

文章编号: 0529-6579 (1999) 04-0020-04

红藻藻胆体内部蛋白间的能量传递研究^{*}

III 人工合成复合物 R-PC/APC 内的能量传递

赵福利¹, 赵继全², 郑锡光¹, 何拥军¹, 汪河洲¹

(1. 中山大学超快速激光光谱学国家重点实验室, 广州 510275

2. 河北工业大学化工学院, 天津 300130)

摘 要: 研究了人工合成的二元藻胆体模拟复合物 (R-PC/APC) 的时间分辨荧光光谱并运用多指数拟合的方法对数据进行了详细的处理和分析, 研究结果证实了能量在 R-PC 和 APC 之间的传递时间与能量从 R-PE 传递到 R-PC 的时间几乎相等 (50 ps); 除此之外, R-PC 到 APC 没有其它能量传递的通道. 结果为能量可以从 R-PE 直接传递到 APC 同时也可以经过 R-PC 传递到 APC, R-PC 作为能量传递的中间受体, 在实际的体系中其作用是通过竞争的机制实现的.

关键词: 能量传递; 时间分辨激光光谱; 二元复合物; 藻胆体; 藻胆蛋白

中图分类号: O 434.54; Q 945.11 **文献标识码:** A

自 1978 年 Porter 等^[1] 采用皮秒时间分辨荧光光谱技术研究藻类光合作用原初过程能量传递至今已经积累了丰富的数据, 然而仅靠实时探测天然分离复合物的时间曲线的衰减成分确定能量传递的途径和机理是不充分的. 具有捕光功能的器官——藻胆体的天然结构是由若干条杆状的天线连接在一个核状的结构组成, 而每条杆状天线则由几种含有藻胆蛋白的盘状结构按照顺序近似同心相叠而成. 每条杆内依次排列的藻胆蛋白的次序通常是藻红蛋白、藻蓝蛋白. 核状结构是由 3 条轴心平行的圆柱组成, 每条圆柱是由 4 个由别藻蓝蛋白三聚体盘状结构近似同心叠合而成. 由于分离的天然藻胆体的不稳定性和结构的复杂性, 在人工分离的过程中, 一般只能够分离出: 杆核复合物、几种纯化的藻胆蛋白, 而难以分离出具有特定结构和组成成分的藻胆体组成部分, 例如只含有藻红蛋白和别藻蓝蛋白的复合物等. 因此, 以往的工作多是探测一种蛋白内部的能量传递过程或者整个藻胆体的内部能量传递过程, 而对于不同蛋白之间的能量传递的直接研究结果偏少.

我们利用化学键连的方法合成了比较稳定的重组藻胆体模型复合物及其组成部件复合物. 继人工合成复合物 R-PE/R-PC 和复合物 R-PE/APC 以及复合物 R-PE/R-PC/APC 研究^[2,3] 之后, 本文研究了复合物 R-PC/APC 的能量传递过程和能量传递途径, 研究结果与文 [2, 3] 相吻合, 即 R-PC/APC 复合物内部只有一条能量传递途径.

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金 (29703010) 资助项目; 广东省自然科学基金资助项目

收稿日期: 1998-07-03 作者简介: 赵福利, 女, 1969 年生, 博士.

1 结果与讨论

材料与方法同文献 [2 , 3] . 图 1 是复合物 R-PC/APC 的荧光强度-时间-波长关系, 其中相邻的 2 条曲线的时间差为 $\Delta t=30\text{ ps}$, 由图 1 中可见, 在 660 nm 的荧光有明显的上升过程, 上升时间大约为 45 ps. 在对应于 R-PC 的特征发射波长 620 nm 处的荧光则没有显著的荧光辐射, 而且在整个探测时间范围内呈现相当小的强度, 原因可能是由于 F_{620} 是 F_{680} 的给体, 复合物内部能量传递效率较高, 使得能量可以顺利快速、高效地从给体传递到受体时, 导致给体处泄露的荧光份额很少; 或者给体的荧光中, 短寿命所占的份额较大, 在很短的时间内就衰减到很小. 表 1 列出了复合物 R-PC/APC 的瞬态荧光衰减曲线的解叠结果, 其的瞬态荧光全局解叠结果的幅值-衰减组分相关谱已经列于图 2 中. 从图 2 可以看出: 对于 F_{620} 和 F_{660} 都有一个短寿命, 时间为 $(55\pm5)\text{ ps}$, 该组分在蓝端属于 620 nm 波长处的幅值为 68.38, 是一个纯粹的荧光发射过程, 而在红端位于 660 nm 处, 该组分的幅值为-34.32, 显示能量受体的行为; 由此, 可以判断在 R-PC 和 APC 之间有一条能量传递的途径, 通过这条途径, 能量以 $(50\pm5)\text{ ps}$ 的时间传递, 整个过程中 R-PC 是能量的给体, APC 是能量受体, 由于在本复合物中 APC 不再有下一级的能量受体, 因此成为本复合物的荧光发射终端. 在图 2 中的另外 2 组分分别为 $(115\pm5)\text{ ps}$ 和 $(350\pm50)\text{ ps}$ 的过程, 但是有 DAS 关系中都呈现单纯的上升过程, 即显示荧光发射行为, 而且最大值都在长波长 660 nm 处, 这样的过程可对应于 R-PC 和 APC 内部的能量发射, 而不是 R-PC/APC 之间的能量传递.

