

海洋管藻目绿藻——刺松藻和假根羽藻 PSI 荧光特异性的研究*

陈 敏 李爱芬 周百成

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 采用分离、原位扫描和光谱分析方法,将管藻目绿藻刺松藻和假根羽藻的叶绿体、类囊体膜、PSI 复合物及其亚复合物的结构及光谱性质与软丝藻和菠菜做了比较。结果表明,管藻目绿藻缺少作为高等植物 PSI 表征的 730nm 长波荧光,这一特异现象主要与 LHCl 结构的差异有关。采用 PAGE 法分离出的 4 种 PSI 复合物的荧光主发射峰分别在 698、690、685 和 677nm,在 710—715nm 处有一个随分子量减小而逐渐明显的肩峰。不同去污剂处理只影响 PSI 复合物荧光峰的高低,而不影响其峰位。PAGE 再分离得到的假根羽藻 LHCl 由 24—27.5kDa 的 4 种多肽构成,Chl-*a*/Chl-*b* = 1.2, 77K 荧光发射峰在 682nm; CCl 只含有 67 和 56kDa 多肽,是叶绿体 715nm 荧光的发射部位。当有 LHCl 存在时,该荧光不明显。

关键词 管藻目, PSI, CCl, LHCl, 长波荧光, 绿藻, 菠菜

中图分类号 Q947

管藻目绿藻是绿藻门中比较特殊的一个类群,在光合色素组成、细胞壁结构、类囊体膜的垛叠方式,甚至荧光特性等许多方面都有别于多数绿藻和高等植物,而更接近于相对原始的杂色藻类(Benson *et al.*, 1983; Anderson *et al.*, 1987; 李爱芬等, 2001)。据曾呈奎等¹⁾、Anderson(1983)和李良璧等(1992)报道,一种松藻和刺松藻叶绿体在 77K 下的荧光发射主峰在 686nm,而在 695 和 715nm 处各有一个呈隐现状态的肩峰,没有高等植物 PSI 特有的 730—735nm 长波荧光峰,说明其光系统 I(PSI)结构存在着不同于高等植物的特异性。而这一特异性的揭示,对于研究 PSI 的结构、功能以及进化都将具有重要的意义。但目前对此尚无更深入的研究和明确的解释。为些,作者以管藻目绿藻刺松藻和假根羽藻以及软丝藻和菠菜为实验,对它们的叶绿体、类囊体膜、PSI 色素蛋白复合物及亚复合物的结构和光谱性质进行了研究和比较,以期对其 PSI 结构有一个更清楚的了解。

1 材料与方 法

1.1 叶绿体及类囊体膜的制备

菠菜(*Spinacia oleracea*)购自青岛市场,按钟储稀等(1980)的方法制备叶绿体和类囊体膜。刺松藻(*Codium fragile*)、假根羽藻(*Bryopsis corticulans*)和软丝藻(*Ulothrix flacca*)于每

* 国家“九五”攻关资助项目,96-C01-05-01号。陈敏女,出生于1966年12月,博士,副教授,现工作单位:烟台大学生化系,邮编:264005, E-mail: chenmcm@public.ytptt.sd.cn

1) 曾呈奎,周百成,潘忠正等,1981. 刺松藻完整叶绿体色素间的能量传递(内部交流)

收稿日期:1999-06-22, 收修改稿日期:2000-04-08

年9—11月采自青岛汇泉湾,将新鲜藻体用海水洗净后,剪碎,加入等体积的分离介质(50mmol/L磷酸盐缓冲液, pH=7.2, 含0.4mol/L山梨醇、10mmol/L MgCl₂、50mmol/L NaCl),用匀浆机间歇匀浆约1min,依照Anderson(1983)的方法制备类囊体膜,依Arnon(1949)的方法测定叶绿素浓度及Chl *a*/Chl *b* 比值。调整膜制剂的叶绿素浓度至1.0mg/ml,于-70℃冰箱贮存备用。

