

·研究简报·

PS II 反应中心与捕光天线系统之间的能量传递研究*

¹ 陈耀东 ² 关义春 ¹ 侯建敏 ¹ 唐崇钦
² 王水才 ² 侯 洵 ¹ 匡廷云

¹(中国科学院植物研究所光合作用实验室, 北京 100093)

²(中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学技术国家重点实验室, 西安 710068)

关键词 光系统 II, 捕光天线, 能量传递, 时间分辨吸收光谱

STUDY ON THE ENERGY TRANSFER PROCESS BETWEEN THE PHOTOSYSTEM II REACTION CENTER AND LIGHT-HARVESTING SYSTEM

¹Chen Yao-dong, ²Guan Yi-chun, ¹Hou Jian-min, ¹Tang Cong-qing, ²Wang Shui-cai,
²Hou Xun and ¹Kuang Ting-yun

¹(Laboratory of Photosynthesis, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

²(State Key Laboratory of Trivalent Optics Technology, Xian Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068)

Abstract The primary reaction kinetics of the photosystem II particles isolated from spinach (*Spinacia oleracea* Mill.) have been studied using the subpicosecond transient absorption technique. Three lifetime components, (0.76 ± 0.50) ps, (8.70 ± 2.00) ps and (138.00 ± 20.00) ps, were obtained by the multi-exponential curval fitting. When the samples were exposed to strong light for one hour, only one component, 133 ps, was found. It was proposed that the 760 fs component was most probably attributed to the energy transfer from light-harvesting system to the reaction center.

Key words Photosystem II, Light-harvesting system, Energy transfer, Time-resolved absorption spectroscopy

光合作用的核心问题之一是光合作用的原初反应,即光能的高效吸收、转化和传递的机理。由于PS II 与水裂解、氧释放密切相关,因此,PS II 反应中心原初反应和能量传递的机理研究具有重要的理论意义。最近,PS II 捕光天线复合物^[1]以及细菌外周天线复合物^[2]的三维空间结构被揭示,反应中心及捕光天线的能量传递规律日益成为新的研究热点之一。近年来,国际上许多实验室采用时间分辨荧光光谱和吸收光谱等技术,利用不同层次的样品,对PS II 的原初反应包括能量传递过程的动力学性质进行了研究^[3-6]。但是,不同实验室得到的动力学数据以及对实验数据的解释都存在较大差异。我们实验

收稿日期:1996-07-17 接受日期:1996-10-07

* 国家“攀登计划”重大基金项目;中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学技术国家重点实验室基金资助项目。

室曾以菠菜叶绿体中提取的 PS II 颗粒及核心复合物为材料,对其进行了亚皮秒时间分辨荧光光谱及差异吸收光谱技术研究^[7],结果得到一个 800 fs 左右的组分与 PS II 的天线系统有关,但是有关这一组分是来源于天线内部能量传递,还是天线系统与反应中心之间的能量传递尚不能确定。本文针对这一问题采用飞秒激光技术,改进了原装置的光路及测量系统,以从菠菜叶绿体中提取纯化的 PS II 颗粒为材料,对 PS II 原初反应的超快动力学特性进行了研究,结果表明,760 fs 左右的组分很可能属于天线色素分子向反应中心的能量传递过程。

1 材料和方法

1.1 样品的制备

PS II 颗粒的分离纯化,参看 Kuwabara 和 Murata^[8]的方法,样品溶液保存于 30 mmol/L NaCl、50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.2)、2 mmol/L Triton X-100 的缓冲溶液中,存贮于液氮中备用。实验时,将样品稀释至 50 mg/L,放入 1 mm 厚的循环样品池中。实验中采用室温。

