

管藻目绿藻刺松藻 (*Codium fragile*) PSI 色素蛋白复合物结构及多肽组成*

陈敏¹ 李爱芬¹ 周百成²

(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)

摘要 采用温和的聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 法,从管藻目绿藻刺松藻中分离到不同解离程度的光系统 I (PSI) 复合物,以及核心复合物 CCI、捕光复合物 LHCI 和 LHCI 的亚组分,并就其多肽组成及相互关系做了研究。纯化的 CCI 复合物只含有 66 和 56 kDa 多肽,荧光发射主峰在 714 ~ 715 nm; LHCI 的 77 K 荧光峰在 683 ~ 684 nm,没有高等植物 730 nm 特征荧光,含有 PSI 复合物中的全部 4 种 24.7 ~ 27.5 kDa 多肽。将中心复合物 CPI 再电泳,得到了只含有 24.5 和 27.2 kDa 多肽的 LHCI 亚组分。从而证实刺松藻 LHCI 也可分裂为含有光合色素的两个部分,它们与 CCI 结合的紧密程度不同。

关键词 PSI, LHCI, CCI, 低温荧光, 多肽排布, 刺松藻

色素蛋白复合物在光合作用中担负着吸收、传递和转化光能的任务,了解它们的组成以及在类囊体膜上的排布规律,是光合作用机理研究的重要内容之一。目前对高等植物的 PSI 的结构已经有了较多的了解,并根据各组分的多肽组成和能量传递关系建立了多种可能的色素蛋白复合物结构模型。但是研究发现,管藻目绿藻等一些海洋藻类的 PSI 在结构及能量传递方式上都与高等植物不同,具有特异性^[1]。由于管藻目绿藻是兼有绿色植物和杂色植物特征的一类特殊藻类,因此,深入研究其特异性,对于探讨光合生物光系统的结构、功能及进化都将具有重要意义。但目前对管藻目绿藻类 PSI,尤其是对 LHCI 的内部结构所知较少。为此,作者以管藻目绿藻刺松藻为材料,对其 PSI 复合物及各组成部分的结构及多肽关系做了分析和研究。

1 材料与方法

1.1 类囊体膜的制备

刺松藻 (*Codium fragile*) 采自青岛汇泉湾。依照 Anderson 1983 年方法制备类囊体膜。

1.2 色素蛋白复合物分离

类囊体膜的增溶和电泳分离参照李桐柱 1995 年方法稍加改变。用 2.0% DMG 或 0.75% SDS 增

溶。分离胶浓度为 10%。电泳后的凝胶管立即拍照或在 C-910 薄层扫描仪上进行扫描。

1.3 叶绿素浓度及 Chl a/b 比值的测定

电泳后的凝胶片经研磨后加入 80% 丙酮,密闭抽提 2 h,将抽提物 3 000 r/min 离心 10 min,上清液依 Arnon 1949 年方法与类囊体膜同样测定叶绿素浓度及 Chl a/b 比值。

1.4 室温吸收光谱及 77 K 荧光光谱测定

将含有复合物的凝胶片切下,采用 UV-3000 双波长双光束分光光度计测定吸收光谱或直接插入低温管中,采用 F-4500 荧光分光光度计测定并记录 77 K 荧光光谱。

1.5 多肽组成分析

复合物条带在 5% 堆积胶中进行再电泳,以除

* 本工作是在中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室和中国科学院植物研究所光合作用研究中心完成,并得到曾呈奎院士、匡廷云院士和李良璧教授的具体指导;张群和冯丽洁在实验结果测定方面给予了热情帮助,在此深表感谢。

第一作者:陈敏,出生于 1966 年,博士,副教授。E-mail: chenmclm@163.net

收稿日期:2000-11-13;修回日期:2001-03-29

去可能存在的杂质,并使各条带叶绿素含量浓缩至约 2~5 μg。于样品处理液中煮沸 10 min,依 Laemmli 1970 年方法进行多肽分析。

2 实验结果

2.1 PSI 复合物 核心复合物 CCI 及 LHCI 分离

采用 SDS 或 DMG 增溶,均可从刺松藻类囊体膜上分离到 10 种色素蛋白复合物(图 1),其中绿色的 CPI 为 PSI 的中心复合物,3 条黄褐色的 CPIa 复合