1.2 类囊体膜的增溶

菠菜类囊体膜增溶液为0.3mol/L Tris-HCl 缓冲液, pH=8.8, 含10%甘油、20%蔗糖、0.75% SDS(十二烷基硫酸钠),或2% DMG(癸基 N-甲基葡萄糖胺),或6% DOC(脱氧胆酸钠);藻类类囊体膜增溶液为0.3mol/L Tris-HCl 缓冲液, pH=8.0, 含10%甘油、0.75% SDS(或2% DMG,或6% DOC),以等体积与类囊体膜制剂混合后,置冰浴中增溶,时间分别为:SDS 7—8min、DMG 20min、DOC 30min。于TGL-168台式离心机上8000r/min离心10min后,取上清液上样,进行复合物分离。

1.3 色素蛋白复合物的 PAGE 分离

类囊体膜上色素蛋白复合物的分离,参照李桐柱等(1995)的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)方法稍加改进。电泳分离胶浓度改为11%。假根羽藻堆积胶 pH 值改为6.8。电泳管长11cm,内径为6.5mm,上样量为60—80μl/管,管电流为2.5mA。

1.4 色素蛋白复合物的再分离

将首次凝胶电泳后的色素蛋白复合物条带切下,将凝胶切片上样,每管3—4片,进行再电泳,条件与第一次电泳相同,只在堆积胶中加入5mmol/L的 Mg²⁺。

1.5 原位扫描与吸收光谱测定

电泳后的电泳管直接在 CS-910 双波长 TLC 扫描仪上进行原位扫描。然后将含有复合物的凝胶条带切下,采用 UV-3000 双波长双光束分光光度计测定吸收光谱,窄缝宽度为2nm。

1.6 低温荧光光谱测定

含有复合物的凝胶片直接在 F-4500 荧光分光光度计上测定 77K 低温荧光光谱。类囊体膜及叶绿体悬浮液事先加入5%的甘油,混匀后测定。窄缝宽度为5nm。

1.7 多肽分析

电泳后的复合物条带切下,进行再电泳,上样量为3—4片/管,条件与第一次电泳完全相同。将再电泳后的凝胶片浸泡于样品处理液中(含4% SDS、10% 巯基乙醇、20% 甘油、0.005% 溴酚蓝及0.1mol/L Tris-HCl 缓冲液, pH=6.8),室温放置2h以上,或水浴煮沸10min,将凝胶片上样。采用 Laemmli(1970)的方法进行多肽分析,电泳仪为 Bio-Rad-mini-protean II 型,电流15—20mA/板。电泳后的凝胶片染色(染色液含0.1%考马斯亮蓝,乙醇:乙酸:水=50:7:43)1—2h后脱色(脱色液中乙醇:乙酸:水=25:7:68),并在 CS-910 双波长 TLC 扫描仪上进行薄层扫描,扫描波长为595nm。标准蛋白为上海丽珠东风生物技术有限公司产品。

2 实验结果

2.1 叶绿体及类囊体膜的光谱特性

2.1.1 吸收光谱 刺松藻和假根羽藻类囊体膜因含有管藻黄素和管藻素而在500—

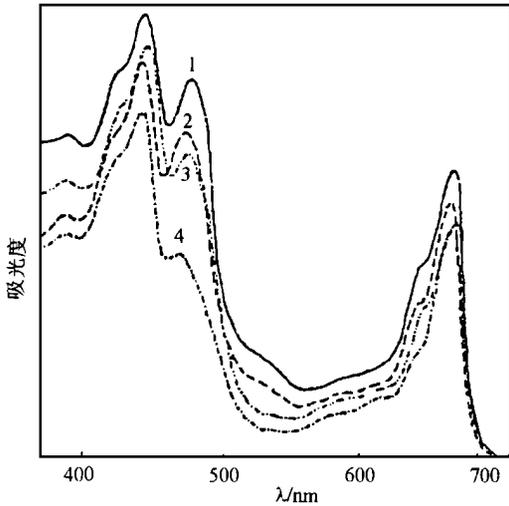


图 1 类囊体膜吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of thylakoids

1. 刺松藻 (*C. fragile*); 2. 假根羽藻 (*B. corticulans*); 3. 软丝藻 (*U. flacca*);
4. 菠菜 (*S. oleracea*)