在复合物 R-PE/R-PC/APC 的能量传递途径研究中也已经得出, 能量不会在 R-PC 和 APC 之间以速率 $(120\pm10)\text{ ps}^{-1}$ 进行能量传递, 这与本文的解叠结果是吻合的. 在复合物 R-PE/APC 解叠结果显示能量在之间以此 $(120\pm10)\text{ ps}^{-1}$ 的速率进行传递. 这再次证实了在藻胆体的杆-核复合物中, 能量传递的途径可以是并行的.

表 1 各种复合物的动力学荧光光谱解叠结果

Tab 1 The deconcolutions for the dynamic fluorescence of various complexes at different detected wavelengths										
复合物	激发波长 nm	探测波长 nm	τ_1 ps	含量 1	τ_2 ps	含量 2	τ_3 ps	含量 3	τ_4 ps	含量 4
R-PE/ R-PC/ APC	532	580	56.27	18.94	110.31	56.40	312.89	24.67	—	—
		640	51.36	-29.69	111.53	42.61	461.44	57.39	—	—
		660	53.64	-52.84	111.23	-17.80	410.80	-9.46	731.64	100.00
	570	640 *	52.84	5.82	106.92	41.00	—	—	652.36	53.18
		660 *	51.58	-7.87	121.42	6.59	—	—	761.02	93.41
R-PE/ R-PC	532	580	51.36	13.96	111.55	20.94	335.04	65.10	*	*
		640	58.94	-35.42	118.75	6.78	395.79	4.60	723.79	88.62
		595	55.44	-5.83	102.60	30.73	432.32	69.27	*	*
		610	55.96	-28.82	99.57	50.85	458.26	49.15	*	*
		580	51.96	18.72	135.64	53.68	436.91	27.60	*	*
R-PE/ APC	532	660	57.48	-46.40	120.79	-27.34	366.70	-13.26	821.58	100.00
		620	53.90	68.38	113.46	16.97	342.73	14.65	*	*
R-PC/ APC	580	660	53.97	-34.32	111.57	63.56	400.94	36.44	*	*

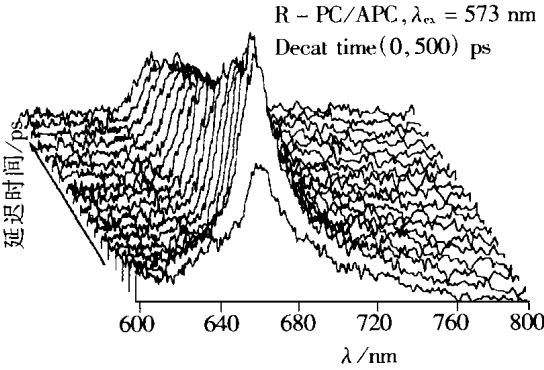


图 1 R-PC/APC 的荧光时间-强度-波长关系
Fig. 1 The time-intensity-wavelength relationship of the fluorescence of complex R-PC/APC

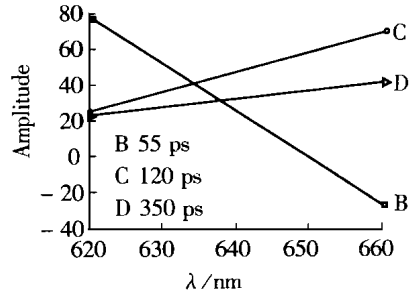


图 2 R-PC/APC 的动力学荧光解叠幅值-组分关系
Fig. 2 The relationship of the fluorescence of complex R-PC/APC

