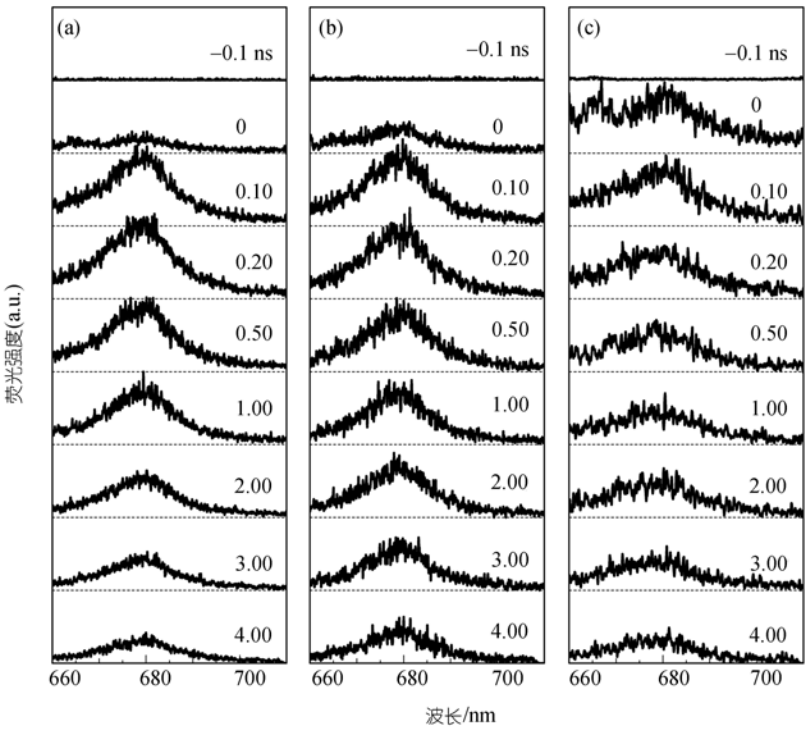


图 3 假根羽藻(*Bryopsis corticulans*) LHC Ⅱ的时间分辨荧光光谱(激发波长 650 nm)
(a) 单体, (b) 三聚体, (c) 寡聚体

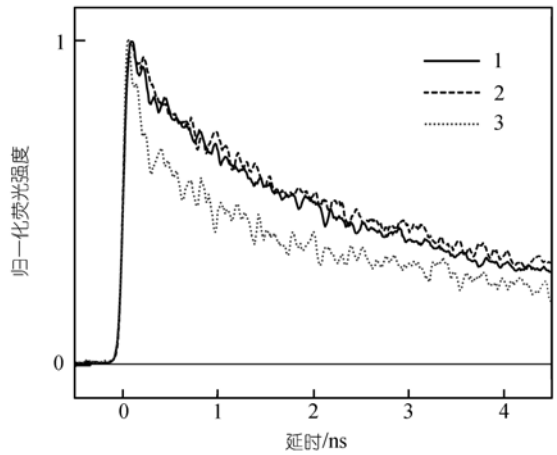


图 4 假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC Ⅱ荧光衰减动力学曲线
已归一化, 激发波长 650 nm, 探测波长 680 nm.
1, 单体, 2, 三聚体, 3, 寡聚体

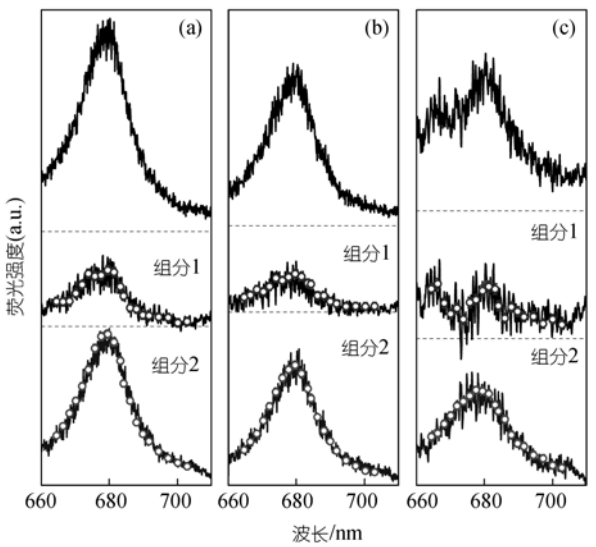


图 5 假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC Ⅱ荧光动力学曲线的 Global 拟合结果
(a) 单体, (b) 三聚体, (c) 寡聚体

得到的两个 DAFS 光谱组分很好地反映了时间分辨光谱(图 3 和 5). Global 拟合得到的 3 种不同聚集形式的 LHC Ⅱ的荧光寿命列于表 1, 对于长寿命组分(τ_2), 单体和三聚体荧光寿命分别为 4.4 和 4.7 ns, 而寡聚体的荧光寿命略有缩短(4.1 ns), 对于短寿命组分(τ_1), 在不同聚集形式的 LHC Ⅱ中的时间常数依次为 537 ps(单体), 519 ps(三聚体)和 135 ps(寡聚体), 而且相对含量依次增大.