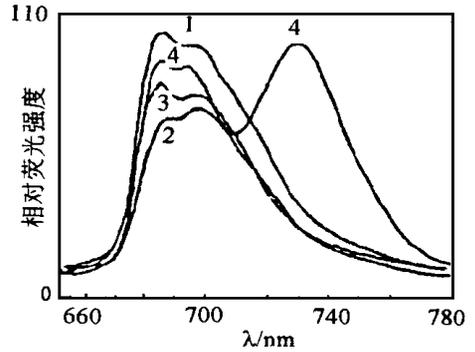


图 2 类囊体膜 77K 荧光发射光谱(激发波长为 436nm)

Fig. 2 77K fluorescence emission spectra of thylakoids (the excitation wavelength were at 436nm)

1. 软丝藻 (*U. flacca*); 2. 假根羽藻 (*B. corticulans*); 3. 刺松藻 (*C. fragile*);
4. 菠菜 (*S. oleracea*)

550nm 处呈现较高的吸收(图 1)。3 种藻类类囊体膜的叶绿素 *b* ($\text{Ch}+b$) 含量都很高, 刺松藻和假根羽藻类囊体膜的 $\text{Ch}+a/\text{Ch}+b$ 为 1.15—1.5, 软丝藻为 1.45—1.7, 而菠菜为 2.8—3.0。此外, 各类材料中叶绿素的吸收略有差别: 管藻目藻类 $\text{Ch}+a$ 的最大吸收在 436 和 676nm, 软丝藻在 440 和 680nm, 菠菜为 437 和 678nm。

2.1.2 77K 荧光光谱 3 种绿藻的叶绿体和类囊体膜(图 2)在 77K 低温下的荧光发射光谱与高等植物菠菜不同。菠菜叶绿体和类囊体膜主要有 685nm、695nm 和 730nm 3 个荧光发射峰, 但所用 3 种藻的类囊体膜的低温荧光最大发射峰都在 685nm 和 695nm 附近, 在 710—720nm 只有一个不明显的肩峰, 完全缺少菠菜的 730nm 长波峰。

2.2 PSI 色素蛋白复合物的光谱特性及其去污剂的影响

2.2.1 复合物的分离与光谱特性 在经 PAGE 分离得到的 3 种藻类的 PSI 各复合物中, 依然观察不到类似高等植物的 730nm 长波荧光峰。分离出的刺松藻和假根羽藻的 10 种色素蛋白复合物中, 有 4 种属于 PSI (假根羽藻的分离结果见图 3), 依分子量由大到小分别为 CPIa_1 、 CPIa_2 、 CPIa_3 和 CPI , 77K 最大荧光发射分别在 698、690、685 和 677nm, 在 710—715nm 处还有一个不明显的肩峰, 这一肩峰随着 PSI 复合物分子量的减小而逐步显现出来(结果未示出); 从软丝藻中得到 2 种 PSI 色素蛋白复合物, 分别为 CPIa 和 CPI 。从菠菜中得到 3 种 PSI 色素蛋白复合物, 称为 CPIa_1 、 CPIa_2 和 CPI 。软丝藻的 CPIa 在 674nm 和 715nm 各有一个独立的荧光发射峰, 但其中心复合物 CPI 的最大发射峰移至 715nm(结果未示出), 同时伴随着 674nm 荧光的大幅度降低, F_{715}/F_{674} 比值是 CPIa 的 8.1 倍; 菠菜与软丝藻具有类似的发射峰形的变化, 但其 CPIa_1 、 CPIa_2 和 CPI 的长波发射峰分别在 730nm、722nm 和 720nm, 比 3 种藻类相应的条带的发射波长都长。

