

研究简报

华北半叶紫菜藻胆体的光谱特性和光能传递的研究*

路荣昭 刘斌 王淑芝

(中国科学院植物研究所, 北京)

红藻的光合器是由叶绿体和藻胆体组成的。藻胆体由多种藻胆蛋白和在结构上起连接作用的无色蛋白或多肽所组成。藻胆体与类囊体片层紧密结合,在单位类囊体的片层上藻胆体的数目因生物种类不同及其所处环境条件的不同而异;一般为 $400-1200$ 个/ μm^{-2} 。

藻胆体的功能是捕获光能并将光能传递给类囊体片层上叶绿素 a,以进行光合作用。

红藻藻胆体中藻胆蛋白之间光能传递顺序为: R-藻红蛋白→R-藻蓝蛋白→别藻蓝蛋白→别藻蓝蛋白-B。其光能传递效率很高,从 R-藻红蛋白传至藻蓝蛋白效率为 93%;从藻蓝蛋白传至别藻蓝蛋白为 98%;从别藻蓝蛋白传至别藻蓝蛋白-B 为 96%^[7]。

由于藻胆体是一种具有高效率传递光能的光能捕获器,使红藻和蓝藻能更充分,更有效地利用太阳能。因此对藻胆体的研究受到了重视。Gantt 等于 1972 年首先分离出完整的藻胆体^[2]。此后国际上对多种红藻和蓝藻的藻胆体进行分离和研究。我国对藻胆体的研究较晚,始于 1982 年^[1];到目前为止,仅有蓝藻藻胆体的研究报道。本文报道了我国华北半叶紫菜藻胆体的分离,光谱特性和光能传递的研究。

一、材料和方法

1. 藻胆体的分离

在青岛海滨采集华北半叶紫菜 (*Porphyra katadai* var. *hemiphylla*)。其藻胆体的分离根据 Gantt^[4], Nies 和 Wehrmeyer^[7,8] 和作者的方法^[1,5,6] 并加以修改。操作如下:取 10g 鲜重的华北半叶紫菜,加 15ml 0.9mol/L 磷酸二氢钠-磷酸氢二钾缓冲溶液, pH 7.0 (以下简称磷酸缓冲溶液)洗一次。离心收集藻体,加少量石英砂进行研磨,然后用 CPS-1 型超声波粉碎机破碎细胞 20min,在冰浴中(每次超声处理 2min,间歇 5min)。在已破碎的藻体悬浮液中加 1.7ml 20% Triton X-100,在室温下保温 20min,连续搅拌。离心, $30\ 000\times g$, 20°C , 30min。取出离心管中部红色溶液作为蔗糖密度梯度离心的样

* 国家自然科学基金资助项目。

中国科学院海洋研究所周百成和潘忠正两位同志指导采集生物实验材料;冯丽洁、张群和谭军协助技术工作,均此一并致谢。

收稿日期: 1988 年 4 月 22 日。

品。不同浓度的蔗糖溶液用 0.9mol/L 磷酸缓冲溶液配制。离心管中不连续的蔗糖密度梯度自下而上的组成为: 0.85mol/L (2ml), 0.7 mol/L (2ml), 0.55 mol/L (2ml), 0.4 mol/L (2ml) 和 0.25mol/L (2ml) 蔗糖溶液。在 0.25mol/L 蔗糖溶液上部加 1ml 样品。离心, 用日立 70P-72 型离心机, RPV-50T 离心头, $135\ 000\times g$, 室温, 5h。

2. 光谱测定

用岛津 UV-3000 型记录双波长双光束分光光度计测吸收光谱。用日立 MPF-4 型荧光分光光度计测液氮温度(-196℃)和室温荧光发射光谱和激发光谱。激发波长为 545 nm, 波长误差为 ± 1 nm。

