光合作用研究进展

第二集

中国科学院植物生理研究所
植物研究所 主编



需要全本请访问 www.ertongbook.com

光合作用研究进展

（第二集）

中国科学院植物生理研究所
中国科学院植物研究所 主编

科学出版社
1980

内 容 简 介

本书是1977年12月中国科学院召开的全国光合作用座谈会的综合性报告的汇编。书中主要介绍了目前光合作用研究的现状，如色素化学和原初反应；电子传递与磷酸化；膜结构与功能；碳同化；生物固氮和放氢作用，还有叶绿素遗传和光合作用的演化等。此外还收集了几篇专门综述群体光能利用和高光效育种以及人工模拟光合反应与二氧化碳固定的文章。书中最后论述了量子生物化学以及提出对光合作用研究的建议。全书共收集了21篇综述文章。

本书主要供生物科学及农业科学工作者参考，也可供化学、物理学科的科研人员参考。

光合作用研究进展

（第二集）

中国科学院 植物生理研究所 / 植物研究所 主编

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1980年12月第一版 开本：787×1092 1/16

1980年12月第一次印刷 印张：19

印数：0001—3,150 字数：445,000

统一书号：13031·1382

本社书号：1913·13—6

定价：2.95元

序　言

殷宏章

这一本专集是1977年12月中国科学院在广州召开的全国光合作用座谈会中的一些综合性的报告的汇编。这个座谈会可以说是1972年在北京召开的光合作用座谈会筹备会的继续，在那次筹备会上本来准备很快地再召集一次规模较大的会议，总结一下国内外发展的情况和讨论一个全国性的规划。但是由于"四人帮"的干扰，一直未能实现，所准备的综述性报告也被压了多年才得出版("光合作用研究进展"，科学出版社，1976)。在粉碎"四人帮"篡党夺权阴谋集团以后，全国人民在党中央领导下，精神焕发，为建设四个现代化的社会主义强国而努力工作。广大科技人员热烈响应华主席提出的"树雄心、立壮志，向科学技术现代化进军"的号召，立足赶超，迎头赶上。紧接着全国自然科学规划会议之后，中国科学院召开这样一个专业性的基础科学会议，它的意义是很大的。

这次会议，不仅是参加的人数比1972年在北京的座谈会超过四、五倍，更突出的是学科范围远较广泛，有很多的化学家，物理学家，农林学家和水生生物学家到会作报告和参加讨论。光合作用已经远远超出了植物生理生化的范畴，而是成为一个还有物理、化学、生态环境、遗传演化等多方面学科共同来钻研的课题，而且涉及到农业生产和能源开发等大问题。从这个专集中所收集的综合性报道可以看到光合作用研究的现状，如色素化学(蒋丽金)和原初反应(梅镇安、周佩珍)；电子传递与磷酸化(沈允钢、李有则、李淑俊)；膜结构与功能(段续川、匡廷云)；碳同化(吴相钰、李锡泾、李立人)；生物固氮和放氢作用(莫熙穆、张宪孔)；还有叶绿体的遗传(胡友纪)和光合作用的演化(黎尚豪)。此外，还有几篇专门综述：群体光能利用(王天铎、李明启)和高光效育种问题(崔继林)；以及人工模拟光合反应(范义积)与二氧化碳固定(陈家碧)。会中还专门安排了介绍量子化学(唐敖庆)、量子生物化学(刘若庄)以及热力学(胡日恒)、动力学(郭础)、发光物理(熊光楠)的学术报告。最后汤佩松教授还提出了"对开展光合作用研究的两点建议"供大家讨论。

这些报告综述了国内外光合作用研究的现状，不仅有助于我们找出差距，也启示了我们将来可以发展的方向，它们在各个水平上分析光合作用问题，从分子、生物膜、细胞器、细胞、组织、器官、个体、一直到群体。虽然我们还不能把这些水平上的工作有机地联系在一起，甚至所用语言亦未尽相通，然而把这些问题汇集在一个会上讨论，已经是一个值得鼓励的良好开端，这样广泛多学科的会，亦反映了我国社会主义大协作的精神面貌和我们自己可能开创的科学研究方向及道路。

目　　录

序言……殷宏章（ii）

机理

光合膜的结构与功能……匡廷云　段续川（1）
光合作用原初反应的光物理与光化学(研究近况介绍)……梅镇安（19）
激光快速光谱及其在光合作用研究中的应用……郭　础（31）
光合作用中能量转化及调节……周佩珍（40）
藻蓝胆素的结构研究……蒋丽金（50）
光合电子传递与光合磷酸化……沈允钢（66）
光合磷酸化的偶联和腺苷三磷酸形成的机理……李有则（78）
光合磷酸化偶联因子的结构和功能……李淑俊（93）
光合作用碳代谢研究进展……吴相钰、李锡泉（108）
二磷酸核酮糖羧化酶研究进展……李立人（129）

遗传进化

从藻类系统发育的观点看光合作用的演化过程……黎尚豪（143）
叶绿体遗传……胡友纪（154）

生理生态

关于植物的光能利用效率与作物产量问题……李明启（171）
关于作物高光效育种问题……崔继林（179）
群体光能利用及其数学模拟……王天铎（188）

放氢固氮

藻类的光放氢作用……张宪孔（212）
蓝藻、红萍-鱼腥藻共生体的光合作用对固氮和放氢的关系……莫熙穆（221）

模拟

光合作用的模拟……范义积（230）
用过渡金属络合物固定二氧化碳……陈家碧（244）

展望

对开展光合作用研究的两点建议……汤佩松（275）
量子生物化学的现状及展望……刘若庄（284）

需要全本请访问 www.ertongbook.com

机　　理

光合膜的结构与功能

匡廷云　段续川
（中国科学院植物研究所）

一、前　言

叶绿体的膜结构与膜功能的研究是目前国际上光合作用研究中极为活跃的领域。因为光合作用的功能，如光能吸收、传递、转化、水光解、电子传递以及光合磷酸化等功能均是在一定分子排列的膜结构中进行的。因此，必须把膜的结构与功能紧密结合起来，才能最终阐明光合作用光能转化及物质转化的规律。

预计这一领域的研究将从细胞器、即叶绿体的片层结构发展到分子水平，也就是在分子水平上阐明膜结构在光能转化中的作用以及人工重组具有光合功能（或部分功能）的复合体及膜，这将标志着对这一领域的了解达到了新的阶段。

光合细胞（包括原核细胞及真核细胞）都具有片层膜。它们的基本光合膜系统是类囊体。类囊体包含整个捕获光能并转化成化学能所必需的色素及酶[1]。原核细胞（包括光合细菌及蓝绿藻）的单一的类囊体膜是伸展在整个细胞中。如蓝绿藻的类囊体只以单一的形