2.2.2 去污剂对 PSI 复合物荧光的影响 采用 SDS、DMG 和 DOC 3 种不同去污剂处理 4 种材料的类囊体膜, 发现经 DMG 处理而得到的 PSI 复合物的长波荧光普遍比另外两种处理为强, 尤其是两种管藻目绿藻的 CPI, 其 710—715nm 长波荧光不再呈隐现状态, 而成为一个独立的发射峰。尽管不同去污剂对 PSI 复合物的作用程度不一, 但只影响荧光发射峰的高低, 并不影响发射峰的位置(图 4), 表明几种材料 PSI 荧光的差异, 并非由于去污剂的影响。

2.3 PSI 亚复合物分离及其特性

2.3.1 PSI 复合物的再分离与亚复合物鉴定 为进一步了解 PSI 复合物的结构与光谱特性, 我们将假根羽藻的 PSI 复合物进行了再分离。第二次电泳后的 CPI_{la} 和 CPI 样品在电泳胶上各呈现 5 条含有色素的条带(图 3), 最前沿的两条为游离色素, 其余几条依迁移率由小到大分别称为 CPI_a-I (黄绿色)、CPI_a-II (鲜绿色)、CPI_a-III (浅褐色) 和 CPI-I (绿色)、CPI-II (绿色)、CPI-III (浅褐色)。其中 CPI_a-I 和 CPI_a-II 分别对应于第一次电泳中的 CPI_a 和 CPI; CPI-I 和 CPI-II 的吸收光谱中除了 Chl-a 外, 几乎看不到 Chl-b 的吸收, 含有 66kDa 和少量 56kDa 多肽, 77K 荧光最大发射峰在 677 和 715nm (结果未显示), 因此判定它们是 PSI 的核心复合物 CCl; 而 CPI_a-III 和 CPI-III 中含有大量的 Chl-b 和少量类胡萝卜素, 最大吸收在 440、475、655 和

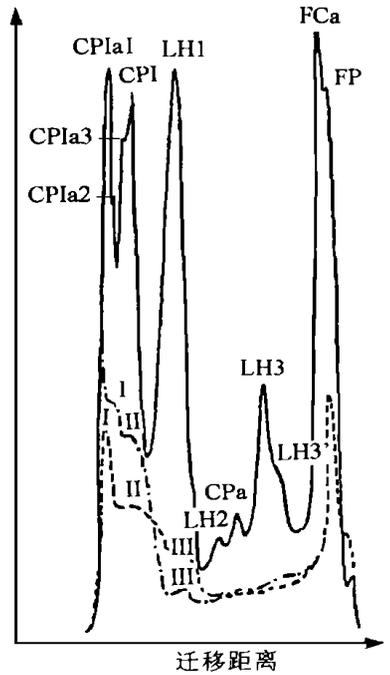


图 3 假根羽藻 PSI 复合物再分离结果原位扫描(波长为 675nm)
 Fig. 3 Densitometric scans at 675nm after further fractionation of PSI complexes isolated from *B. corticulans*
 ——类囊体膜复合物分离(Resolution of the isolated complexes from thylakoid); ——CPI_a 再分离(Further fractionation of CPI_a); - - - CPI 再分离(Further fractionation of CPI); I、II、III 示不同峰

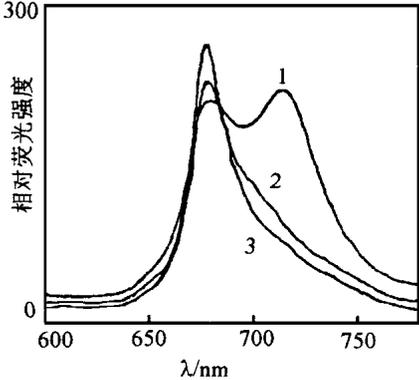


图 4 不同去污剂处理的假根羽藻 CPI 荧光发射光谱(激发波长为 436nm)
 Fig. 4 Fluorescence spectra of *B. corticulans* CPI resolved by different kinds of detergent (the excitation wavelength were at 436nm)
 1. DMG; 2. SDS; 3. DOC

