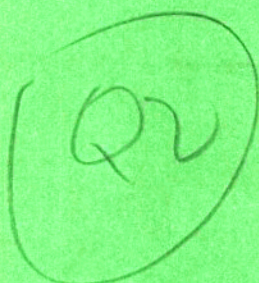


植物生理学教学研究参考文集

——理论进展及其在生产中的应用



北 京 植 物 生 理 学 会
中国植物学会植物生理专业委员会
中国植物生理学会科普和教育委员会

一九八七年三月

植物生理学教学研究参考文集

——理论进展及其在生产中的应用

北 京 植 物 生 理 学 会
中国植物学会植物生理专业委员会
中国植物生理学会科普和教育委员会

一九八七年三月

序 言

吴 相 钰

(北京大学生物学系)

1985年8月1日至15日在北京召开了植物生理教学讨论和学术交流会。这次会议是中国植物生理学会教学工作委员会和科普工作委员会委托北京植物生理学会举办的。参加会议的有各种类型大专院校和中专的植物生理学教师以及科研单位的同志。会上,许多参加者都迫切希望能将会议上的报告铅印出版并进一步编辑出版一些参考资料,以反映国内外植物生理生化方面的新成就、研究动态和实际应用方面的成果。大专院校和中专的教师、研究生和大学生对此尤感迫切。因此,会后中国植物生理学会科普和教育委员会、中国植物学会植物生理专业委员会和北京植物生理学会的大部分负责同志共同进行了研究,决定不定期出版植物生理学参考资料专辑。于是我们一方面请部分原报告人将此次会议上的报告加工整理,另一方面又约请了一些同志专门为此撰写一些论文。

近年来由于生物科学的迅速发展,各个学科的相互渗透,植物生理学的范围和内容都在发生深刻的变化。分子生物学和细胞生物学的发展,不仅使植物生理学的许多内容得到了更新,而且有一些本来被认为不属于植物生理学范畴之内的问题已经逐渐成为植物生理学中不可缺少的内容。环境生物学和生态学的发展,也为植物生理学开辟了越来越广阔的天地。所有这些发展又为植物生理学的应用展示了新的前景。

这本参考资料的选题,就是力求尽可能多地照顾到植物生理学的各个方面,特别是一些新兴的和边缘的领域。其中的论文大体可分为三大类。第一,介绍植物生理学某些传统题材方面的新进展。第二,介绍某些新兴的和边缘的领域,包括理论和应用两个方面。第三,就教学中的某些难点提供一些资料,借以阐述某些基本概念和基本原理。这样做的目的,是希望本书能够尽可能地适应不同读者的不同要求。我们衷心希望广大读者提出批评和建议,帮助我们改进工作,将来在继续编辑和出版这种资料时可能做得好一些。

这本专辑的出版,我们除了当然应该感谢所有作者的辛勤劳动和合作以外,特别应该感谢北京市密云县农业局的领导和有关同志,是他们承担了校对和印刷装订等繁重的任务。没有他们的帮助,这本书要及时出版是非常困难的。我们谨在此向他们敬致谢忱!另外,中国植物学会和北京植物生理学会的工作同志和其他有关同志也为此书的出版贡献了力量,我们也在此对他们表示感谢!

目 录

序言

1	叶绿体膜的结构与功能及其调控——叶绿体膜上叶绿素蛋白复合体的 结构与功能及其调控	匡廷云 (1)
2	光合作用的原初光化学	吴相钰 (17)
3	光合碳代谢的调节	吴相钰 (31)
4	植物光合作用的光抑制	张其德 (43)
5	C_3 和 C_4 中间型	吴光耀 (57)
6	C_3 植物中RuBP羧化酶和PEP羧化酶在碳素同化中的作用那松青、郝运斌、谭克辉	(67)
7	果糖-2,6-双磷酸及其对植物糖代谢的调节	李锡涇、袁晓华 (83)
8	种子活力的概念及其应用	徐本美 (95)
9	种子萌发的代谢及其调节控制	刘存德 (111)
10	植物基因及其表达	赵微平 (129)
11	植物遗传工程——用Ti质粒作为基因载体的研究现状	何笃修 (175)
12	无机营养元素在植物体内的生理学作用	赵微平 (189)
13	钙生理功能的研究进展	邱泽生 (207)
14	植物的氮代谢	赵微平 (219)
15	离体开花的研究	杨中汉 (253)
16	脱落酸与植物抗性	潘瑞炽、郭 确 (265)
17	设施农业的发展与环境控制生理学的研究	白克智 (277)
18	细胞水分关系的讲授	吴相钰 (289)
19	植物茎尖培养	陶国清、李淑焕 (293)
20	植物的细胞骨架	阎隆飞 (317)