图1　蓝绿藻的亚显微结构图

态存在，即单一的片层以适当的距离分别存在于细胞质中[2]，如图 1。

真核细胞（褐藻、绿藻及高等植物）中类囊体是集中在一个细胞器中，即叶绿体中。它们的类囊体或在垛叠（基粒片层）或在非垛叠（间质片层）都能看到[3]。从分子水平来看，从原核到真核细胞，光合片层的组成、色素蛋白复合体的组成不同，其光能的吸收、分配和转化亦不同。在这里我们将着重讨论高等植物叶绿体膜结构与膜功能的关系，垛叠膜的生理意义等问题。

二、叶绿体的结构

多年来许多研究者采用薄切片、负染色和电子显微镜技术，研究了叶绿体片层的整个形态组成，揭示了叶绿体类囊体膜的细微结构[3]如图 2。

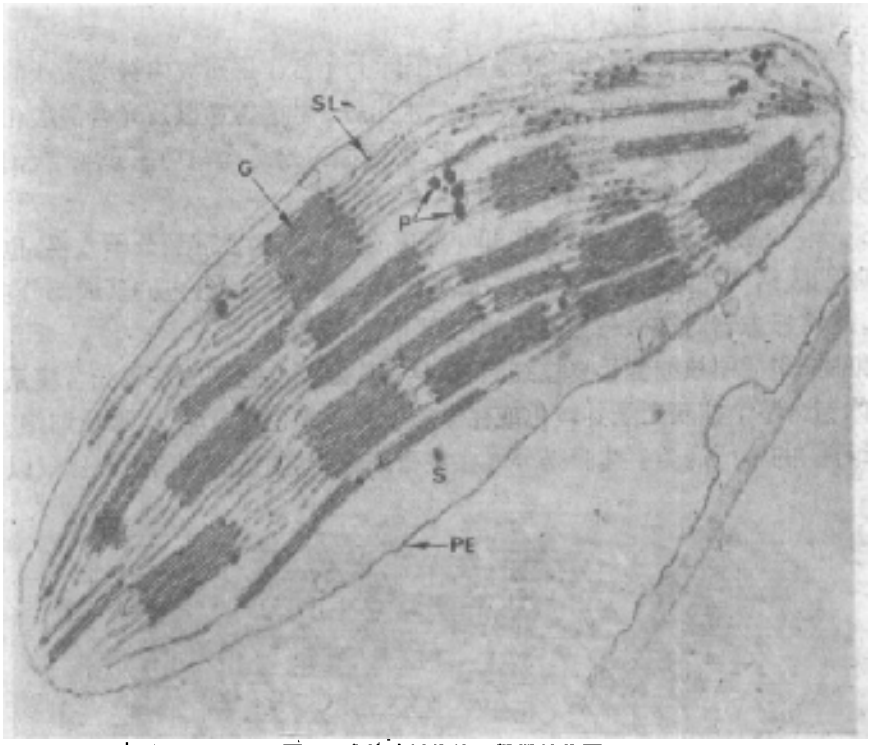


图 2　成熟叶绿体的亚显微结构图

G：基粒；　S：间质；　SL：间质片层；　P：嗜锇颗粒；　PE：外被。

由图 2 所示，叶绿体由一条双层膜包围叶绿体本身形成质体的外被。从 Weier 等[4,5]的研究，说明叶绿体的外被是一个有选择的屏障，控制着进入和排出叶绿体的代谢物质。Menke[6] 指出，叶绿体的基质是包括在外被之内的。基质中含有一定数量的核糖体和脱氧核糖核酸的链条，使叶绿体无论在遗传及代谢都具有一定的自主性。对叶绿体的自我调节与复制起一定的作用。很多藻类在它们的叶绿体基质中有圆形的、多角形或不规则形状的造粉体结构[7]。在所有的叶绿体的基质中都有一类物质叫嗜锇颗粒（或称脂类颗粒），它们的主要成分是叶绿体的亲脂性的脂类物质。脂类颗粒的数量在暗中发生的植物有所增加，但在光照下，在进行膜合成时数量则有所减少[8]。衰老叶片的叶绿体，当它们的片

层结构表现出逐步解体时，它们的脂类物质颗粒大小相应地有所增加[9]。由此看来脂类颗粒可能的功能作用是为额外的脂类贮存库，正当片层进行合成时可以取用，在膜处于退化时又累积起来。高等植物叶绿体的内膜片层的结构，从 1940 年由 Menke[10] 开始研究之后，很多实验室陆续地作了不少工作。到五十年代初，高等植物叶绿体的叠垒成垛的扁平圆形的片层，犹如一垛硬钱币似的形象特征得到一般地证实[11]。每个基粒是由两个以上类囊体圆形片层垛叠而成（每一个隔片是由二个类囊体垛叠在一起的中间的一个夹层）。多年前就曾认识到基粒垛在垛与垛之间另有膜（基质片层）结构串通，使它们相互连接起来[3]。

近年来，利用负染色及冰冻蚀刻的电镜技术，研究了叶绿体膜表面的细微结构特征。在此之后，不少实验广泛采用了冰冻撕裂的电镜技术[12, 1]，进一步研究叶绿体膜表面和内部的冰冻撕裂面。