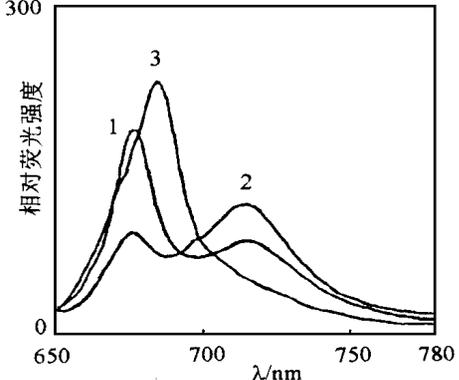


图 5 假根羽藻 CPI 亚复合物 77K 荧光发射光谱(激发波长为 436nm)
 Fig. 5 77K fluorescence spectra of CPI sub-complexes isolated from *B. corticulans* (the excitation wavelength were at 436nm)
 1. CPI-I; 2. CPI-II; 3. CPI-III

670nm, $Chl\ a/Chl\ b$ 比约为 1.3, 含 27.5、26.2、26 及 24kDa 四种多肽。因而认为 $CPI\ \alpha$ -II 和 $CPI\ \beta$ -II 都是从 PSI 上解离下来的捕光复合物(LHCI) 组分。但是与高等植物不同的是, 两者的 77K 荧光最大发射峰在 682nm, 没有长波峰。

2.3.2 LHCI 组分对 CCI 荧光的影响 除 DMG 外, SDS 和 DOC 处理所得两种管藻目绿藻的 CPI, 都只呈现一个不明显的 710—715nm 的肩峰。多肽分析结果显示, 两种管藻目绿藻 $CPI\ \alpha$ -3 复合物具有相同的多肽组成(结果未示出), 含有 66、56、28、26.2、26、24kDa 以及 1—2 种分子量小于 15kDa 的多肽, 随着分子量的降低, 24—28kDa 的 4 种 LHCI 多肽组分的含量明显减少。而 CPI 中除 66、56kDa 两种主要成分外, 也含有少量的 LHCI 多肽, 并且在吸收光谱中还可有少量 $Chl\ b$ 存在, 室温最大吸收在 436、465 和 676nm。但是使用 DMG 处理后得到的假根羽藻 CPI 中, 只含有 66kDa、少量 56kDa 及两种 15kDa 左右的小肽, 3 种属于 LHCI 的多肽基本消失, 同时表现出较高的 710—715nm 荧光。另一方面, 假根羽藻的 CPI 复合物再分离的结果也表明, 去除了以上 3 种多肽以后的 CPI 组分, 其 710—715nm 的长波荧光变得十分显著(图 5)。可见, 两种管藻目绿藻的 LHCI 多肽与中心复合物 CCI 的结合程度要比高等植物菠菜中的紧密, 并且明显影响着 PSI 的长波荧光特性。

3 讨论

管藻目绿藻最明显的特征是叶绿体 77K 低温荧光没有 730nm 的发射峰, 而在高等植物中, 730nm 的荧光峰被作为 PSI 的主要表征。对于这种差异迄今没有明确的解释。我们的实验结果表明, 这一差异现象与 LHCI 直接相关。目前只有 Chu 等(1985) 曾用蔗糖密度梯度离心法从一种松藻的 PSI 复合物中分离出 LHCI 复合物, 其荧光发射峰在 686nm, 而不是高等植物 LHCI 的 730nm。Chu 等(1985) 认为这种荧光特异现象可能是天然存在的, 但也可能是由于分离过程改变了色素结合状态所致。我们首次用 PAGE 法分离出刺松藻和假根羽藻 LHCI, 其低温荧光发射峰都在 682—683nm, 进一步证实了管藻目绿藻的 LHCI 不发射 730nm 的荧光。同时, 通过逐步分离, 比较了叶绿体、类囊体膜、色素蛋白复合物及复合物各组分的荧光光谱, 都没有观察到 730nm 荧光, 说明缺乏 730nm 荧光峰不是分离过程造成的假象。在高等植物中, LHCI 整体上具有 730nm 荧光峰, 成为 PSI 的特征。但 LHCI 由 LHCF-730 和 LHCF-680 两部分组成, 在分离状态下可分别发出 730nm 和 680nm 的荧光(Kuang *et al.*, 1984; Bassi *et al.*, 1987)。而管藻目绿藻从类囊体膜到分离出的 LHCI 都没有 730nm 的荧光峰, 这说明其 LHCI 没有高等植物 LHCF-730 中发射 730nm 荧光的相似结构。

