

(¹ 烟台大学生物化学系 264005)

(² 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

陈 敏¹ 李爱芬¹ 周百成² :

藻类 PSII 捕光叶绿素蛋白复合物结构研究进展

ADVANCES IN STRUCTURAL STUDY OF PSII LIGHT-HARVESTING CHLOROPHYLL-PROTEIN COMPLEXES OF ALGAE

 捕光复合物(LHC)在光合作用中负责光能的吸收和传递,这些复合物的捕光效率直接影响着植物的生长、发育以及生态分布。从光合生物进化的角度来看,捕光复合物的演变最为活跃,其组成和结构特性在一定程度上反映出光合系统结构进化乃至光合生物的进化历程。深入比较各种藻类及高等植物 LHCII 结构的异同,对于揭示光合系统结构和功能关系,探讨光合生物的进化都具有重要的意义。

收稿日期:1999-07-17;

修回日期:2000-04-21

1 藻类 PSII 捕光叶绿素蛋白复合物结构及研究近况

多数藻类(蓝藻和红藻除外,它们的 PSII 捕光复合物不是叶绿素蛋白复合物,而是水溶性的藻胆蛋白)和高等植物主要的捕光复合物都是 LHCII, 约占叶绿素总量的 40% ~ 60%。在高等植物中只发现有一种捕光色素蛋白复合物,即 Chl a/Chl b 叶黄素-蛋白复合物。而藻类的 LHC 则多种多样,基本可分为 Chl a/Chl b 和 Chl a/Chl c 蛋白复合物两大类。

1.1 捕光 Chl a/Chl b 蛋白复合物

裸藻、轮藻、多数绿藻的 LHCII 与高等植物相似,都含有 Chl a, Chl b 以及叶黄素(Lutein)等类胡萝卜素,属于 Chl a/Chl b 类型。只是高等植物 LHCII 的 Chl a/Chl b 比值十分接近,都在 1.02 ~ 1.2。而绿藻等因含有较多的 Chl b, 所以 Chl a/Chl b 比值普遍较低,并且因门类或种类不同而差别较大,从 0.6 ~ 2.7 不等。其中海洋绿藻最低,一般在 0.6 ~ 1.0。

高等植物的 LHCII 至少有 4 种色素蛋白亚复合物 LHCIIa, b, c, d, 分别由 Lhcbl ~ 6 基因编码的 6 种多肽构成,每个多肽结合有 12 ~ 15 个叶绿素及少量的类胡萝卜素^[3]。莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)和盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*)的 LHCII 报道由 4 ~ 6 种 27 ~ 31 kDa(也有报道为 28 ~ 35 kDa)多肽构成。免疫交叉反应及电镜观测结果表明,莱茵衣藻的 LHCII 也含有与高等植物 Lhc b4 (CP29), Lhc b5 (CP26) 及 Lhc b6 (CP24) 多肽功能相当的 3 种多肽,但是大小不完全相同。目前,莱茵衣藻、盐生杜氏藻、*C. neovusii* 以

及 *D. tentiolecta* LHCII 的多肽基因序列已被推测出来,这些多肽序列在与膜相配合的部分(一般为跨膜 α -螺旋)具有较高的保守性,但盐藻 LHCII 多肽的前导序列与衣藻和高等植物完全不同。

此外,绿藻 LHCII 受光照条件的影响在色素及复合物的构成上会发生大幅度的变化^[4]。盐生杜氏藻在低光下的 Chl a/Chl b (3 ~ 5, LHCII 含有 250 Chl (a + b) / PSII; 在高光下 Chl a/Chl b > 10, LHCII 只含有大约 30 Chl (a + b) / PSII。其 Chl a/Chl b 比值的变化还伴随着 LHCII 多肽组成的变化。高光下的盐藻 LHCII 只有 28 和 28.5 kDa 两种多肽;转移至低光下后,依次出现 31 kDa 和 27 kDa 多肽。随时间的增长,各多肽的含量都逐渐增加。目前对其调控机制还不很清楚。