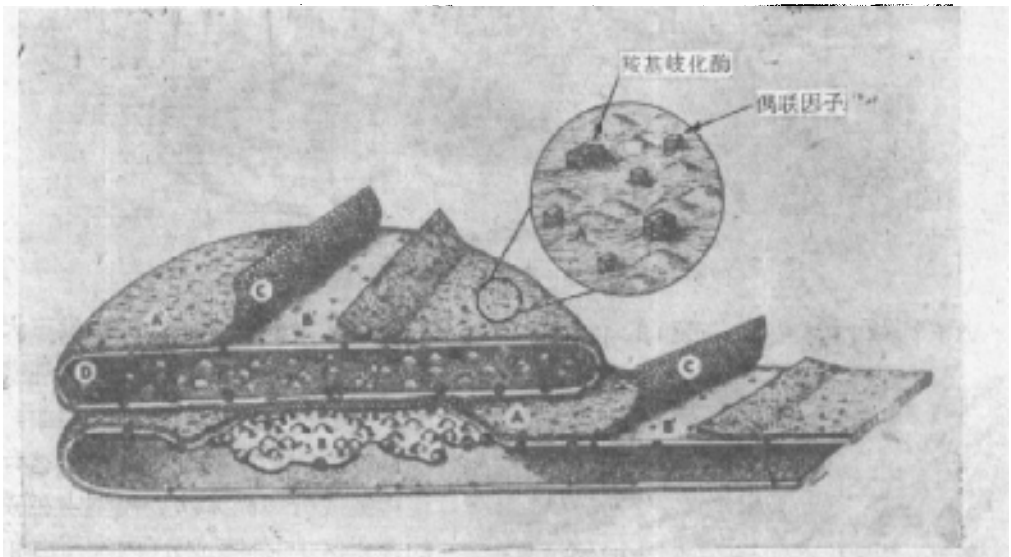
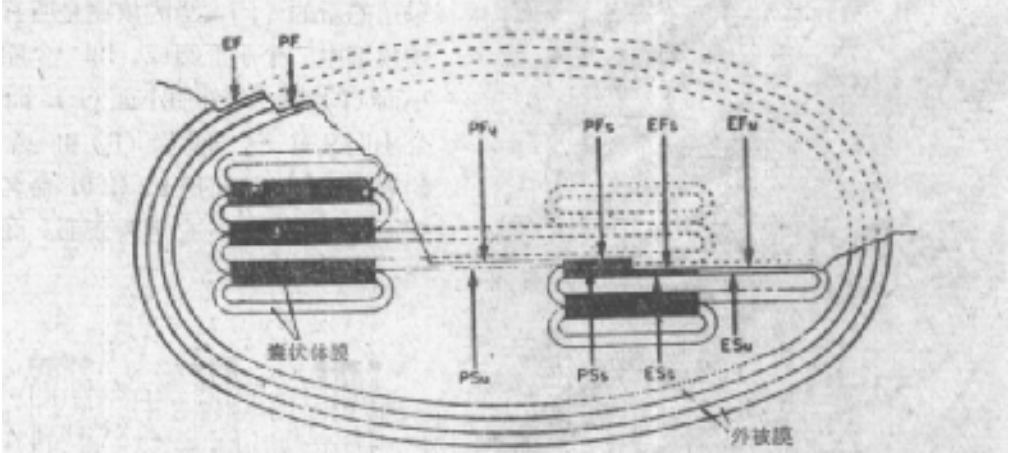


图 3　叶绿体冰冻蚀刻面的模型



垛叠膜区域
非垛叠膜区域

图 4　叶绿体膜冰冻撕裂及冰冻蚀刻术语的图解

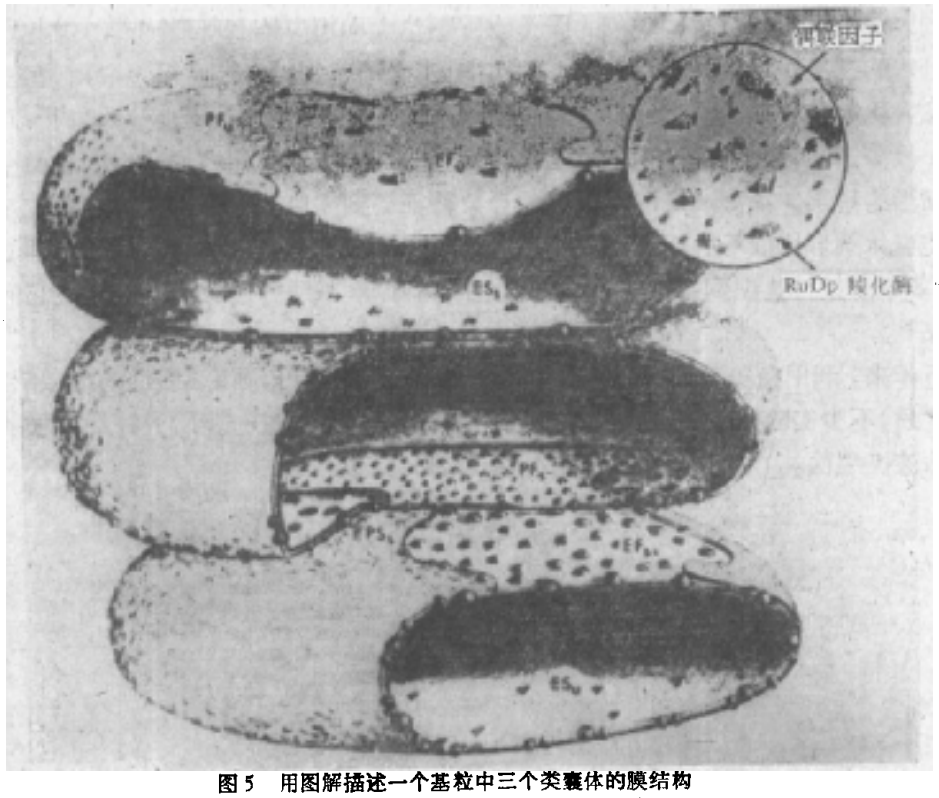


图 5　用图解描述一个基粒中三个类囊体的膜结构

冰冻蚀刻（包括冰冻撕裂）的整个优越性，是对类囊体膜的亚分子结构提供了大量的新的洞察力。它的优点是可以观察到膜的真实表面和内部的冰冻撕裂面，并且不改变膜的化学成分。这个使它有可能使内膜成分（流体镶嵌模型内在膜蛋白的疏水区）与外膜成分（内在蛋白和外在蛋白突出的亲水区）相互关连。目前所采用的新的专门术语的依据是所有的生物膜都由二个小面组成，即一个原生质小面（P）和一个外质小面（E），而每一个小面又有一个撕裂面（F）和一个真正的表面（S）。从而把 EF 和 PF 命名为撕裂面，把 PS 和 ES 命名为表面。而 S 和



图 6　叶绿体的冰冻撕裂面

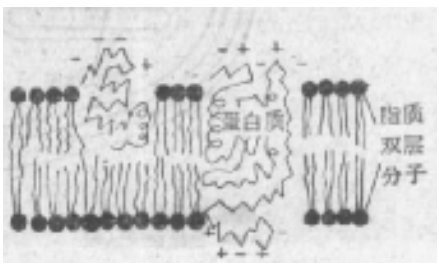


图 7　膜结构的模型

U则代表垛叠和非垛叠区。现采用的新术语与早先采用的叶绿体专门术语（A. B. C. D.）是相关的[3, 4]（如图 3，4，5，6）。

二者对应如下：Bs → EFs Bu → EFu, Cs → PFs, Cu → PFu, Au → PSu, As → PSs, Du → ESu, Ds → ESs。

近年来用生物化学及生物物理学的方法结合电子显微镜冰冻蚀刻的技术研究叶绿体的膜结构，支持了膜结构的"流体镶嵌模型"。这是目前最为广大科学工作者所赞同的，认为与当前所获得的实验结果是一致的，有关细胞膜结构的学说，又称作脂质、球状蛋白质镶嵌模型[33]，如图 7。