试剂磷酸二氢钠, 磷酸氢二钾和蔗糖为国产分析纯试剂。Triton X-100 为 ROTH 特纯产品。

二、结果和讨论

1. 藻胆体的吸收光谱

华北半叶紫菜藻胆体的吸收光谱有 5 个吸收带, 它们分别位于 500, 550, 568, 620 和 650nm; 主吸收峰在 568nm, 见图 1。500, 550 和 568nm 吸收带属于 R-藻红蛋白吸收带, 620nm 吸收带属于 R-藻蓝蛋白, 650nm 吸收带属于别藻蓝蛋白。由于别藻蓝蛋白-B 含量少, 因此它的吸收峰没有表现出来。R-藻红蛋白具有 500, 550 和 568nm 三个吸收带, 这说明存在不同类型的生色团。根据该藻胆体的荧光发射光谱, 产生 500 和 550 nm 吸收带的生色团是敏化生色团, 产生 568nm 吸收带的是发荧光生色团。

2. 藻胆体的荧光发射光谱

(1) 室温荧光发射光谱 华北半叶紫菜藻胆体室温荧光光谱中有两个荧光峰, 位于 578 和 672nm, 见图 2。578nm 荧光峰由 R-藻红蛋白发射, 672nm 荧光峰由别藻蓝蛋白-B 发射。672nm 荧光与 578nm 荧光相对强度比值为 3.5。Красновский 等从紫球藻 (*Porphyridium cruentum*) 分离的藻胆体的室温荧光发射光谱中此两峰的比值小, 仅为 1.5^[9]。

本研究将华北半叶紫菜藻胆体在 15—20℃ 下存放一星期, 使其解离。在解离藻胆体的荧光发射光谱中, 两个荧光峰的波长位置没变, 仍然在 672 和 578nm; 但主峰已由 672 nm 位移至 578nm。672nm 荧光与 578nm 荧光相对强度比值急剧下降至 0.65。这是由于藻胆体解离后藻胆蛋白之间光能传递效率低, R-藻红蛋白所捕获的大部分光能不能传递下去, 这剩余的光能就以 R-藻红蛋白荧光发射出来, 因而 672nm 荧光下降, 578 nm 荧光上升。我们认为, 可以利用别藻蓝蛋白-B 荧光与 R-藻红蛋白荧光相对强度比值来鉴定华北半叶紫菜藻胆体的完整性与解离程度。

(2) 液氮温度荧光发射光谱 华北半叶紫菜藻胆体的液氮温度发射光谱中有三个峰, 位于 580, 632 和 684nm, 见图 3; 简称为 F580, F632 和 F684。它们分别属于 R-藻红蛋白, R-藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白-B 的荧光。在完整的藻胆体, F684 最强, F580 次之, F632 很弱; F684 与 F632 的比值为 24; F684 与 F580 的比值为 5.2。在解离藻胆体的荧光发射光谱中, F580 和 F632 显著增强; F684 与 F580 的比值下降为 1.2; F684 与 F632 的比值降至 6.0。这说明在解离的藻胆体中, 由于 R-藻红蛋白与 R-藻蓝蛋白之间

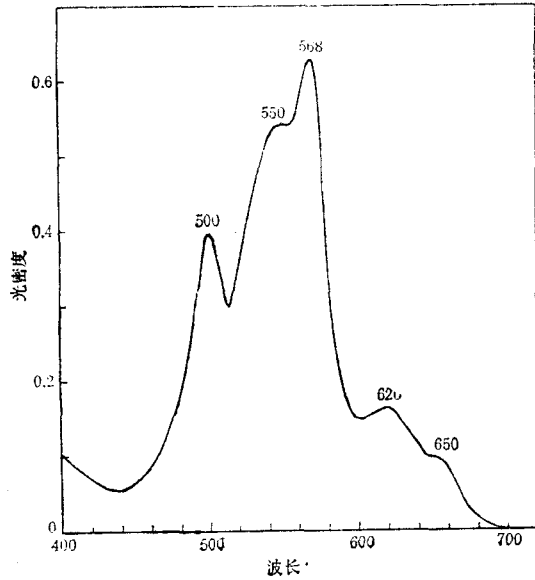


图 1 藻胆体的吸收光谱

Fig. 1 The absorption spectrum of phycobilisome

(波长单位为 nm, 图 2, 3, 4 同)

