科学通报
第40卷 第7期 CHINESE SCIENCE BULLETIN 1995年4月

藻红蛋白微晶的激子光谱

汪河洲 赵福利 郑锡光 毛卫东 高兆兰 余振新
(中山大学超快速激光光谱学国家重点实验室，广州 510275)
朱晋昌 蒋丽金
(中国科学院感光化学研究所，北京 100101)
张季平 梁栋材
(中国科学院生物物理研究所，北京 100101)

关键词 R-藻红蛋白微晶 激子 光合作用 能量传递

光合作用天线系统起着吸收太阳能并把能量传递到反应中心的作用．光合作用天线系统中的能量传递已被证实非常高效和快速．实验证实，在藻类光合作用天线中，从藻红蛋白经藻蓝蛋白和变藻蓝蛋白至反应中心，总能量传递效率超过90%；而时间分辨荧光谱实验证实，在完整细胞中，能量从藻红蛋白传递至反应中心全过程在小於50ps时间内完成[1].

藻胆体是红藻和蓝藻的重要光合作用天线．藻胆体由核(core)和杆(rod)组成，核主要含变藻蓝蛋白，核的一面附着在类囊体膜上并与反应中心相联，另一半与多根杆相联组成半球形放射状天线．藻胆体中的杆由一串直径为115nm左右的藻胆蛋白复合体巨分子盘(disk)沿其C_3对称轴共轴紧叠而成．靠近核的巨分子盘是藻蓝蛋白六聚体$(\alpha\beta)_6$，每个藻蓝蛋白六聚体由2个面对面联接的三聚体$(\alpha\beta)_3$组成．远离核的巨分子盘是藻红蛋白[2]．藻胆蛋白盘内各色团吸收不同波长的光，并通过色团间相互作用进行盘内能量传递．其中激子理论已被用于解释盘内强相互作用色团间的能量传递[3]．关於藻胆蛋白盘与盘之间的能量传递，过去一直采用Förster共振理论解释；然而，采用Förster理论计算的能量传递时间比完整细胞的时间分辨光谱实验结果长得多[1]，而且给体荧光谱和受体吸收谱的关系也说明Förster机制对解释天线传能的高效率还不理想．

本研究首次观察到R-藻红蛋白微晶中盘与盘间激子的荧光光谱．本研究结果表明：藻胆蛋白盘与盘之间的能量传递的激子理论可以满意地解释光合作用天线中能量传递的高效和快速特性．

1 实验

本实验的R-藻红蛋白和C-藻蓝蛋白都从条斑紫菜中提取．提取方法同文献[4]，所得粗提取物再经Bio-Gel P_{300}凝胶柱纯化，以Na_2HPO_4-NaH_2PO_4(50mmol/L，pH=6.8)缓冲液洗脱，得电泳纯R-藻红蛋白，其$A_{562}/A_{280}>5.0$．然后采用扩散透析和蒸气扩散-悬挂液滴法结晶得到R-藻红蛋白微晶[5]．时间分辨荧光光谱实验的激发源是主动锁模掺钕钇铝石榴石倍频激光．荧光信号由一台与多色仪连接的同步扫描条纹照相机探测．条纹照相机输入狭缝与多色

1994-04-14收稿，1994-09-10收修改稿

仪输出像平面重叠，这样荧光的波长特性和时间特性可同时被记录．实验在室温和 77K 两种温度下进行．在相同条件下记录了 R-藻红蛋白单盘(溶液)和微晶荧光的时间特性和波长特性．

2　实验结果和讨论

图 1(a) 是单盘 R-藻红蛋白(溶液)的荧光波长谱，其中虚线为室温条件下的荧光波长谱，荧光峰值波长为 578nm; 实线为 77K 条件下的荧光波长谱．图 1(b) 是 R-藻红蛋白微晶的荧光波长谱，其中虚线为室温条件下的荧光波长谱，实线为 77K 条件下的荧光波长谱．从图 1 清楚看出: 77K 条件下，微晶在 600nm 出现激子荧光谱带，激子谱带宽度为 9nm, 比单盘分子荧光谱带窄得多．此激子谱带在微晶中观察到而在单盘溶液中不能观察到说明它是盘间激子．

图 2 为 R-藻红蛋白在 77K 条件下的荧光衰减曲线(已解卷积消除激光脉宽影响)．其中，曲线 1 为单盘 R-藻红蛋白荧光衰减曲线，其荧

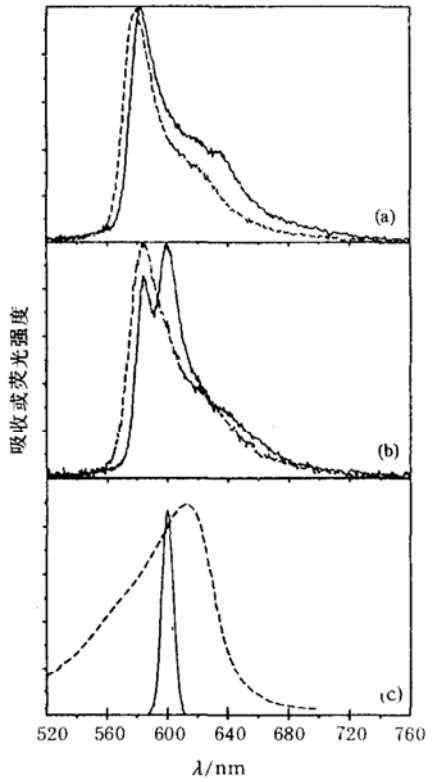


图 1　R-藻红蛋白荧光谱及 C-藻蓝蛋白吸收谱

(a)单盘 R-藻红蛋白(溶液)荧光谱．－－－ 室温，—— 77K; (b)R-藻红蛋白微晶荧光谱．－－－ 室温，—— 77K; (c)R-藻红蛋白盘间激子带与 C-藻蓝蛋白吸收光谱比较．－－－ 为 C-藻蓝蛋白吸收谱，—— 为 R-藻红蛋白盘间激子带