这个学说认为细胞膜的结构是在液态的脂质双层中，镶嵌着可以移动的球形蛋白质。脂质双层是由两排脂质分子构成的薄膜。每个脂质分子一端为亲水端，另一端为疏水端。在脂质双层，所有的脂质分子的亲水端都朝向膜的两表面，疏水端则朝向膜中央。脂质双层厚约 45 埃。球形蛋白质镶嵌埋在脂质双层内或附着在其表面。因此脂质双层成为细胞膜的基质，嵌入蛋白质又称作内在蛋白或整合蛋白质。它镶在脂质双层内。外在蛋白或周围蛋白质，它不嵌在脂质双层内，只附着在脂质双层的表面。细胞膜蛋白质的可移性，即镶嵌在液态的脂质双层中的蛋白质，在细胞膜上的位置都是可以移动的。总起来说，细胞膜的基本结构是：液态的脂质双层上镶嵌有球状的蛋白质。膜的一切功能便是在这结构的基础上进行的。因此，弄清楚构成膜上的蛋白质结构与功能的特点是非常重要的[33]。

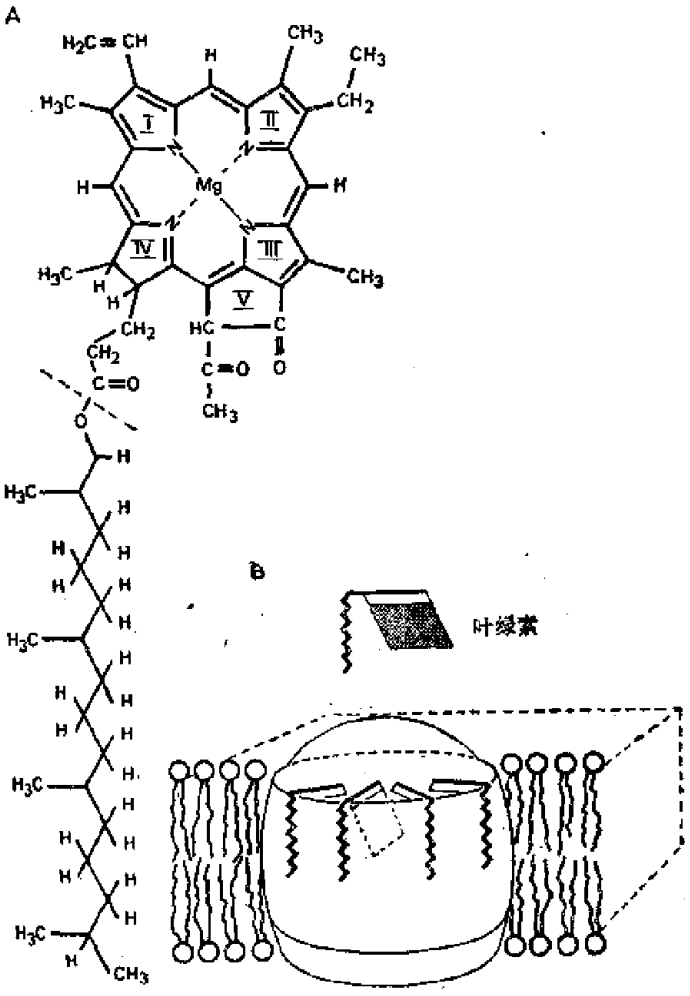


图 8 表示叶绿体膜内在蛋白横切面的图解
A 为叶绿素；B 为膜横切面图解

叶绿体膜亦是脂质双层膜，在脂质双层膜中镶有内在蛋白如色素蛋白复合体及电子载体等。外在蛋白如偶联因子、二磷酸核酮糖羧化酶等是附着在膜的表面上。内在蛋白渗入或透过膜同膜的脂肪直接相互作用，它们是完整的连续脂的一部分[34]，如图 8。

三、光化学活性在叶绿体片层膜上的位置以及基粒堆积的生理意义

按现在比较一致的看法，植物光合作用中牵涉两个光化学反应，一个与放氧有关，称光系统 II。一个与具有高还原能力的物质有关，称光系统 I。早期认为光系统 I 既分布在间质膜，也分布在基粒膜，而光系统 II 则集中的分布在基粒膜。Homann 等[15]根据烟草突变种黄色叶片部分的叶绿体，没有基粒片层，仅仅只有间质片层，也没有光系统 II 活性的材料，提出了光系统 II 的活力是依赖于基粒的存在的假说。这个假说曾经受到膜组份分离的实验所支持[16, 17]。当叶绿体用机械方法进行分离时，分离的间质膜具有高的光系统 I 的活力，而基粒膜则具有高的光系统 II 的活力[18]。不少研究者用组织化学染色的方法，研究了光化学活性在叶绿体膜上的位置。如 Weier 等[16]证明了四硝基蓝四唑（TNBT，一个依赖于 PSII 的反应）的光还原是位于叶绿体膜的隔板上。虽然作者以此作为叶绿素所在部位的证明，而现在可以重新理解为全部的光系统 II 活性是集中在基粒膜内。全部光系统 II 活性都集中在基粒膜的假说遭到了 Hall 等[19, 20]的驳斥。他们利用铁氰化钾作为希尔反应电子受体，产生了还原的亚铁沉淀。用电镜观察，这些沉淀在基粒片层及间质片层中均有。从而提供了一个关于光系统 II 既位于基粒膜又位于间质膜的证据。此外，Goodenough 等[21]观察到绿色依藻（*Chlamydomonas reinhardi*）的突变种 ac-5，没有具有重叠的基粒片层，但有完全的光化学活性。在一些高等植物的突变种中，具有高的光系统 II 的活力，但却只有极少的基粒，如 Highkin 等人[22]发现在豌豆突变种的叶绿体中，只有少数片层重叠的基粒。但它们的光系统 I 及光系统 II 都具有较高的光化学活性。