具有长寿命的组分(τ_2)来源于 LHC Ⅱ中 Chl *a* 的荧光, 这与文献所报道的菠菜的 LHC Ⅱ的荧光寿命

表 1　假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC Ⅱ的时间分辨荧光光谱(图 3)由 Global 拟合得到的荧光寿命 a)

寿命	单体	三聚体	寡聚体
τ_1/ps	537 ± 13 (27%)	519 ± 16 (26%)	135 ± 3 (54%)
τ_2/ns	4.4±0.1 (73%)	4.7±0.2 (74%)	4.1±0.2 (46%)

a) 括号内的百分数表示该组分的相对含量

(约 4 ns)基本一致[21,24]. 数百皮秒的短寿命组分(τ_1)在以前菠菜LHC Ⅱ的瞬态光谱研究中也有类似的报道, 但对于其来源并不清楚[24]. Barzda等人[25]报道, Chl *a* "单重激发态-单重激发态"湮灭过程发生在数百皮秒的时间尺度上. 为此, 我们做了荧光强度与激发光强的依存关系实验. 图 6 给出单体在不同激发光强下的荧光强度, 可以看到荧光强度与所使用的激发光强度成线性关系. 另外, 荧光寿命也没有随激发光强的增加而缩短(图 6 内插图). 三聚体和寡聚体的荧光强度/寿命与激发光强的依存关系与单体一致. 因而在我们所采用的激发光强度下(约4.0×10^{14} 个光子/cm^2), 可以排除短寿命组分起源于单重态-单重态湮灭. 寡聚体的较短荧光寿命(τ_1=135 ps)显著短于单体和三聚体(537 和 519 ps), 该短寿命组分可能反映了这些LHC Ⅱ样品(单体, 三聚体, 寡聚体)的单体内Chl *a*分子间的激发态能量平衡过程.

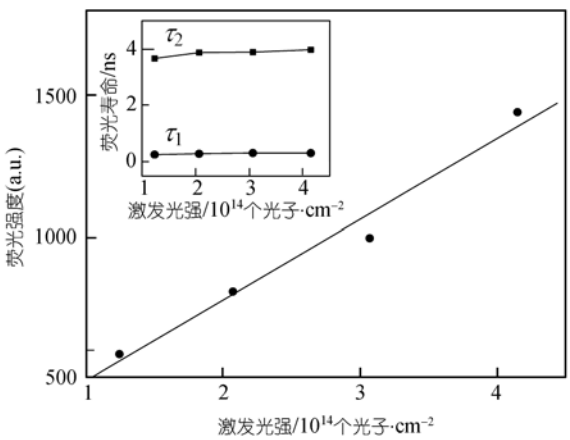


图 6　假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC Ⅱ单体荧光强度随激发光强度的变化趋势

插图为荧光寿命随激发光强度的变化趋势.

●和■为数据点

3　讨论

对于不同物种而言, LHC Ⅱ单体中结合的叶绿素分子总数目有所差别, 一般为 12~14 个[9~11]. 菠菜的LHC Ⅱ的每个单体结合着 8 个Chl *a*和 6 个Chl *b*[11]. 以往的研究发现, LHC Ⅱ中叶绿素Chl *b*可以将激发能以不同的时间常数传递给 Chl *a*: 200 fs, 600 fs, 4~9 ps[26], Chl *b*向Chl *a*的能量传递一般发生在LHC Ⅱ单体内部[27]. 叶绿素分子所处的蛋白微环境的不同会影响它们的激发态能级. Chl *b*捕获的激发能可传递给具有较高激发能的Chl *a*, 也可传递给具有较低激发能的Chl *a*. 另外, 具有不同激发态能量的Chl *a*之间也以不同的时间常数进行能量传递, Gradinaru等人[28]报道的时间常数为 300 fs, 5 ps和 12~20 ps. 单体内叶绿素分子间的能量传递途径极为复杂, 一般表现为激发态能量的平衡过程, 即能量从处于较高能级的叶绿素分子(如高能量的Chl *b*和Chl *a*)经过多次传递后为处于低能级的Chl *a*分子所接受. 这种能量平衡过程的表观时间常数一般为数十皮秒[20]至数百皮秒[29].