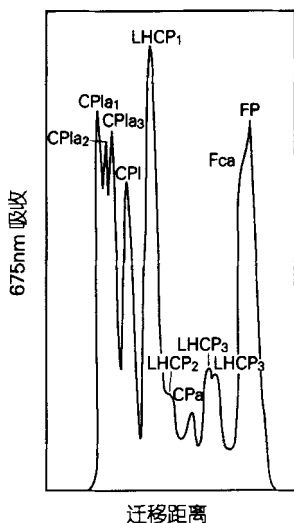


图 1 刺松藻色素蛋白复合物的 PAGE 分离

Fig.1 Pigment-protein complexes of *C. fragile* isolated by PAGE

物由 CCI 及 LHCI 构成。CPa 和 LHCP_{1,2,3,3'}及 Fca 分别为 PSII 的中心复合物和捕光复合物。

将 CPI 进行再电泳,得到不含 LHCI 的鲜绿色的 PSI 核心复合物 CCI(CPI-1)(图 2)。将分子量最

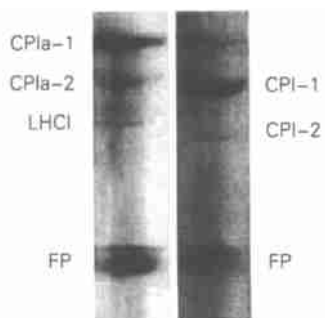


图 2 刺松藻 CPIa₁ (DMG 增溶)和 CPI 复合物(SDS 增溶)的 PAGE 再分离

Fig.2 Further fractionation of CPIa₁ (resolved by DMG) and CPI (resolved by SDS) complexes of *C. fragile* by PAGE

大的 PSI 复合物 CPIa₁ 再电泳,得到黄褐色的 PSI 捕光复合物 LHCI(图 2)。

2.2 室温吸收光谱及 77 K 荧光光谱

经 SDS 增溶得到的 4 种刺松藻 PSI 复合物的吸收及荧光光谱特性,在前文中已有报道^[1]。DMG 增溶的结果与其相似,只是 CPI 和纯化的 CCI 都只有 Chl a 的吸收(图 3),表明已去除了 LHCI。CCI 的吸收峰在 434~436 nm 和 676~677 nm,与再分离之前的 CPI 及类囊体膜相比基本没有变化,说明再分离过程并未影响 CCI 中 Chl a 与蛋白质的结合状态。

LHCI 中 Chl a 的吸收峰在 435 和 671 nm(图 3),Chl b 在 473 和 655 nm,此外在 540 nm 附近还有管藻黄素和管藻素的吸收肩峰,说明该复合物是管藻黄素-Chl a/b 蛋白复合物。

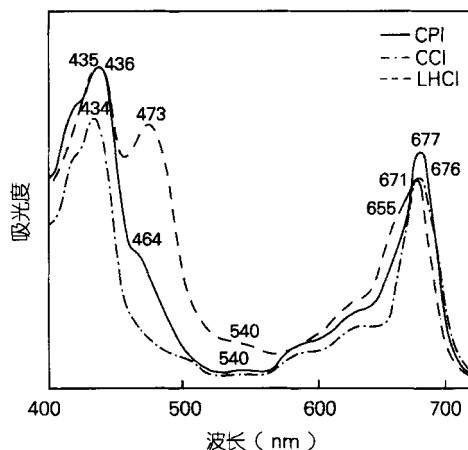


图 3 SDS 增溶的刺松藻 CPI 和再电泳得到的 CCI 及 LHCI 复合物吸收光谱

Fig.3 Absorption spectra of CPI complex of *C. fragile* resolved by SDS,CCI and LHCI complex isolated by further PAGE