1 叶绿体膜的结构与功能及其调控

—叶绿体膜上叶绿素蛋白复合体的结构与功能及其调控

匡 廷 云

(中国科学院植物研究所)

一、前 言

光合作用是绿色植物(包括光合细菌)的特异功能。绿色植物利用体内的叶绿素吸收日光能把二氧化碳和水合成有机物并放出氧气来,从而把光能转变成化学能贮存在体内。植物的光合作用是地球上利用日光能的最主要的过程。它是人类、动物、大多数微生物的食物的最初来源,也是当今人类社会利用的古生物燃料,如石油、煤、天然气的最初来源,也是地球上氧气的最初来源。

在植物细胞内,光合作用的功能,如光能吸收、传递、转化、水的光解、氧的释放、电子传递和光合磷酸化等功能均是在叶绿体内具有一定分子排列的膜结构中进行的。因此,我们可以称叶绿体是一种特殊的光能转换器。深入研究叶绿体膜的基本结构,对于最终阐明光合作用光能转化机理是非常重要的。

二、叶绿体膜的基本结构

1. 叶绿体膜的超微结构

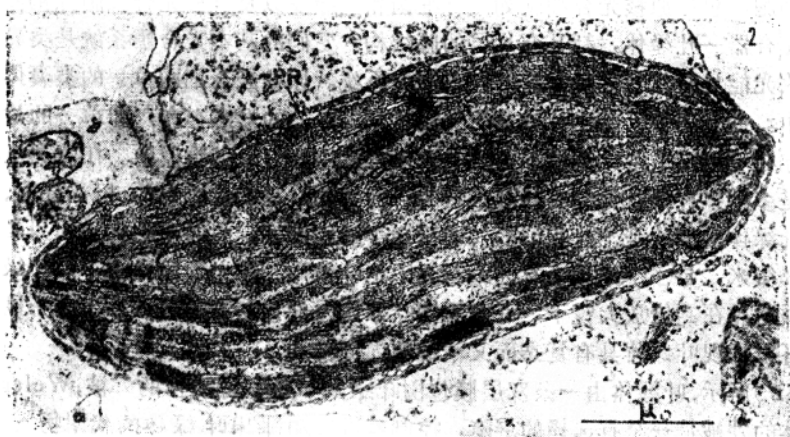
光合细胞,包括原核光合细胞如光合细菌和兰绿藻以及真核光合细胞如褐藻、绿藻及高等植物的光合器—叶绿体,都具有片层的膜结构。它们的基本光合膜系统是类囊体,类囊体包含着吸收光能及转化光能所必需的色素及酶系统。原核光合细胞单一的类囊体膜是伸展在整个细胞中。如(图1)所示兰绿藻的类囊体只以单一的形态存在,即单一的片层以适当的距离分别存在于细胞质中。真核细胞的类囊体是集中在一个细胞器中。在藻类植物中,叶绿体的形状是多种多样的,他们有的是带状的,板状的,星状或饼状的。但在蕨类、蕨类和种子植物中,叶绿体的形状是十分相似的,即呈扁平的椭圆形。它的平均直径约为4—6微米,厚约2—3微米,每一个细胞中有几个至几十个叶绿体。在光学显微镜下,叶绿体内部一般表现为匀质状,在高倍放大镜下,可以看到叶绿体内部存在颗粒结构。用电子显微镜观察叶绿体时,可以发现叶绿体具有复杂而又精细的内部结构。

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,Weier等的研究,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。Me-nke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,使叶绿体无论是在代谢还是遗传方面都具有一定的自主性,对叶绿体的自我调节与复制起