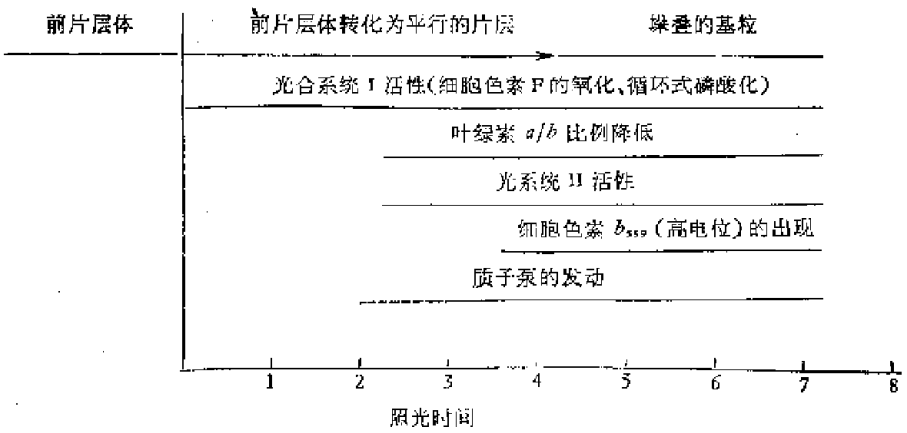
一般认为，C_4 植物的叶绿体具有两种形态结构，有的 C_4 植物维管束鞘细胞叶绿体几乎缺乏基粒，缺乏光系统 II 活性，叶肉细胞叶绿体是有与间质膜相关的正常的基粒堆，具有正常的光系统 II 的活性，二者均具有光系统 I 的活性。但目前对 C_4 植物维管束鞘细胞叶绿体是否真正缺乏光系统 II 活性存在着争论。由于 C_4 植物维管束鞘细胞壁较硬，可以和叶肉细胞分开，Woo 等[23]就利用这一特征设计分别磨碎提取这两类不同的细胞，从而能以直接地测定分离出来的两类叶绿体的光化学活性。他们测出高粱的维管束鞘细胞的叶绿体缺少希尔反应活性，而叶肉细胞叶绿体的光系统 II 活性正常，以上两类叶绿体都具有活跃的光系统 I 活性。但 Anderson 等[24, 25]观察到高粱的维管束鞘细胞叶绿体具有光系统 II 活性，为叶肉细胞叶绿体的 7—14%。Arntzen 等[26]观察到高粱维管束鞘细胞叶绿体具有叶肉细胞 15% 的光系统 II 活性。具有 10% 的非循环式光合磷酸化的活力。Anderson 等[24]测定了玉米由铁氰化钾为电子传递体的非循环式光合磷酸化效率为叶肉细胞的 11—19%。

此外，Izawa 等[27]用一些有垛叠基粒的高等植物叶绿体，经低盐溶液洗涤后基粒片层完全松散开来，但它们并没有失去光系统 II 的放氧能力。因此，他们认为垛叠的片层与光系统 II 的活性没有直接的关系。

从膜的生物发生来看，基粒垛叠稍有些落后于光系统 II 活性出现的时间（Hiller 等）[28]。用图解表示了膜的最初发生和其他参数的关系[3]。

图解说明在膜的生物发生中垛叠的基粒是在黄化质体转绿 4 小时左右才发生，但在

需要全本请访问 www.ertongbook.com



转绿 2 小时光系统 II 的活性就出现了。

从以上许多研究者用组织化学的材料：藻类的突变种及 C_4 植物维管束鞘细胞叶绿体，虽然都没有重叠的基粒片层，但均具有一定的光系统 II 活性；从垛叠的叶绿体在低盐浓度下失去基粒片层的垛叠仍具有光系统 II 活性；从膜生物组装的时间进程，基粒垛叠稍落后于光系统 II 活性。但光系统 II 活性与基粒膜和间质膜的结构到底是什么关系？近几年来，由于叶绿体膜结构与膜功能研究的进展，对此问题有了进一步的了解。

Arntzen 等[29]利用冰冻撕裂的电镜技术研究了去垢剂毛地黄皂苷获得的光系统 II 制剂及富于光系统 II 的亚膜碎片。发现光系统 I 制剂具有明显的颗粒，从形态上看同完整膜上的 PF 面颗粒相同，而富于光系统 II 的制剂与完整膜 EF 面的颗粒相同。因此，Arntzen 等提出，不同的冰冻撕裂面的颗粒是不同的光系统的标记。也就是说在冰冻撕裂面上观察到的内膜颗粒，是膜的特殊功能成分。

Sane 等[30]第一个观察到，在叶绿体片层的 EF 冰冻撕裂面中颗粒的分布是不均匀的，在间质膜中 EF 颗粒的密度低于基粒膜 EF 颗粒的密度。Ojakian 等及 Staehelin[31, 32] 同样证明了这点。从不同类型的藻类及高等植物细胞的类囊体冰冻撕裂面 EF 颗粒的组织图谱（如图 9）可以看出，从红藻、眼虫、依藻到高等植物菠菜叶绿体，从系统发育来看，进化程度不同，膜分化和发育不同，类囊体撕裂面 EF 颗粒的大小及密度不同。从眼虫在光暗两种条件下培养，类囊体撕裂面 EF 颗粒无论在密度及颗粒大小两方面都显著不同。豌豆黄化苗在间歇照光下转绿，由于膜分化不完全，EF 面颗粒小，密度亦小[1]。

Arntzen 等[33] 研究了转绿的叶绿体膜的结构。证明了在膜分化的过程中捕获光能的色素蛋白复合体是逐步加到光系统 II 中，因而增加了 EF 颗粒的大小。他们认为 EF 颗粒是由光系统 II 核心复合物，其周围包有不同量的捕获光能的色素蛋白复合体而组成，这就解释了 EF 颗粒的大小为什么不同。通过冰冻撕裂的电镜技术指出约有 20% 的 EF 颗粒分布在间质膜，有 80% 的 EF 颗粒分布在基粒膜上。虽然间质膜上 EF 颗粒较小比起基粒膜上的 EF 颗粒。利用乳过氧化物酶催化基粒膜的碘化也证明了有 75% 至 80% 的光系统 II 反应中心是位于基粒的隔板区，也就是说有 20—25% 的光系统 II 活性是近于乳过氧化物酶的膜区，用免疫的方法亦确定约有 20% 的光系统 II 的活性是不位于基粒的隔板上[34]。如表 1 所见，无论是通过冰冻蚀刻揭露的 EF 颗粒的数目和分布，或通过酶促碘化及免疫方法都充分证实了间质膜中存在有一定量的光系统 II。