刺松藻 CCI 的荧光发射主峰在 714~715 nm。而 LHCI 在激发波长为 436,475 或 540 nm 时都发射 683~684 nm 荧光(图 4)。表明分离物中各种色素之间保持着良好的能量传递关系,管藻黄素和 Chl b 都可将激发能传递给 Chl a。

2.3 多肽组成及其排布

刺松藻的 CPIa₁₋₃复合物主要含有 66.4, 56 以及 28,26.2,26 和 24.7 kDa 6 种多肽(图 5)。纯化的 CCI 和 DMG 增溶的 CPI 都只含有 66 和 56 kDa 多肽,显然两者是 PSI 的核心多肽;而 LHCI 则含有 CPIa 复合物的全部 4 种小分子量多肽。值得注意的是,经 SDS 增溶的刺松藻的 CPI 多肽图谱中,较 CPIa 复合

物明显缺少了 LHCI 的两个 26 kDa 多肽(图 5)。说明该复合物是由 CCI 和含有 28 和 24.7 kDa 两种多肽的 LHCI 亚组分构成的。这样的复合物在以往的文献中从未有报道。

2.4 LHCI 亚组分分离及特性

作者将 SDS 增溶的刺松藻的 CPI 进行再电泳,在鲜绿色的 CPI-1(CCI)和游离色素之间还得到一条浅黄褐色的 LHCI 亚复合物条带 CPI-2(图 2),该条带只含有 27.6 和 25 kDa 两种多肽(图 5),吸收光谱中除了 435 和 669 nm 处 Chl a 的吸收之外,在 464 和 540 nm 处还可看到少量 Chl b 及管藻黄素和管藻素的峰,说明 27.6 和 25 kDa 两种多肽也应是特异的管藻黄素-Chl a/b 蛋白复合物。在 436 nm 激发波长

下, LHCI 亚复合物的荧光发射峰为 677 nm。以 475 nm 光激发,有 645 和 676 nm 两个荧光峰,说明色素与蛋白的结合状态以及 Chl b 和 Chl a 之间的能量传递已受到影响(结果未显示)。

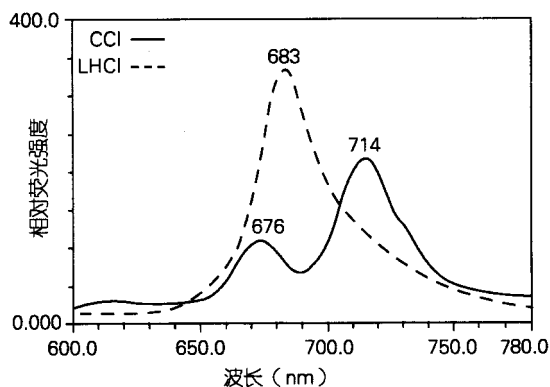


图 4 刺松藻 CCI 和 LHCI 荧光发射光谱
Fig. 4 Fluorescence emission spectra of CCI and LHCL complex of *C. fragile*

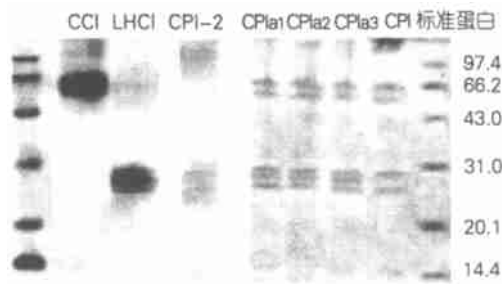


图 5 SDS 增溶的刺松藻 CPIa, CPI 复合物及 CCI, LHCI 和 LHCI 亚组分多肽分析

Fig. 5 Peptide analysis of CPIa, CPI complex of *C. fragile* resolved by SDS and subcomplexes CCI, LHCL and LHCL