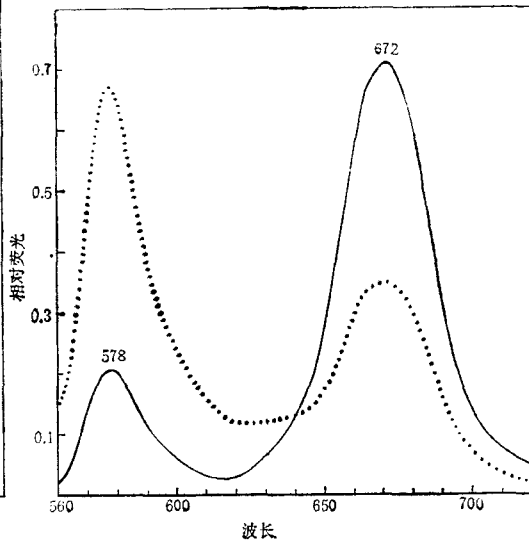


图 2 藻胆体的室温荧光发射光谱 ($\lambda_{ex} = 545\text{nm}$)

Fig. 2 The room temperature fluorescence emission spectrum of phycobilisome

——完整藻胆体;解离的藻胆体。图 3 同。

的连接、R-藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白之间的连接发生解离，R-藻红蛋白和 R-藻蓝蛋白所捕获的光能不能有效地传递下去，一部分光能就以 R-藻红蛋白和 R-藻蓝蛋白的荧光发

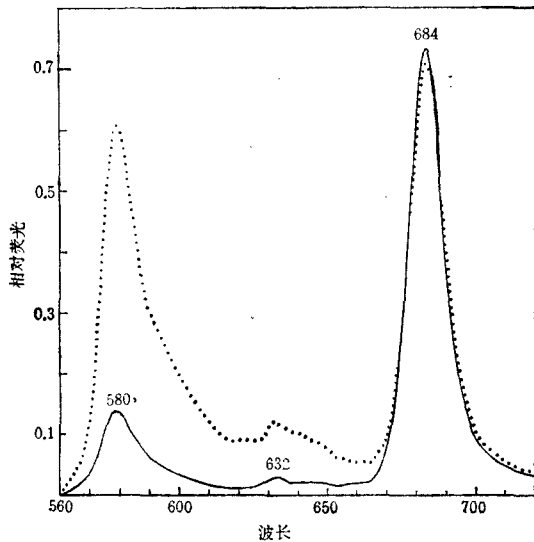


图 3 藻胆体的液氮温度荧光发射光谱 ($\lambda_{ex} = 545\text{nm}$)

Fig. 3 The liquid nitrogen temperature fluorescence emission spectrum of phycobilisome

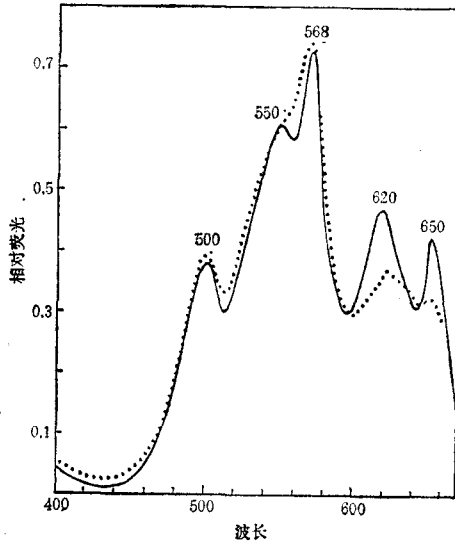


图 4 藻胆体的荧光激发光谱

Fig. 4 The fluorescence excitation spectrum of phycobilisome

——F684nm 液氮温度荧光激发光谱;
.....F672nm 室温荧光激发光谱。

射出来,因此 F580 和 F632 增强。

在未解离的华北半叶紫菜藻胆体的液氮温度荧光发射光谱中一直存在较强的 R-藻红蛋白荧光峰。而在蓝藻未解离的藻胆体的液氮温度荧光发射光谱中未观察到这种现象,除别藻蓝蛋白-B 荧光很强外,其它藻胆蛋白荧光都很弱。