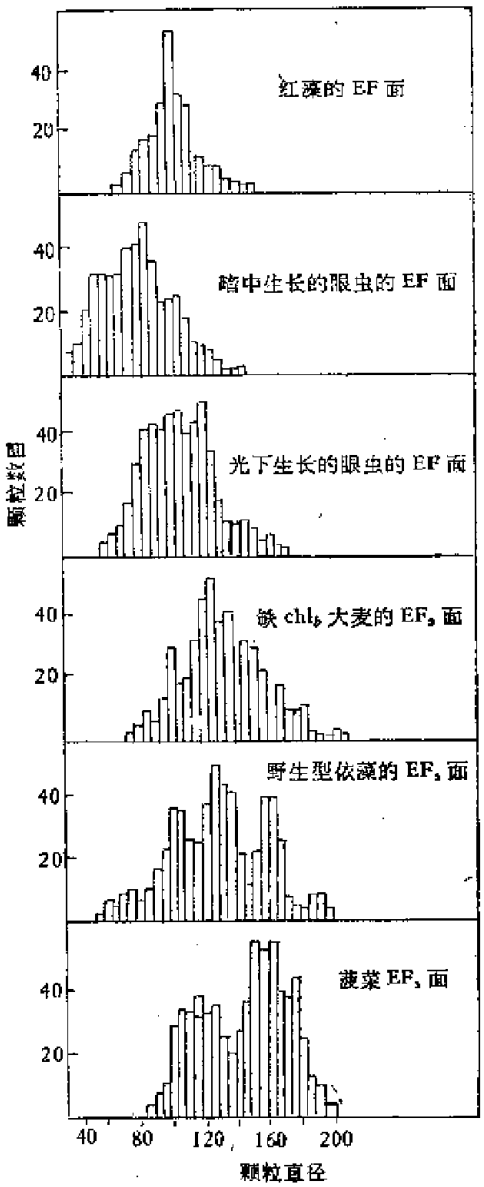


图 9　不同植物细胞类囊体冰冻撕裂面的 EF 颗粒的组织图谱

表 1　叶绿体内膜颗粒的大小和分布与高等植物叶绿体片层的光系统单位分布与特征比较[147]

研究的参数	非堆积膜	堆积膜
每平方微米 PF 颗粒数	3409±265	3620±286
每平方微米 EF 颗粒数	574±47	1495±103
在垛叠与非垛叠区质体膜总长度的比例	40%	60%
在垛叠及非垛叠区计算的 EF 颗粒的比例	20%	80%
在垛叠及非垛叠区光系统 II 中心的比例	20—25%（碘化作用） 20% 免疫化学	75—80%（碘化作用） 80% 免疫化学
EF 颗粒的平均大小	109 Å	145 Å
分离的膜组份的叶绿素 a/b 比例	5.4	2.2
根据光强测定光系统 II 电子传递估计光系统 II 单位的大小	小的捕获光解的天线成份	正常大小的光系统 II 单位

Armond 等[34]从功能上证明了间质膜具有光系统 II 活性。他们在不同光强下，同时测定基粒膜及间质膜光系统 II 的光化学活性。发现在各种光强下，基粒膜的光系统 II 活性，就绝对量来说，均大于间质膜的光系统 II 活性，在高光强下间质膜的光系统 II 活性约为基粒片层的 20—25%，间质片层的光系统 II 活性达最大速率要求较高的光强。间质膜的光系统 II 光饱和点高，光合单位小。

从以上的材料，无论是从结构，或从功能两方面都进一步证实了间质膜存在光系统 II。从结构上证实有约 20%，从功能约 20—25%，二者是吻合的。

进一步分析以上材料可以看出，光系统 II 的活性不要求基粒的垛叠，虽然光系统 II 的活性主要集中于基粒膜区，但间质膜区亦具有一定量的，不可忽视的光系统 II。那么要问在真核细胞叶绿体中基粒的垛叠到底有什么生理意义？对于自然的、正常发育的、健康的真核细胞，通过电镜观察，有分化出来的明显的有垛叠的片层的区域，即基粒。这样的基粒是绿色植物细胞膜的溶合独特的表现。这样看来，可能在进化过程中，由于选择而发展到这样一个独特形象的膜结构。这就是基粒片层垛叠其作用是否是有利于转化日光能？很多研究者都曾试图解答这个问题。基粒垛叠的生理意义是什么？

Rabinowitch 等[35]认为在叶绿体中，膜的垛叠（重叠）可能的一种功能是它们往往是酶

的排列支架，使其容易接近底物分子控制中间产物从一个酶转到另一个酶，并使最终产物移走，它们提供了一个长的代谢传送带。并能高效地利用吸收的光量子，在光合作用中用于化学能贮存。即除了有效的传递能量，并能促使激发能达到利用它的位置。

Anderson 等[36]研究了在极端阴生条件下生长的植物叶绿体的光化学活性及其膜结构。观察到这些质体具有低的叶绿素 *a*/*b* 比例，具有相当大的基粒，但在这些质体中光系统 I 及光系统 II 的活性与正常生长的质体没有区别，这就说明基粒的垛叠意味着捕获光能的机构高度的密集，因而能够更有效的收集光能。

Kirk 等[37]曾观察到，在叶绿体转绿的过程中，捕获光能系统的出现增加了光合作用的效率。Serger 等[38]在研究 *Schenedesmus* 变种的转绿过程中，进一步发展了这些观察，他们进一步证明了垛叠膜的形成与光系统中最大量子效率是紧密相关的。Armond 等[39]同样观察到豌豆黄化苗照光转绿的过程中，发现基粒膜开始垛叠同非循环电子传递的量子效率的增加是相一致的。但他们极力说明，不是膜的垛叠控制着量子效率，而是捕获光能的色素蛋白复合体与 Mg^{++} 对激发能的分配的调节二者平行出现是控制着量子效率的主要因素。因此他们认为，转绿的质体，即处于分化过程的质体具有低的量子效率是因为在两个光系统之间，捕获光能的系统发育不均，造成了两个光系统之间捕获的光量子不等。调节光能分配的色素蛋白复合体的出现，假设控制着捕获光能的效率。那么，这里有两个主要问题：一是捕获光能的色素蛋白复合体在膜垛叠的过程中到底起了什么作用？二是在每个基粒垛叠过程中是否包括了阳离子对两个光系统之间能量分配的调节？

Anderson 等[40,41]的研究表明，多肽 II_b 及 II_c（它们是捕获光能叶绿素 *a*/*b* 蛋白复合体的成分）在基粒很少的变种中是缺乏的。Miller 等[42]观察到，在缺乏叶绿素 *b* 的大麦变种中膜能够垛叠，由于这个变种含有捕获光能的色素蛋白复合体的一种多肽。

Izawa 等[27]证明了悬浮在低盐介质中叶绿体失去了基粒的垛叠。在加入盐的情况下，膜的垛叠又出现。从图 10 可以看出在低盐浓度下，捕获光能的色素蛋白复合体同光系统 II 反应中心的结合是松散的，捕获光能色素蛋白复合体之间相互也不连接。图 9 表明，在高浓度的阳离子存在下，捕获光能的色素蛋白复合体遭到构型的变化，诱导了它们同光系统 II 之间的紧密结合，同时伴随着两膜之间捕获光能复合物的连结。捕获光能复合物横的连结，可以认为是诱导基粒垛叠的因子。因此，Arntzen 等[12]认为阳离子诱导了捕获光能色素蛋白复合体同光系统 II 反应中心的结合及完整膜上捕获光能复合物之间的结合，后一过程，是通过两膜之间的横链来达到的。