1.2 亚皮秒时间分辨差异吸收光谱测量方法

亚皮秒时间分辨差异吸收光谱测量系统在原有基础上进行了改进^[7]。光源为美国 Spectra-Physics 公司生产的 TSUNAMI 飞秒掺钛蓝宝石激光器,由 Ar⁺ 激光器泵浦,可以得到脉冲频率 82 MHz、脉冲宽度小于 100 fs 的光脉冲。以输出的飞秒光脉冲经倍频器后产生的倍频光(400 nm)作为激发光,以残留基频光(800 nm)作为探测光。激发光功率约 60 mW。经过时间延迟系统后,倍频光与基频光以共线方式共同聚焦于样品上,透过样品的光线通过棱镜分光,采用锁相放大器测量探测光变化。实验中通过在光路中加入一个斩波器来降低噪声,提高信噪比。斩波器频率选用 400 Hz。时间延迟系统通过一个由步进电机带动的已严格校正的精密微平移台来实现,其延时精度最小可达 67 fs。整个实验过程用计算机控制。

2 结果和讨论

图 1 为采用 400 nm 激发,800 nm 探测所得的亚皮秒时间分辨吸收光谱图,其中虚线为测量所得曲线,实线为拟合后所得曲线。通过最小二乘法拟合,可以得到 3 个寿命组分,其寿命值和相对强度列于表 1。用强光照射约 1 h 后,测量所得结果示于图 2,这时只拟合出 133 ps 的组分(表 1)。

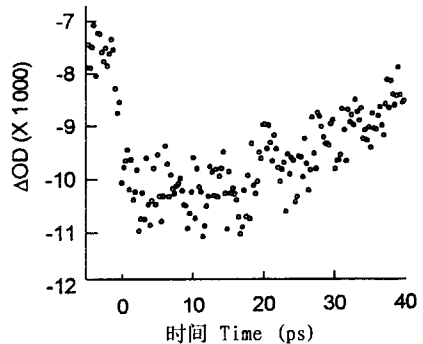
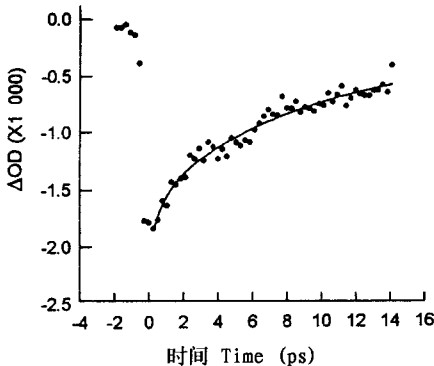


图 1 PS II 颗粒的亚皮秒瞬态吸收动力学曲线
激发波长 400 nm, 探测波长 800 nm。其中实线为拟合
后所得的曲线。

Fig.1 Kinetics of the subpicosecond transient
difference absorption of PS II particles
Excitation at 400 nm, probing at 800 nm. The solid
line is fitted functions.

图 2 强光照射约 1 h 后的瞬态吸收动力学曲线
Fig.2 Kinetics of different transient absorption of
PS II particles after strong light treatment for 1 h

PS II 颗粒包括两部分,即捕光天线复合物(LHC II)和 PS II 反应中心复合物,在捕光天线内部、反应中心内部以及天线系统与反应中心之间均存在能量传递过程。研究表明,捕光天线复合物内部的能量

表 1 光破坏前后 PS II 颗粒的亚皮秒吸收动力学测量结果

Table 1 Analytical results obtained from subpicosecond absorption measurement of PS II particles before and after light inhibition

测量条件 Measurement condition	组分 Component	寿命 Lifetime (ps)	相对强度 Relative amplitude (%)
对照 Control	τ 1	0.76 ± 0.50	21.9
	τ 2	8.70 ± 2.00	59.0
	τ 3	138.00 ± 20.00	19.1
光照破坏 Light inhibition		133.00 ± 20.00	100

文 800 fs 左右的结果相吻合,当光照破坏 PS II 反应中心以后,该组分消失(表 1),说明 760 fs 的组分不仅与 LHC II 有关,也与 PS II 反应中心有关,因此,我们认为 760 fs 左右的组分应属于 LHC II 与反应中心之间的能量传递过程。