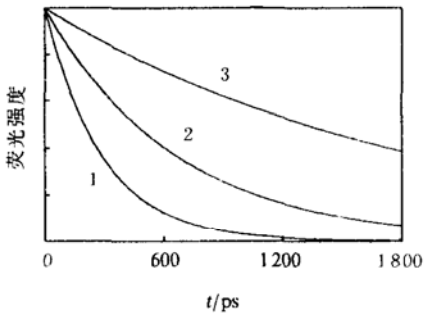


图 2　77K 下 R-藻红蛋白荧光衰减曲线

1 为单盘 R-藻红蛋白(溶液)荧光衰减曲线，荧光寿命为 290ps; 2 为 580nm 波长探测的 R-藻红蛋白微晶荧光衰减曲线; 3 为 600nm 波长探测的 R-藻红蛋白微晶荧光衰减曲线，其中激子荧光寿命为 1 900ps

光寿命为 290ps. 曲线 2 是探测波长为 580nm 的 R-藻红蛋白微晶荧光衰减曲线．曲线 3 是在激子谱带(600nm)探测的荧光衰减曲线，它含 2 个成分，一个是峰在 580nm 谱带的覆盖成分; 另一个是激子荧光，激子荧光的寿命为 1 900ps, 比单盘 R-藻红蛋白荧光寿命长得多．

以上实验结果直接观察到藻胆蛋白盘与盘之间激子态的存在，是藻类光合作用天线中通过激子进行盘与盘之间能量传递的有力实验证据．用激子理论可满意地解释光合作用天线中能量传递的快速和高效．首先，激子迁移速度比激发态共振传递速度快可满意地解释完整细胞实验测得的光合作用天线中能量传递的高速特性．另外，激子荧光寿命长表示激子态能量

辐射和非辐射损耗速率小. 损耗速率小与传递速度快两者相结合可满意地解释光合作用天线能量传递的高效特点. 其次, 单盘藻红蛋白荧光谱带峰值波长为578nm, 离C-藻蓝蛋白的吸收峰较远; 而且单盘R-藻红蛋白的荧光谱带很宽, 无法被C-藻蓝蛋白吸收谱理想地覆盖, 见图1(a)和(c)所示. 这说明用Förster理论不能理想地解释其效率高的特点. 相反, R-藻红蛋白盘间激子带的波长稍短於它的能量受体C-藻蓝蛋白的吸收峰, 而且激子谱带很窄, 见图1(c)所示. 即是说, R-藻红蛋白盘间激子的荧光谱带与其能量受体C-藻蓝蛋白的吸收谱的关系是高效传能的最佳关系.

以上实验虽只是在R-藻红蛋白微晶中观察到盘与盘之间激子荧光谱, 但它可用於解释活体中光合作用天线内能量传递. 原因是微晶中沿C_3对称轴的结构与藻胆体的杆的结构相同[2, 6]. 在垂直於C_3对称轴方向, 盘内激子把能量从感光色团传递到荧光色团或从α亚基传递到β亚基主要是往近C_3轴方向传递[3]; 而且盘内能量传递先於盘间能量传递是普遍承认的结论[1, 3]. 所以盘与盘之间的激子态是近C_3轴的强相互作用色团形成的沿C_3对称轴的准一维激子.

3 结论

本研究首次直接观察到R-藻红蛋白微晶中盘与盘之间激子荧光, 荧光峰值波长为600nm, 谱带宽度为9nm, 荧光寿命为1900ps. 激子的长衰减寿命、快速迁移及其荧光谱带与能量受体吸收谱带的最佳关系表明: 藻胆体中盘与盘间的能量传递可用激子理论满意地解释. 本研究为光合作用天线中藻胆蛋白盘与盘之间能量传递的激子理论提供了有力的实验证据.

参 考 文 献

1 Van Grondelle R. Excitation energy transfer, trapping and annihilation in photosynthetic systems. Biochim Biophys Acta, 1985, 811: 147～195

2 Glazer A N. Phycobilisome: a macromolecular complex optimized for light energy transfer. Biochim Biophys Acta, 1984, 768: 29～51

3 Beck W F, Sauer K. Energy-transfer and exciton state relaxation processes in allophycocyanin. J Phys Chem, 1992, 96: 4 658～4 666

4 Zeng F, Yang Z, Liu H *et al*. The study of phycobiliproteins in *Porphyra yezoensis* —— the physical and immunochemical properties of R-phycoerythrin. Scientia Sinica, 1986, B29: 824～831

5 Liang L, Zhu N J. R-phycoerythrin from *Porphyra yezoensis* UEDA and its preliminary crystallography study. Science in China, 1992, B35: 58～66

6 Buerring M, Schmidt G B, Huber R. Isolation, crystallization, crystal structure analysis and refinement of constitutive C-phycocyanin from the chromatically adapting cyanobacterium *Fremyella diplosiphon* at 0.116nm resolution. J Mol Biol, 1991, 217: 577～592