Stachelin[2] 认为二价阳离子在负电荷与邻接膜之间的桥链反应引起了垛叠。Mura-

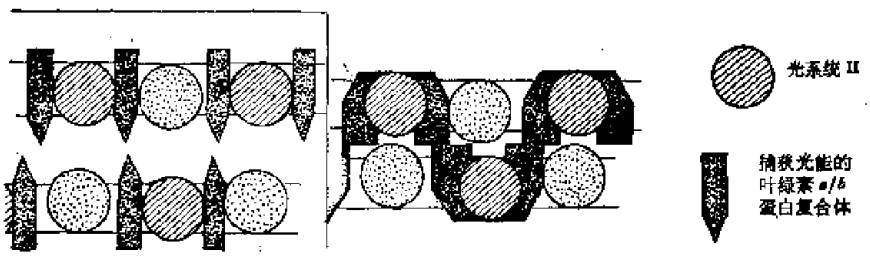


图 10　左：假设的叶绿体在低盐介质下，捕获光能的色素蛋白复合体与光系统 II 的组织结合模型；右：阳离子（>3mM 二价离子，>100mM 的一价阳离子）对膜内捕获光能色素蛋白复合体的组织结合模型

kami 等[48]提出，由于在高强度的阳离子条件下稳定了疏水的相互反应，这是引起膜垛叠的主要力。我们认为捕光叶绿素 *a*/*b* 蛋白复合体是引起膜垛叠的主导因素，而膜系统中保持一定的阳离子强度则是诱导膜垛叠的主要条件[72,74]。

四、用去垢剂对叶绿体膜的分离及膜结构模型的发展

叶绿体膜蛋白的生化活性是高度的依赖于利用的表面活性剂裂开蛋白与脂肪之间的疏水链以及克服蛋白在水溶液中的不溶性。阴离子去垢剂广泛的应用去增溶叶绿体膜如 SDS 及 SDBS，释放出较小的颗粒，沉降系数从 1.25 到 2.65。这些增溶的成份可用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离成各种单个的多肽。遗憾的是，阴离子去垢剂处理失去了亚膜制剂的光化学活性，推测是由于阴离子去垢剂裂解了膜蛋白的四级结构。因此，阴离子去垢剂增溶不可能获得具有生理活性的膜蛋白复合物[12]。

非离子去垢剂和毛地黄皂苷或 Triton X-100 广泛地利用去分离叶绿体膜，获得了含有一些多肽的特殊颗粒。利用这种方法获得的复合物是蛋白质的聚合体，至少部分的模拟了完整膜上具有生理活性的蛋白质的构型。因此，分离的亚单位保持着单一的，或部分的光化学反应，在一定条件下，这些复合物能重组具有电子传递的膜组分[12]。

1. "完整"的光系统 II 复合物

无论是利用毛地黄皂苷或 Triton X-100 裂解叶绿体膜都能获得富于光系统 II 活性的亚膜碎片。Arntzen 等[44]利用毛地黄皂苷处理叶绿体、Boardman 等[45]利用毛地黄皂苷及 Triton X-100 处理叶绿体、Huzisige 等[46]用毛地黄皂苷及声波—Triton X-100 处理叶绿体及 Vernon 等[47]通过高比例的去垢剂/叶绿素处理叶绿体都从基粒膜制剂分离出高纯度的含有光系统 II 及捕获光能的色素蛋白复合体的膜碎片。它具有低的叶绿素 *a*/*b* (1.8—2.0)。能催化光诱导的对 DCMU 敏感的 DCPIP 的光还原，用电镜观察，发现这些制剂是小的膜的薄片[48]。用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析。含有多种多肽，其中富于 21—30KD 范围的蛋白质[49]。

2. 光系统 II 反应中心复合物

Vernon 等[50]利用 Triton X-100 处理叶绿体获得了一个富于光系统 II 的亚膜制剂。再进行蔗糖梯度离心，得到了一个量很少具有高的光系统 II 活性的颗粒。其后，Wessels 等[51]通过毛地黄皂苷处理和蔗糖梯度离心也得到了一个类似的颗粒。这两个颗粒都具有类似的特性，叶绿素 *a*/*b* 比例为 25—28。高的 DCPIP 光还原活性(在光系统 II 的电子给体二苯卡巴肼的存在下)，富于细胞色素 b_{559} 有少量的 β-胡萝卜素及叶黄素，有 C550 的吸收变化及细胞色素 b_{559} 的光氧化。通过吸收光谱的变化及 EPR 光谱，发现有 P680 的存在。但无论是用毛地黄皂苷或 Triton X-100处理，获得的颗粒都有可测量的 P700[52,51]。通过负染色的电镜观察，Triton X-100 处理所得到的颗粒，是分散的，小的亚单位，直径约 110 Å[50]。Vernon 和 Wessels[50,51] 等认为这些颗粒是光系统 II 的反应中心。光系统 II 反应中心复合物多肽组成的分析表明，它们主要是由 27—60KD 的多肽所组成。光系统 II 反应中心复合物与完整的光系统 II 的碎片最大的差别是后者富于叶绿素 *b*，而前者缺乏

二个多肽（22—24KD）[53, 49]。

3. 光系统 II 捕获光能的复合体

目前已证实叶绿体中最大量的叶绿素是同蛋白质相结合成色素蛋白复合体。用 SDS 增溶叶绿体，无论用凝胶电泳或羟基磷灰石柱都分离出一个较大的富于叶绿素 *b* 的色素蛋白质(叶绿素 $a/b = 1$)。这个复合物一般称复合物 II。现称为捕获光能的叶绿素 *a*/*b* 蛋白质[54]。这个复合物至少含有两个多肽，分子量在 23—27KD[55, 56]。这个复合物含有大部分或全部分在叶绿体膜上的叶绿素 *b*[54]。在基粒膜及间质膜的平行分析中，叶绿素 *b* 及捕获光能的叶绿素 *a*/*b* 蛋白复合体的分配是伴随着光系统 II 反应中心的分配。它与光系统 II 反应中心的物理结合以及叶绿素 *b* 作为光系统 II 的原初光敏化剂导至了一般都能接受的看法，即它是作为光系统 II 的捕获光能的原初复合物[33]。