表 1 中除 760 fs 左右的衰减组分以外,还观察到强度最大的组分为 8.7 ps 左右,其相对强度为 59.0%,该组分在 PS II 反应中心被光破坏后也消失,说明它与 PS II 反应中心的原初反应有关。由于 PS II 颗粒复合物成分复杂,推测它与 PS II 反应中心的电荷分离和反应中心内部的能量传递有关,很可能是多个过程的平均寿命。文献中曾报道 PS II 反应中心电荷分离时间常数为 3~21 ps^[3-6,9],反应中心内部的能量传递时间常数为 10~50 ps^[5],这些与我们的实验结果是相一致的。由于本文实验测量的时间范围为 0~20 ps,表 1 中 130~138 ps 的组分,已大大超出了时间测量范围,可以认为它近似属于更长的长寿命组分,推测它可能属于与反应中心无关的长寿命的复杂的驰豫过程。

综上所述,我们采用亚皮秒时间分辨吸收光谱技术,以分离的 PS II 颗粒复合物为材料,研究 PS 原初反应动力学特性,结果分辨出 3 个衰减组分,其中 760 fs 左右的组分很可能属于 LHC II 与反应中心之间的能量传递过程。更深入的研究工作正在进行中。

参 考 文 献

- Kuhlbrandt W, Wang D N, Fujiyoshi Y. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature*, 1994. **367**:614~621
- McDermott G, Prince S M, Freer A A *et al.* Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria. *Nature*, 1995. **374**:517~521
- Wasielewski M R, Johnson D G, Seibert M *et al.* Determination of the primary charge separation rate in isolated photosystem II reaction centers with 500 fs time resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989. **86**:524~528
- Hastings G, Durrant J R, Barber J *et al.* Observation of pheophytin reduction in photosystem two reaction centers using femtosecond transient absorption spectroscopy. *Biochemistry*, 1992. **31**:7638~7644
- Schatz G H, Brock H, Holzwarth A R. Kinetic and energetic model for the primary processes in photosystem II. *Biophys J*, 1988. **54**:397~405
- Schelvis J P M, van Noort P I, Aartsma T J *et al.* Energy transfer, charge separation and pigment arrangement in the reaction center of photosystem II. *Biochim Biophys Acta*, 1994. **1184**:242~250
- Hou Jian-min, Kuang Ting-yun, Yu Zhen-bao *et al.* Dynamic studies on the primary photochemical reaction in the isolated photosystem II reaction center by time-resolved absorption and fluorescence spectroscopy. In: Mathis P ed., *Photosynthesis: From Light to Biosphere Vol. I*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995. 523~526
- Kuwabara T, Murata N. Inactivation of photosynthetic oxygen evolution and concomitant release of three polypeptides in the photosystem II particles. *Plant Cell Physiol*, 1982. **23**:533~539
- van Grondelle R, Dekker J P, Gillbro T *et al.* Energy transfer and trapping in photosynthesis. *Biochim Biophys Acta*, 1994. **1187**:1~65
- Durrant J R, Hasting G, Joseph D M *et al.* Subpicosecond equilibration of excitation energy in isolated photosystem II reaction centers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992. **89**:11632~11636

传递时间常数通常在亚皮秒的数量级^[3,9,10]。我们曾对 PS II 颗粒进行了时间分辨荧光光谱等研究^[7],也得到过一个约 800 fs 的组分,当去除 LHC II 复合物,仅含有 PS II 核心复合物时,发现 800 fs 左右的组分消失,因而我们推测 800 fs 左右的组分可能与 LHC II 的能量传递过程有关。但是,这一组分是来源于 LHC II 内部的能量传递,还是属于 LHC II 与反应中心之间的能量传递尚无法确定。本文表 1 所列,在对 PS II 颗粒进行亚皮秒瞬态吸收光谱测量所分辨的 3 个动力学衰减组分中,也分辨出 1 个 760 fs 左右的组分,其相对强度为 21.9%,与前