对于本工作所研究的假根羽藻*Bryopsis corticulans*的 3 种不同聚集形式的LHC Ⅱ而言, 我们将短寿命的荧光组分(τ_1)归属于相应单体中的能量平衡时间常数, 并提出图 7 中与LHC Ⅱ不同聚集形式对应的荧光动力学机制, 这一模型可以很好地概括和解释本研究中的各种光谱学实验结果. 在图 7 中, 我们没有考虑Chl *b*, 因为Chl *b* → Chl *a*能量传递发生在单体之内, 且在 3 ps以内完成[27], 远远快于我们的时间分辨率(30 ps). 对于不同的Chl *a*分子来说, 其最低单重电子激发态(Q_y态)能级分布在一定的范围内, 能量平衡过程由倾斜的虚线箭头表示. 另外, 文献中具有约 150 fs时间分辨率的动力学研究表明[26], LHC Ⅱ三聚体内不同单体间的能量传递在 20 ps左右. 这样从图 7 中不难理解, (a)和(b)两种情况下的能量平衡表观时间常数基本相同(约 520 ps), 能量平衡过程结束后, 最低能量的Chl *a* Q_y激发态荧光寿命为 4.4 ns(单体)或 4.7 ns(三聚体). 在寡聚体方面(图 7(c)), 由于蛋白质高度聚集, 其上的Chl *b*结合位点发生了改变, 可能被Chl *a*替代, 引起Chl *b*从肽链上大量解离[19], 从而导致Chl *a*分子间距离进一步缩小. 这样, 所观测到的能量平衡时间进一步缩短到了 135 ps. 事实上, 从基态电子吸收光谱(图 1)中已看到寡聚体中Chl *a*对应的峰值波长红移了 5 nm, 表明由于Chl *a*-Chl *a*

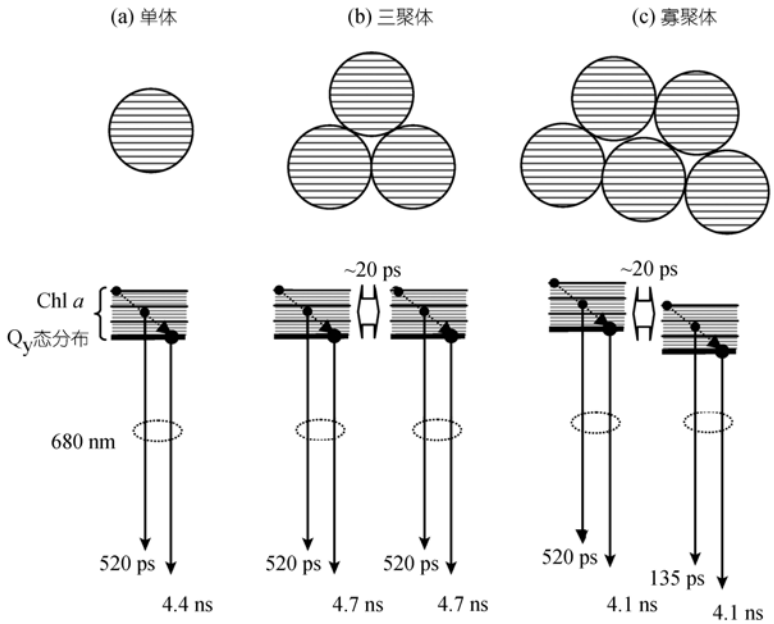


图 7 假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)LHC Ⅱ不同聚集态的结构模型和荧光动力学机制示意图

(a) 单体, (b) 三聚体, (c) 寡聚体. 倾斜的虚线箭头表示 LHC Ⅱ单体内叶绿素分子间的激发态能量平衡过程; 竖直实线箭头表示荧光发射, 荧光衰减时间常数由 Global 拟合得到(见表 1); 水平双向箭头表示单体间的能量传递

距离减小而导致的分子间相互作用加强.