管藻目绿藻叶绿体和类囊体膜低温荧光的另一个特点是在 715nm 附近有一个不明显的肩峰, 其来源不明。本文的结果证明它是由 PSI 核心复合物 CCI 发出的特征荧光。当有 PSI 的外周天线存在时, 这个荧光峰不明显, 随着 LHCI 的减少, 这个肩峰逐渐显露出来。将 $CPI\ \alpha$ 以及荧光呈隐现状态的 CPI 进行再分离, 得到去除了 24.5—27.5kDa LHCI 多肽和 $Chl\ b$ 的 CCI, 结果 715nm 的荧光峰变得十分显著, 证明叶绿体的 715nm 荧光肩峰确实发自 CCI, 并由于 LHCI 的存在而呈隐现状态。这是管藻目绿藻同高等植物的又一个明显的区别。高等植物 PSI 核心复合物 CCI 的荧光峰都在 720nm, 当有 LHCI 同时存在时, 只显出 LHCI 的 730nm 荧光峰, 观察不到 CCI 的 720nm 荧光峰。

从藻类到高等植物, PSI 核心复合物 CCI 与捕光复合物 LHCI 的 77K 荧光发射峰位的相对分布有多种类型。高等植物 CCI 在 720nm, 而 LHCI 在 730nm (Mullet *et al.*, 1980; Kuang *et al.*, 1984; Bassi *et al.*, 1987), 比核心复合物的荧光波长长 10nm 左右; 莱茵衣藻 PSI 核心复合物的荧光发射峰在 710—718nm, 而捕光复合物 CPO 在 708—712nm, 与其核心复合物的发射波长相近 (Wollman *et al.*, 1982); 而管藻目绿藻与高等植物和其他绿藻都不同, LHCI 的荧光峰位于 682—683nm, 比核心复合物的 715nm 荧光发射波长短了近 30nm。此外, Berkaloﬀ 等 (1990) 报道, 硅藻三角褐指藻和褐藻锯齿形墨角藻、糖海带的 LHCI 的 77K 荧光发射峰也在 684—686nm。由此可见, 各种藻类的 PSI 的结构和能量传递方式是多样化的, 这种多样性可能从一个侧面反映了 PSI 在系统进化过程中的演变历程。值得注意的是, 在高等植物的 PSI 的装配过程中, 处于半成熟状态的类囊体膜只有 715—720nm 的低温荧光峰, 与缺少 730nm 荧光的藻类相似; 只有当类囊体膜装配完全以后, 才出现 730nm 低温荧光 (Anandan *et al.*, 1993)。由此可见, 在含有 Chl *a* 和 Chl *b* 的光合生物中, 作为 PSI 表征的 730nm 低温荧光在系统发育和个体发育过程中, 可能都经历了一个从无到有的演变过程, 这是否是个体发育重演系统发育过程的又一个例证, 值得探讨。

PSI 荧光的差异与其功能有着必然的联系。对于陆生高等植物来说, 高光强条件下的保护作用至关重要。因此, 其 LHCI 除了起到捕集光能的作用以外, 还起着能量陷阱的作用。当光能过量时, 以荧光的形式泄露多余的能量, 避免因过激发导致的反应中心的损伤 (Harworth *et al.*, 1983)。管藻目藻类的 LHCI 没有高等植物的 F730 荧光, 可能代表着另一种类型, 就是适应绿光占优势的海洋中的弱光环境, 以尽量多吸收光能为目的。因此, 可能没有必要形成这种能量陷阱以泄露多余的光能。