Wessels 等[53]及 Arntzen 等[57]证明了，这个捕获光能的叶绿素 *a*/*b* 蛋白复合物，具有低的叶绿素 *a*/*b* 比例（1.3—1.5）。主要含有 23—27KD 范围的多肽，颗粒直径约 50—100 Å。它同光系统 II 能再重组形成大的膜的复合物。

4. 光系统 I 制剂

用毛地黄皂苷及 Triton X-100 处理叶绿体膜，获得的一个轻的组份，为光系统 I 颗粒，它具有光还原 NADP 的能力，具有高的叶绿素 *a*/*b* 比例(在 4.5—6 范围内)，富于 β-胡萝卜素，在液氮温度下荧光范围在 730nm[47]。P700/叶绿素的比例一般在 1/100—1/250 范围，通过 Triton X-100 处理无胡萝卜素的叶绿体，获得了 P700/叶绿素为 1/25—1/35 的颗粒，这就表明去除了各种天线色素及某些有关的蛋白质。

Thornber 等[58]提出了一个 P700—叶绿素 *a*—制剂（叶绿素/P700 = 40/1）是由两个三聚体所组成。一个三聚体由两个 48-KD 的多肽和一个含 P700 的 46-KD 的多肽构成另一个三聚体则由三个 48-KD 亚单位构成。二者的分子量相等。如图 11 所示。

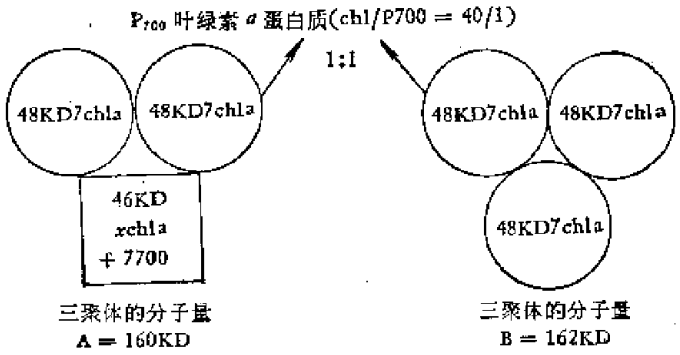


图 11

Wessels 等[53]通过蔗糖梯度离心提纯毛地黄皂苷获得的亚膜碎片，发现在它们的梯度上分离出一个特殊的粉红色带，为细胞色素 *f* 和 b_6 复合物。

5. 偶联因子的外在及内在膜成分

光合磷酸化的偶联因子，一般是结合于类囊体膜表面的一种颗粒蛋白，称外在蛋白，

又称 CF_1，它类似于线粒体中的 F_1，分子量较大，约 35 万。这个酶含有 5 个多肽亚单位。最近又分离出一个叶绿体 ATP 酶的疏水蛋白成分，称为（HF_0）。HF_0 是一个内在的膜成分。通过 Cholate 提取可以溶解出来，通过硫酸胺可以提纯。HF_0 能够重组形成磷脂的小泡，它束缚 CF_1 形成一个 ATP 酶复合物。用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳对（HF_0）制剂进行分析，表明它含有 6 个多肽，分子量在 42—11KD 范围[52]。

总结以上的材料可以看出，非离子去垢剂，如毛地黄皂苷及 Triton X-100，是广泛的利用去增溶叶绿体膜，发现从膜上已释放出六种特殊型的酶复合物。其中之一是 CF，它是束缚在膜的表面，为膜的周围蛋白，也可称为外在蛋白 。二磷酸核酮糖酶同样是一个与叶绿体膜相结合的周围蛋白质，即外在蛋白复合物，但它们的结合是松散的，易被洗涤去除。现还不知它的存在与缺乏对膜偶联的能量反应有什么影响[12]。

从非离子去垢剂增溶叶绿体获得的 5 个不同的内在膜蛋白复合物（又称整合蛋白复合物），其特性描述于表 2 中。

表 2　用温和去垢剂处理叶绿体膜获得的各种类型的内在蛋白复合物特征总结[12]

复合物	叶绿素含量	特征性的活性	多肽含量	结构
光系统 II 反应中心复合物	叶绿素 $a/b>25$（含有 P680）	在电子给体存在下具有光诱导的 DCPIP 的还原 光诱导的 C550 的光谱变化 细胞色素 b_{559} 的光氧化 P680 的漂白	至少含有 6 个多肽，主要在 27—54KD 范围内	分散的，小颗粒，直径约 100 Å
捕获光能的复合物（LHC）	叶绿素 a/b = 1.3—1.5	没有光化学活性 可逆的束缚于光系统 II 复合物；通过阳离子可以引起这种束缚	最初含有的多肽在 22—25KD 范围内	基于超过滤膜的特殊结构；颗粒直径约 50—100 Å
光系统 I 反应中心/辅助色素复合物	叶绿素 $a/b>7.5$（含有 P700）1P700/110—150 叶绿素	光诱导的 P700 的氧化 能氧化加入的质蓝素及细胞色素 f	至少有 6 个多肽，分子量的范围从 10 到 74KD	没有有效材料
细胞色素 f、b_6 复合物	仅仅含有微量的叶绿素	含有细胞色素 f 和 b_6、非血红素铁及束缚的质蓝素。假若 PSI 复合物再重组，细胞色素 f 的氧化能再偶联到 P700 的氧化	还没有有效的材料	没有有效的材料
偶联因子（HF_0）的疏水蛋白复合物	不含叶绿素	能够再重组形成磷脂小泡，同时与 CF_1 相束缚，形成一个具有活性的，质子转移的 ATP 酶复合物	含有 6 个主要的多肽，从 11 到 12KD 范围	没有有效的材料

一些研究者对几个色素蛋白复合体在光合单位中的组织结构问题提出了几个模型。首先 Butler 等[59]最初提出了一个绿色植物光能分配的原始模型，如图 12。他们推测光系统 I 及光系统 II 是被捕获光能的色素蛋白复合体所分离。但问题是能量从系统 II 传递到系统 I 是否一定要求捕获光能的色素蛋白复合体。当他们观察到缺乏叶绿素 b 的大麦变种叶片，缺乏捕获光能的色素蛋白复合体，在 −196℃ 时在 730nm 有正常的 F_v（易变荧光的产值），根据这些观察，Butler 等[60]又提出了一个修改的模型如图 13。在这个模型中，捕获光能的色素蛋白复合体包围了光系统 II，但又部分的同光系统 I 接触。他们认为，被捕获光能的色素蛋白包围的光系统 II 及光系统 I 是类似囊状体冰冻撕裂面上的大的（EF）和小的（PF）颗粒。

需要全本请访问 www.ertongbook.com