从荧光发射谱结果来看, 无论是 436 nm 激发(图 2(a))还是 650 nm 激发(图 2(b)), 寡聚体中 Chl *a* 的荧光发射强度都明显弱于其他两种情况. 从图 7(c)不难理解, 寡聚体中能量平衡时间(τ_1 ~135 ps)与最终荧光寿命(τ_2 ~4.1 ns)的缩短的协同效应导致非辐射跃迁的速率远大于其他两种情况. 另外, Chl *a*-Chl *a* 距离的缩短可能导致"单重激发态-单重激发态"的湮灭几率增大. 从图 2(a)和 2(b)中还可以看出, 三聚体内 Chl *a* 的荧光强度比单体高 6%, 说明其捕光和传能的本领高于单体. 以上从荧光发射谱和荧光动力学两个方面对寡聚体内 Chl *a* 电子激发态性质的研究表明, LHC Ⅱ蛋白质的高度聚集具有猝灭 Chl *a* 电子激发态的能力. 因此, LHC Ⅱ寡聚体可能参与光系统Ⅱ(PS Ⅱ)的光保护机制.

Mullineaux等人[30]的研究表明, 由LHC Ⅱ向PS Ⅱ反应中心(D_1–D_2–Cyt b_{559})激发态能量传递的时间尺度约为 330 ps, 我们观测到的寡聚体的能量平衡时间(约 135 ps)大大短于这一时间. 这就是说, 寡聚体的能量平衡时间快到足以与LHC Ⅱ向反应中心的能量传递过程相竞争并促进激发能以热的形式耗散掉, 从而起到非光化学能量猝灭的作用, 参与PS Ⅱ的光保护机制. 研究不同聚集态LHC Ⅱ中Chl *a*的电子激发态性质对于深入理解它们相应的生理学功能具有重要意义.

4 结论

本文采用稳态光谱和时间分辨荧光光谱手段研究了海洋绿藻(*Bryopsis corticulans*)的 3 种不同聚集形式的 LHC Ⅱ中 Chl *a* 的电子激发态性质. 结果表明三聚体的 LHC Ⅱ向 PS Ⅱ反应中心传能的本领最强, 寡聚体具有较强的猝灭 LHC Ⅱ内 Chl *a* 电子激发态的能力. 这种保持或猝灭 Chl *a* 电子激发态能量的特性是由 LHC Ⅱ单体蛋白内叶绿素分子间的能量平衡动力学机制决定的, 受到蛋白质结构的调节. 我们认为这可能是一种通过 LHC Ⅱ分子结构的转换来实现光保护功能的机制, 对于生活在潮间带的海洋绿藻(*Bryopsis corticulans*)显得尤为重要.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号: 20273077)资助项目和中国科学院知识创新工程重要方向性项目(批准号: KSCX2-SW-130).