两种管藻目绿藻的核心复合物 CCI 属于进化上比较保守的部分, 与高等植物相似, 为 Chl α 蛋白复合物, 都含有 67kDa 多肽, 但长波荧光峰在 710—715nm, 比高等植物蓝移了 15—20nm。而其捕光复合物在色素组成, 多肽种类及光谱特性方面都不同于高等植物和多数绿藻, 其 LHCI 与 LHCI 相似, 为特殊的管藻黄素-Chl *a/b* 蛋白复合物, 含有 4 种分子量比高等植物略大的多肽组分, 77K 荧光发射峰在 682nm, 没有高等植物的 730nm 特征荧光。不同结构层次的荧光比较结果说明, 两种管藻目绿藻的荧光的特异现象是天然存在的, 并非在分离过程中形成, 也并非因去污剂的影响。这一荧光的特异性是由于 LHCI 多肽一级结构的差异、缺失, 或只是结合于其上的 Chl *a* 形式的不同, 还将有待于进一步的比较研究。

致谢 本工作是在中国科学院海洋研究所和中国科学院植物研究所光合作用研究中心完成, 曾得到曾呈奎院士、匡廷云院士、李良璧研究员的指导, 张群、冯丽洁老师在实验结果测定方面给予了热情帮助, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- 李良璧, 高振洋, 马 红等, 1992. 刺松藻类囊体膜 2.3kDa 和 2.4kDa 多肽在阳离子调节激发能分配中的作用. 中国科学 (B 辑), 7: 696—702
- 李桐柱, 林世青, 1995. 一个高分辨率的凝胶电泳系统及其从蓝藻中分离的叶绿素蛋白复合体. 植物学报, 37: 34—40
- 李爱芬, 陈 敏, 周百成. 2001. 去污剂对裙带菜色素- 蛋白复合物电泳分离效果及其性质的影响. 海洋与湖沼, 32 (4): 394—401
- 储钟稀, 许春辉, 毛大璋等, 1980. 植物叶绿素- 蛋白质复合物的研究 I. 阳生植物向日葵、阴生植物—叶兰的叶绿素- 蛋白质复合物. 植物生理学报, 6: 163—172
- Anandan S, Moishige D T, Thomber J P, 1993. Light-induced biogenesis of light-harvesting complex I (LHCI) during chloroplast development in barley (*Hordeum vulgare*). Plant Physiol, 101: 227—236
- Anderson J M, 1983. Chlorophyll protein complexes of a *Codium* species, including a light-harvesting siphonaxanthin-chlorophyll *a/b* protein complexes, an evolutionary relic of some Chlorophyta. Biochim Biophys Acta, 724: 370—380
- Anderson J M, Evans P K, Goodchild D J, 1987. Immunological cross-reactivity between the light-harvesting chlorophyll protein complexes of a marine green alga and spinach. Physiol Plantarum, 70: 597—602
- Arnon D I, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24: 1—15
- Bassi R, Simpson D, 1987. Chlorophyll protein complexes of barley photosystem I. FEBS Lett, 163: 221—230
- Benson E E, Cobb A H, 1983. Pigment/protein complexes of the intertidal alga *Codium fragile* (Suringar) Hariot. New Phytol, 95: 581—594
- Berkaloff C, Caron L, Rousseau B, 1990. Subunit organization of PSI particles from brown algae and diatoms: polypeptide and pigment analysis. Photosynthesis Res, 23: 181—193
- Chu Z X, Anderson J M, 1985. Isolation and characterization of a siphonaxanthin-chlorophyll *a/b* protein complex of Photosystem I from a *Codium* species (Siphonales). Biochim Biophys Acta, 806: 154—160
- Haworth P, Watson J, Amtzen C J, 1983. The detection, isolation and characterization of a light-harvesting complex which is specifically associated with photosystem I. Biochim Biophys Acta, 724: 151—158
- Kuang T Y, Argyroudi Akoyunoglou J H, Nakatani H Y *et al*, 1984. The origin of the long wavelength fluorescence emission band (77K) from photosystem I. Archives Biochem Biophys, 235: 618—627
- Laemmli U, 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680—685
- Mullet J E, Burke J J, Arntzen C J, 1980. Chlorophyll *a/b* protein of photosystem I. Plant Physiol, 65: 814—822
- Wollman F A, Bennis P, 1982. A new chlorophyll-protein complexes related to Photosystem I in *Chlamydomonas reinhardtii*. Biochim Biophys Acta, 680: 352—360