其次，本实验采用 580 nm 的超短脉冲激发复合物 R-PC/APC，其波长与 R-PE 的特征发射峰一致，但是并没有发现 APC 或者 R-PC 的具有 120 ps 的能量捕获行为，从而说明能量受体的吸收激发光的行为非常快，能量传递过程的时间相对较慢，原因是能量传递的组分及其效率是体系的综合结果。在本实验中激发光在激发 R-PC 的同时也激发了复合物中的 APC，导致 2 种蛋白内部的能量传递传输过程，其中 120 ps 的组分就应该是能量在蛋白内部的经过传输后的发射行为。

Beck 等^[4,5]认为：在藻胆蛋白的能量传递过程中存在飞秒时域内的相干过程。其主要存在于空间距离很近的色团以及具有较高空间对称性色团之间。根据晶体结构和光谱数据，赵福利等^[6]对其中一种 APC 三聚体内部的色团相互作用进行了详细的分析和计算，得出在蛋白聚集体内确实存在激子耦合体。在激发光激发蛋白中的敏化发色团之后，在飞秒时域内，紧邻的色团耦合成为激子耦合体，激发能在激子耦合体内部振荡，由于激子耦合体受到蛋白质架构的作用以及与周边热库的相互作用，使得激发能在激子耦合体内部的振荡受到阻尼，能量最终定域在最低激子态上，在空间则定域于低能态的色团上。能量定域的过程在飞秒时域内已经能够完成。在此之后的能量传递过程，仍然遵循 Foster 的偶极-偶极相互作用能量传递机制。

2 结 论

本文通过对藻胆体内部复合物 R-PC/APC 的瞬态荧光光谱的研究，应用多指数拟合的方法对瞬态荧光的寿命组分进行了详细的分析和讨论，研究结果证实了能量在 R-PC 和 APC 之间的传递时间与能量从 R-PE 传递到 R-PC 的时间几乎相等（50 ps）；除此之外，R-PC 到 APC 没有其它能量传递的通道。与文 [2, 3] 的结果符合：能量可以从 R-PE 直接传递到 APC 同时也可以经过 R-PC 传递到 APC，R-PC 作为能量传递的中间受体，在实际的体系中其作用是通过竞争的机制实现的。

参考文献:

- [1] PORTER G, TREDWELL C J, SEARLE G F W, et al Picosecond time-resolved energy transfer in Porphyrinium cation I [J]. *Biomchim Biophys Acta*, 1978, 510: 232~245.
- [2] 赵福利, 赵继全, 张景民, 等. 红藻藻胆体内部蛋白间的能量传递研究 I [J]. *中山大学学报 (自然科学版)*, 1998, 37 (6): 62~66.
- [3] 赵福利, 赵继全, 张景民, 等. 红藻藻胆体内部蛋白间的能量传递研究 II [J]. *中山大学学报 (自然科学版)*, 1998, 38 (2): 28~32.
- [4] EDINGTON M D, RITER R E, BECK W F. Evidence for coherent energy transfer in allophycocyanin trimer [J]. *J Phys Chem*, 1995, 99: 15699~15704.
- [5] EDINGTON M D, RITER R E, BECK W F. Interexciton-state relaxation and exciton localization in APC trimer [J]. *J Phys Chem*, 1996, 100: 14260~14267.
- [6] 赵福利, 郑锡光, 汪河洲, 等. 别藻蓝蛋白聚集体中的色素耦合模型研究 [J]. *科学通报*, 1998, 43 (11): 1166~1170.

Energy Transfer among Proteins in the Phycobilisome of Red Algae

III. Energy transfer in Synthesized Complex of R-PC/ APC

ZHAO Fu-li^{*}, ZHAO Ji-quan, ZHENG Xi-guang, HE Yong-jun, WANG He-zhou

Abstract: Time-resolved fluorescence spectra of artificial synthesized functioning complex of R-PC/ APC has been studied by multi-exponential deconvolution technique in detail. The results show that the energy transfer time between neighboring proteins is 50 ps, and improve that there is path for energy transfer from R-PE to APC with time constant of 110 ps and this path does not exists between R-PC and APC.

Keywords: phycobilisome; time-resolved laser spectroscopy; energy transfer; synthesis; phycobiliprotein

^{*} State Key Laboratory of Ultrafast Laser Spectroscopy, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China