参 考 文 献

1 Cogdell R J, Frank H A. How carotenoids function in photosynthetic bacteria. Biochim Biophys Acta, 1987, 895: 63—79

2 Ma Y Z, Holt N E, Li X P, et al. Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting.

Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(8): 4377—4382[DOI]
3 Demmig-Adams B, Adams W W Ⅲ. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. Trends Plant Sci, 1996, 1(1): 21—26[DOI]
4 Dreuw A, Fleming G R, Head-Gordon M. Chlorophyll fluorescence quenching by xanthophylls. Phys Chem Chem Phys, 2003, 5: 3247—3256[DOI]
5 Horton P, Ruban A V, Rees D, et al. Control of the light-harvesting function of chloroplast membranes by aggregation of the LHC Ⅱ chlorophyll-protein complex. FEBS Lett, 1991, 292: 1—4[DOI]
6 Ruban A V, Phillip D, Young A J, et al. Carotenoid-dependent oligomerization of the major chlorophyll a/b light harvesting complex of photosystem Ⅱ of plants. Biochemistry, 1997, 36(25): 7855—7859[DOI]
7 Frank H A, Cogdell R J. Photochemistry and functions of carotenoids in photosynthesis. In: Young A, Britton G, eds. Carotenoids in Photosynthesis. London: Chapman and Hall, 1993. 252—326
8 Grondelle R, Dekker J P, Gillbro T, et al. Energy transfer and trapping in photosynthesis. Biochim Biophys Acta, 1994, 1187: 1~65[DOI]
9 Kühlbrandt W, Wang D N, Fujiyoshi Y. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. Nature, 1994, 367: 614—621[DOI]
10 Dekker J P, Roon H, Boekem E J. Heptameric association of light-harvesting complex Ⅱ trimers in partially solubilized photosystem Ⅱ membranes. FEBS Lett, 1999, 449: 211—214[DOI]
11 Liu Z, Yan H, Wang K, et al. Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72 Å resolution. Nature, 2004, 428: 287—292[DOI]
12 Garab G, Kieleczawa J, Sutherland J C, et al. Organization of pigment-protein complexs into macrodomains in the thylakoid membranes of wild-type and chlorophyll b-less mutant of barley as revealed by circular dichroism. Photochem Photobiol, 1991, 54: 273—281
13 Kitajima M, Butler W L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. Biochim Biophys Acta, 1986, 376: 105—115
14 Garab G, Cseh Z, Kovács L, et al. Light-induced trimer to monomer transition in the main light-harvesting antenna complex of plants: Thermo-optic mechanism. Biochemistry, 2002, 41: 15121—15129[DOI]
15 Ruban A V, Young A J, Horton P. Dynamic properties of the minor chlorophyll *a*/*b* binding proteins of photosystem Ⅱ, an in vitro model for photoprotective energy dissipation in the photosynthetic membrane of green plants. Biochemistry, 1995, 35(3): 674—678[DOI]
16 Ruban A V, Horton P. Mechanism of ΔpH-dependent dissipation of absorbed excitation energy by photosynthetic membranes Ⅰ: spectroscopic analysis of isolated light-harvesting complexes. Biochim Biophys Acta, 1992, 1102: 30—38[DOI]
17 Ruban A V, Dekker J P, Horton P, et al. Temperature dependence of chlorophyll fluorescence in the light-harvesting complex Ⅱ of higher plants. Photochem Photobiol, 1995, 61: 216—221
18 Chen H, Shen S H, Wang G C, et al. Isolation of the main light-harvesting chlorophyll *a*/*b*-protein complex from thylakoid membranes of marine alga, bryopsis corticulans by a direct method. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(8): 915—920
19 Chen H, Shen S, Liang Y, et al. Evidence for dissociation of chlorophyll *b* from the main light-harvesting complex in the oligomerization state isolated from marine alga, *Bryopsis corticulans*. Biochim Biophys Acta, 2005, 1707: 170—178[DOI]
20 Amerongen H, Grondelle R. Understanding the energy transfer function of LHC Ⅱ, the major light-harvesting complex of green plants. J Phys Chem B, 2001, 105: 604—617[DOI]
21 Nussberger S, Doerr K, Wang D N, et al. Lipid-protein interactions in crystals of plant light-harvesting complex. J Mol Biol, 1993, 234: 347—356[DOI]
22 Akahane J, Rondonuwu F S, Fiedor L, et al. Dependence of singlet-energy transfer on the conjugation length of carotenoids reconstituted into the LH1 complex from *Rhodospirillum rubrum* G9. Chem Phys Lett, 2004, 393: 184—191[DOI]
23 Das S K, Frank H A. Pigment compositions, spectral properties, and energy transfer efficiencies between the xanthophylls and chlorophylls in the major and minor pigment – protein complexes of Photosystem Ⅱ. Biochemistry, 2002, 41: 13087—13095
24 Connelly J P, Müller M G, Hucke M, et al. Ultrafast spectroscopy of trimeric light-harvesting complex Ⅱ from higher plants. J Phys Chem B, 1997, 101: 1902—1909[DOI]
25 Barzda V, Gulbinas V, Kananavicius R, et al. Singlet-singlet annihilation kinetics in aggregates and trimers of LHC Ⅱ. Biophys J, 2001, 80: 2409—2421
26 Visser H M, Kleima F J, Stokkum I H M, et al. Probing the many energy-transfer processes in the photosynthetic light-harvesting complex Ⅱ at 77 K using energy-selective sub-picosecond transient absorption spectroscopy. Chem Phys, 1996, 210: 297—312[DOI]
27 Kleima F J, Gradinaru C C, Calkoen F, et al. Energy transfer in LHC Ⅱ monomers at 77 K studied by sub-picosecond transient absorption spectroscopy. Biochemistry, 1997, 36: 15262—15268[DOI]
28 Gradinaru C C, Özdemir S, Gülen D, et al. The flow of excitation energy in LHC Ⅱ monomers: Implications for the structural model of the major plant antenna. Biophys J, 1998, 75: 3064—3077
29 Vasil'ev S, Irrgang K D, Schrötter T, et al. Quenching of Chlorophyll *a* fluorescence in the aggregates of LHC Ⅱ: Steady state fluorescence and picosecond relaxation kinetics. Biochemistry, 1997, 36: 7503—7512[DOI]
30 Mullineaux C W, Pascal A A, Horton P, et al. Excitation-energy quenching in aggregates of the LHC Ⅱ chlorophyll-protein complex: a time-resolved fluorescence study. Biochim Biophys Acta, 1993, 1141: 23—28[DOI]

(2005-10-31 收稿, 2006-02-13 接受)