3 讨论

根据上述研究结果,作者认为刺松藻的 PSI 至少含有 6 种带有色素的多肽,其可能的相互关系示意图如图 6。

管藻目绿藻的 PSI 核心复合物 CCI 与高等植物相似,都是由两个表现分子量约为 66 kDa 的多肽构成的 Chl a 蛋白复合物,只是荧光发射峰在 714 ~ 715 nm,而不是高等植物的 720 nm。电镜观测结果表明,高等植物 PSI 有 8 个 LHCI 多肽(LHCI-730 和 LHCI-680 各两个)环绕在 CCI 的外围。但是它们与 CCI 的结合关系至今仍有争论^[2]。而作者从刺松藻 PSI 复合物多肽的组成差异中可清楚地看到,管藻目绿藻 LHCI 可以分为两个部分,其中与 CCI 结合最紧密的是含有 28 和 25 kDa 多肽的亚组分;另外一部分含有两种 26 kDa 多肽,与 CCI 的结合相对松散。由 4 种多肽构成的 LHCI 是管藻黄素-Chl a/b 蛋白复合物,发射 683 ~ 684 nm 的荧光,而不是高等植物的 730 nm 荧光。

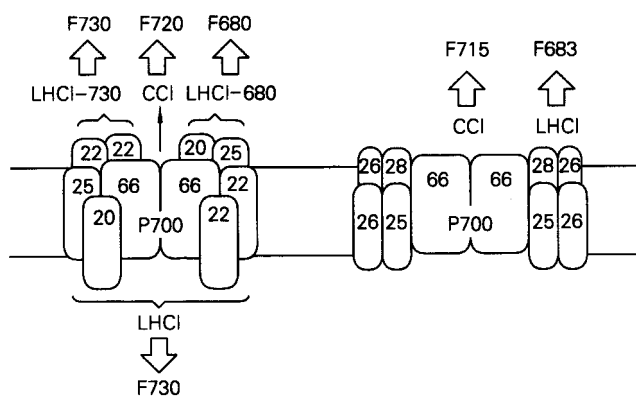


图 6 高等植物(左)及刺松藻(右)PSI 色素蛋白复合物结构示意图
Fig. 6 The sketch map of PSI pigment-protein complexes in higher plants (left) and *C. fragile* (right)

参考文献

- 1 陈敏,李爱芬,周百成.管藻目绿藻叶绿素蛋白复合物的光破坏进程,科学通报,2000,45(6) 612~617
特性及比较研究,植物学报,2000,42(10) 1019~1025
- 2 魏捷,余辉,李良璧等.菠菜 PSI 颗粒中色素和蛋白的光破坏进程,科学通报,2000,45(6) 612~617

STRUCTURE AND PEPTIDE COMPOSITION OF PSI PIGMENT-PROTEIN COMPLEXES OF SIPHOUNOUS GREEN ALGA, *Codium fragile*

CHEN Min¹ LI Ai-fen¹ ZHOU Bai-cheng²

(¹ Department of Biochemistry, Yantai University, 264005)

(² Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

Received: Nov.,13,2001

Key Words: PSI, LHCI, CCI, Low temperature fluorescence, Peptide arrangement, *Codium fragile*

Abstract

By mild PAGE method, PSI complexes in varying decomposition degrees, core complex CCI, light-harvesting complex LHCI and a LHCI subunit were resolved from a siphonous green alga, *Codium fragile*. The peptide composition and arrangement in these complexes were also investigated. Purified CCI complex contained only 66 and 56 kDa peptides, and its main fluorescence emission band at 77K was at 714~715 nm. LHCI contained all four peptides of 24.7~27.5 kDa presented in PSI complexes, and had a single fluorescence peak around 683~684 nm other than those at 730 nm in higher plants. When CPI was subjected to further PAGE, the LHCI subunit containing two 24.5 and 27.2 kDa peptides was isolated. It demonstrated that LHCI of *C. fragile* could be fractionated into two subunits containing photosynthetic pigments. The two subunits attached with CCI to a different extent.

(本文编辑:张培新)