CHARACTERIZATION OF PSI FLUORESCENCE IN SIPHONOUS MARINE GREEN ALGAE, *CODIUM FRAGILE* AND *BRYOPSIS CORTICULANS*

CHEN Min, LI Ai-Fen, ZHOU Bai-Cheng

(Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Structural and spectral characters of chloroplast, thylakoids, PSI chlorophyll-protein complexes and their sub-complexes LHCI and CCI isolated from two species of siphonous green algae, *Codium fragile* and *Bryopsis corticulans*, were studied and compared with those of green alga *Ulthrix flacca* and spinach. Affection on the long wavelength of PSI complexes of different types of detergents was also investigated. The results showed that all of the three green algae

lacked the 730nm characteristic emission band which is regarded as a symbol of PSI in higher plants. The main fluorescence emissions in chloroplasts and thylakoids isolated from *C. fragile* and *B. corticulans* were all near 685nm and 695nm, a shoulder around 710—715nm with an unknown origin was also identified. The largest PSI complex resolved from spinach thylakoids by PAGE has a long wavelength emission around 730nm, *U. flacca* at 715nm. The emission bands of three CPI complexes from *C. fragile* and *B. corticulans* were associated with single wide peaks, with wavelengths of shorter than 700nm, at 698, 690, 685nm, respectively. CPI of spinach had an emission maximum at 720nm and *U. flacca* at 715nm, *C. fragile* and *B. corticulans* at 677nm; the peak between 710—715nm was half-hidden. The fluorescent peaks of PSI complexes resolved by three different detergents, SDS, DMG and DOC, differed in their heights other than their wavelengths. It suggests that the separating procedure and the detergents have no relationship with the differences of PSI fluorescence emission positions among spinach, *U. flacca* and two species of siphonous green algae. By further fraction of PSI complexes under PAGE, the light-harvesting complex LHCI and core complex CCI of *B. corticulans* were obtained. LHCI consisted of four peptides of 27.5, 26.2, 26 and 24kDa, and had a fluorescence emission around 682—683nm other than 730nm in higher plants at 77K. It attached more tightly with CCI than those of *U. flacca* or spinach. CCI depleting of LHCI contained only 67 and 56 kDa peptides, and meanwhile, its fluorescent band around 710—715nm became remarkable. The un-located fluorescence emission in two species siphonous chloroplasts was originated from CCI. The presence of LHCI made the CCI fluorescence band half-hidden. Further, the differences of LHCI peptides and fluorescence characteristics were the main structural reason that caused the difference of fluorescence in siphonous green algae.

Key words Siphonales, PSI, CCI, LHCI, Long-wavelength fluorescence, Green algae, Spinach

欢迎订阅 2002 年《中国水产科学》

《中国水产科学》是中国水产科学研究院主办的国家级学术期刊, 目前已被联合国《水科学与渔业文摘》(ASFA)、美国《化学文摘》(CA)、《海洋文摘》(OA)、《动物学记录》(ZR)、我国《中国水产文摘》等多家检索系统和专业数据库收录。本刊主要刊载水产资源、海淡水捕捞、水产养殖与增殖、水产品保鲜与加工综合利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器及渔业基础科学和应用基础研究及开发应用研究的学术论文、研究简报、综述和学术动态等文稿。

本刊是季刊, 大 16 开, 每期 96 页, 季末出版, 国内外公开发行。国内定价 14 元/期, 全年 56 元/期(含邮费)。本刊邮发代号: 18—250, 国内统一刊号: CN11—3446/S, 国际标准刊号: ISSN1005—8737, 国外发行代号 4639Q。全国各地邮局办理订阅手续(可破季订阅)。漏订或补订当年和过期刊, 请直接向编辑部订阅, 地址: 北京市丰台区青塔村 150 号, 邮政编码: 100039, 联系电话: (010) 68673921; E-mail: jfishok@publica.bj.cninfo.net。