管藻目绿藻的 LHCII 为特殊的管藻黄素-Chl a/Chl b 蛋白复合物,并且 Chl a/Chl b 比值很低,一般在 0.6 ~ 0.8。一种未定名的松藻(*Codium* sp.)、刺松藻(*C. fragile*)和假根羽藻(*Byropsis corticularis*)的 LHCII,报道含有 35.5, 34, 29.1, 28.5 和 27 kDa 多肽;但大羽藻的 LHCII,只含有 28 和 32 kDa 两种多肽,每个多肽上大约含有 6 个 Chl a、8 个 Chl b 和 5 个叶黄素(包括 3 分子管藻黄素,1 分子管藻素和 1 分子新黄素)。尽管一种松藻和刺松藻的 LHCII 与高等植物菠菜之间可产生免疫交叉反应,说明其蛋白的一级结构具有一定的相似之处,但因所结合的色素种类不同,所以至少在多肽与色素相互作用的结 构部分必然存在着差异。目前,尚无有关管藻目藻类捕光复合物多肽的结构、氨基酸序列以及基因方面的报道。

另一类比较特殊的绿藻是 *Mantoniella squamata* 和 *Micromonas pulkilla*。这两种鞭毛藻原被归于绿枝藻纲,但目前已列于一个新的纲 *Micromonadophyceae*。在这类藻中只发现了一种极为特别的捕光复合物,同时含有 Chl a, b, c 3 种叶绿素(Chl a/Chl b $\approx$ 0.7 ~ 0.9)以及一种特殊的叶黄素——草绿黄素(Prasinoxanthin)(吸收波长在 500 ~ 520 nm)。目前一般将这类捕光复合物归入 Chl a/Chl b 蛋白复合物中。相应地,这类藻也被看作是绿藻中原始类型的代表。它们的存在为绿色植物及杂色植物的进化关系研究提出了新问题。*M. squamata* 的 LHC 主要由两种不同的多肽构成,分别报道为 20.5 和 22 kDa, 或 23.5 和 25 kDa。这两个多肽与高等植物的主要捕光复合物蛋白之间不产生免疫交叉反应。氨基酸序列分析和 cDNA 克隆的结果还表明, *M. squamata* 的 LHC 与其他 Chl b 结合蛋白之间大约只有 30% ~ 35% 的同源性。此外, *M. squamata* 的 LHC 具有很高的稳定性,可抗拒高浓度 SDS 的作用,即使在 50 ~ 60 °C 温度下处理 30 min, 其蛋白与色素基仍有 50% 保持天然状态。对 *M. squamata* LHC 的晶体结构研究表明,其多肽在膜上的排布与高等植物相似, N 末端在基质中, C 末端在类囊体膜腔内,每个多肽都有 3 个疏水的跨膜螺旋区。

原绿藻的捕光复合物也是 Chl a/Chl b 蛋白复合物。原绿藻(*Prochloron didemni*)和原绿丝藻(*Prochlorothrix hollandica*)的 LHCII 多肽分子量都在 30 ~ 35 kDa 之间(主要为 34 kDa),没有高等植物 LHCII 的 24 ~ 30 kDa 多肽。高等植物 LHCII 抗体与其 34 kDa 多肽不

产生免疫交叉反应。有关原绿藻 LHCII 的 Chl a/ Chl b 比值的报道差异较大, 含有的主要的类胡萝卜素种类尚不清楚, 但肯定不是叶黄素。此外, 原绿丝藻 LHCII 的 CD 谱在 650 nm 处缺少明显的负峰, 表明其 LHCII 尽管同样含有 Chl b, 但与高等植物 LHCII 中的结合方式是不同的。目前, 许多工作者正致力于其 LHCII 基因以及多肽的氨基酸序列的研究。

1.2 捕光 Chl a/c 蛋白复合物

杂色藻类的 LHC 以含有 Chl a, c 以及一些特殊的类胡萝卜素, 如墨角藻黄素和多甲藻素等为特点。它们通常由 1~4 种 17~23 kDa 多肽构成。在活体中, 这些小分子肽可装配成 120~700 kDa 的超分子复合物。对这一类复合物的内部结构和组成, 目前了解尚少。