我们认为,在华北半叶紫菜完整藻胆体的荧光发射光谱中,仍然有较强的 R-藻红蛋白的荧光是由于该藻含有大量的 R-藻红蛋白,这些 R-藻红蛋白所捕获的大量的光能因没有足够量的藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白去接受它,这些没有传递下去的光能就以 R-藻红蛋白荧光的形式发射出来。

3. 藻胆体的荧光激发光谱

在华北半叶紫菜藻胆体 672nm 室温荧光峰的激发光谱中有四个荧光峰; 它们位于 500, 568, 620 和 650nm。藻胆体的 684nm 液氮温度荧光峰的激发光谱中有五个峰,位于 500, 550, 568, 620 和 650nm (图 4) 这说明, R-藻红蛋白, R-藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白所吸收的光能能传递给别藻蓝蛋白-B, 从而激发它发射出 684nm 液氮温度荧光和 672nm 室温荧光。

参 考 文 献

- [1] 路荣昭、于延利, 1984. 多变鱼腥藻藻胆体的分离和荧光鉴定其完整性与解离程度. 水生生物学集刊 8: 427—434.
- [2] Gantt, E. and C. A. Lipschultz, 1972. Phycobilisomes of *Porphyridium cruentum* 1. Isolation. *J. Cell Biol.* 54: 313—324.
- [3] Gantt, E., C. A. Lipschultz, J. Grabowski and B. Z. Zimmerman, 1979. Phycobilisomes from blue-green and red algae. Isolation criteria and dissociation characteristics. *Plant Physiol.* 63: 615—620.
- [4] Gantt, E., 1981. Phycobilisomes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 32: 327—347.
- [5] Lu Rong-zhao and Yu Yan-li, 1984. Spectral changes in fluorescence of phycobilisomes in the course of dissociation. *Photosynthetica* 18: 179—183.
- [6] Lu Rong-zhao and Yu Yan-li, 1985. Effects of proteinase K on the energy transfer between phycobiliproteins in phycobilisomes. *Photosynth. Res.* 7: 91—96.
- [7] Nies, M. and W. Wehrmeyer, 1980. Isolation and biliprotein characterization of phycobilisomes from the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* Cohn. *Planta.* 150: 330—337.
- [8] Nies, M. and W. Wehrmeyer, 1981. Biliprotein assembly in the hemidiscoidal phycobilisomes of the thermophilic cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* Cohn. Characterization of dissociation products with special reference to the peripheral phycoerythrocyanin-phycoocyanin complexes. *Arch. Microbiol.* 129: 374—379.
- [9] Ерохина, Л. Г., Л. М. Шубин, А. А. Красновский, 1980. Исследование спектральных и фотохимических эффектов денатурации аллофикоцианина синезелённых водорослей. *Физиология Растений* 27:756—765.

**STUDIES ON THE SPECTRAL PROPERTIES AND ENERGY
TRANSFER OF PHYCOBILISOME FROM *PORPHYRA*
KATADAI VAR. *HEMIPHYLLA***

Lu Rongzhao Liu Bin and Wang Shuzhi

(*Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing*)

ABSTRACT

Absorption spectra, fluorescence emission spectra and excitation spectra of phycobilisome from *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* were studied. The five bands in absorption spectrum of phycobilisome were located at 500, 550, 568, 620 and 650 nm. The room temperature fluorescence emission maximum of intact phycobilisome was located at 672 nm; that of non-intact phycobilisome was at 578 nm. There were three bands in the liquid nitrogen temperature fluorescence emission spectrum of phycobilisome: F580, F632 and F684, characteristic of R-phycoerythrin, R-phycoerythrin and allophycocyanin-B respectively. The relative fluorescence intensity of F684 of intact phycobilisome was very high, and those of F580 and F632 were low. The relative fluorescence intensity of F684 in non-intact phycobilisome was decreased, and those of F580 and F632 were increased.

Our research results indicated that the energy migration from R-phycoerythrin and R-phycoerythrin to allophycocyanin-B in dissociated phycobilisome was inefficient; and showed that the fluorescence emission spectra can be used to identify the intactness and dissociation of phycobilisome.

The light energy transfer among phycobiliproteins in phycobilisome was discussed.