褐藻和硅藻主要的捕光复合物是墨角藻黄素-Chl a/ Chl c 蛋白复合物 (FCPC) 和 Chl a/ Chl c 蛋白复合物两种 (也有报道分离到墨角藻黄素-蛋白复合物)^[2], Chl a/ Chl c = 2.8~4.6, 由 2~4 种 15~21 kDa 多肽构成。免疫交叉实验显示, 各种 FCPC 蛋白之间具有很高的同源性。目前, 有几种 FCPC 基因已初步分离出来, 并与一些 Chl a/ Chl b 蛋白作了比较。发现尽管 FCPC 的多肽链比较短, 但也具有与 Chl a/ Chl b 结合蛋白类似的跨膜三螺旋结构。

杂色藻中的隐藻具有两套捕光系统, 分别是水溶性的藻胆蛋白和非水溶性的 Chl a/ Chl c₂ 蛋白复合物。其中 Chl a/ Chl c₂ 蛋白复合

物的 Chl a/ Chl c 比值依种类不同而差别较大, 从 4~10 不等, 用变性凝胶电泳分离的多肽组分主要为 24 和 20 kDa 两种。这些多肽与高等植物 LHCII 抗体之间不产生免疫交叉反应。但对 24 kDa 多肽序列的初步分析表明, 其一级结构与高等植物之间存在着相似性。

在甲藻中至少也存在两套捕光系统, 一是水溶性的多甲藻素-Chl a 蛋白复合物 (PCP), 呈砖红色, Chl a/ Chl c = 1~4, 多甲藻素/ Chl a = 4: 1, 含有 15 或 30~35 kDa 多肽, 有的两种多肽都有。另一种捕光复合物是疏水的 Chl a/ Chl c₂ 类胡萝卜素蛋白复合物, 富含 Chl c₂, Chl a/ Chl c₂ = 0.2~0.3, 主要含有一种 19 kDa 多肽。目前, 尽管水溶性与非水溶性的两种捕光复合物之间的结构关系尚不清楚, 但总的迹象表明, 其能量传递方向是从 PCP 到膜内部的 Chl a/ Chl c₂ 类胡萝卜素蛋白复合物, 最终到达反应中心。

2 结语

目前, 对于藻类捕光复合物的研究具有明显的不均衡现象。一些叶绿素蛋白复合物, 例如原绿藻的 LHC、多种 FCPC 及 Chl a/ Chl c 蛋白复合物中的某些多肽, 已经在空间结构、能量传递及分子生物学方面取得了许多重要的成果^[3], 但是对于大多数藻类 LHCII 的整体结构, 包括多肽的组成、相互关系以及色基的结合情况等却不清楚。由于藻类的捕光叶绿素蛋白复合物较之高等植物要庞大, 尤其是一些杂色藻, 因而难于分离到完整的 LHCII 捕光复合物。可见, 分离技

术的改进和提高将是藻类 LHCII 结构研究能否深入的关键。

藻类中进化程度最高的绿藻等与高等植物相似, 都只有一类非水溶性的捕光叶绿素蛋白复合物; 最原始的蓝藻和红藻也只有一套捕光复合物, 却是水溶性的藻胆蛋白; 而进化程度介于两者之间的许多杂色藻类却兼有水溶性和非水溶性的两套捕光系统。PSII 捕光复合物在进化过程中水溶性系统和非水溶性系统的进化过程值得探讨。

总之, 藻类叶绿素蛋白复合物的种类及其色素、蛋白组成要比高等植物变化多样, 并且代表着不同的进化层次。对这一类群进行深入的比较研究, 将揭示出更多的有关光系统结构、进化、以及光合作用原初反应机理方面的信息, 同时为光生物的起源及其亲缘关系的探讨提供重要依据。

参考文献

- 1 陈敏, 李爱芬, 周百成. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2000, 13(1): 38~44
- 2 李爱芬, 陈敏, 周百成. 植物学报, 2000, 42: 153~157
- 3 Ruban A. V., Young A. J. et al. . *Biochemistry*, 1996, 35: 674~678
- 4 Harry A., Cogdell J. F. et al. . *Photochem. Photobiol.*, 1996, 63: 257~264
- 5 Diner B. A., Babcock G. T. . *Oxygenic Photosynthesis: The light reaction*. The Netherlands: Kluwer, 1996. 213~247

(本文编辑: 张培新)