(图1) 兰绿藻的亚显微结构图

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。在所有的叶绿体的基质中都有一类物质叫嗜饿颗粒(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。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。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。对高等植物叶绿体的内膜片层的结构, 从1940年由Menke开始研究之后, 很多实验室陆续地作了不少研究工作。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。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



(图2) 成熟叶绿体的亚显微结构图

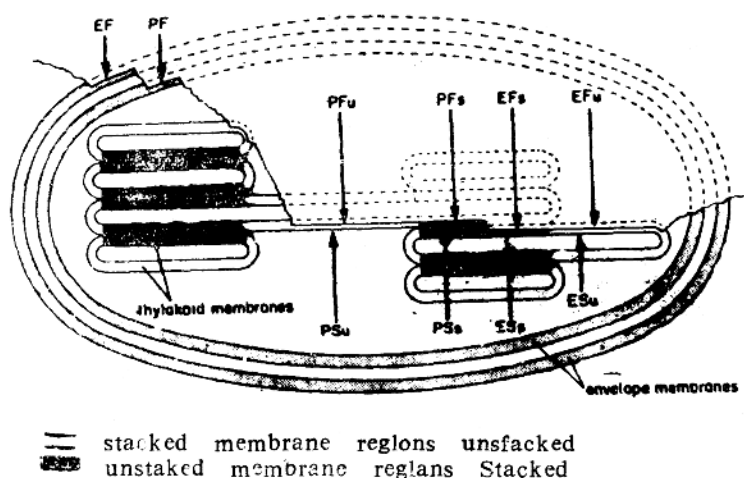
G: 基粒; S: 间质; SL: 间质片层; P: 嗜饿颗粒; PE: 外被

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之间另有膜(基质片层)结构串通,使它们相互连接起来。

2. 叶绿体膜冰冻撕裂及冰冻蚀刻图解

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。在此之后不少实验中广泛采用了冰冻撕裂的电镜技术,进一步研究叶绿体膜表面和内部的冰冻撕裂面。冰冻蚀刻(包括冰冻撕裂)的优越性,在于对类囊体膜的亚分子结构提供了新的洞察力,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)相互关联。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面组成,即一个原生质小面(Protoplasmic surface),即PS和一个外质小面(Exoplasmic surface),即ES。而每一个小面又有一个撕裂面,分别为PF(Protoplasmic Fracture face)和EF(Exoplasmic Fracture face)。PS,ES命名为表面;把PF和EF命名为撕裂面。而S和U则代表垛叠和非垛叠区,如(图2)。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,如(图3)。二者对应如下:

Bs→EFs, Bu→EFu, Cs→PFs, Cu→PFu,
Au→PSu, As→PSs, Ds→ESs, Du→ESu.

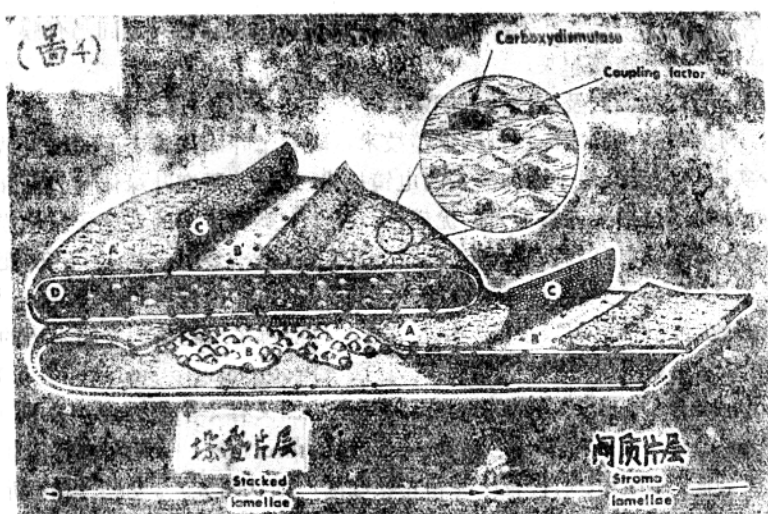


(图3) 叶绿体膜冰冻撕裂及冰冻蚀刻术语的图解

3. 叶绿体膜结构模型

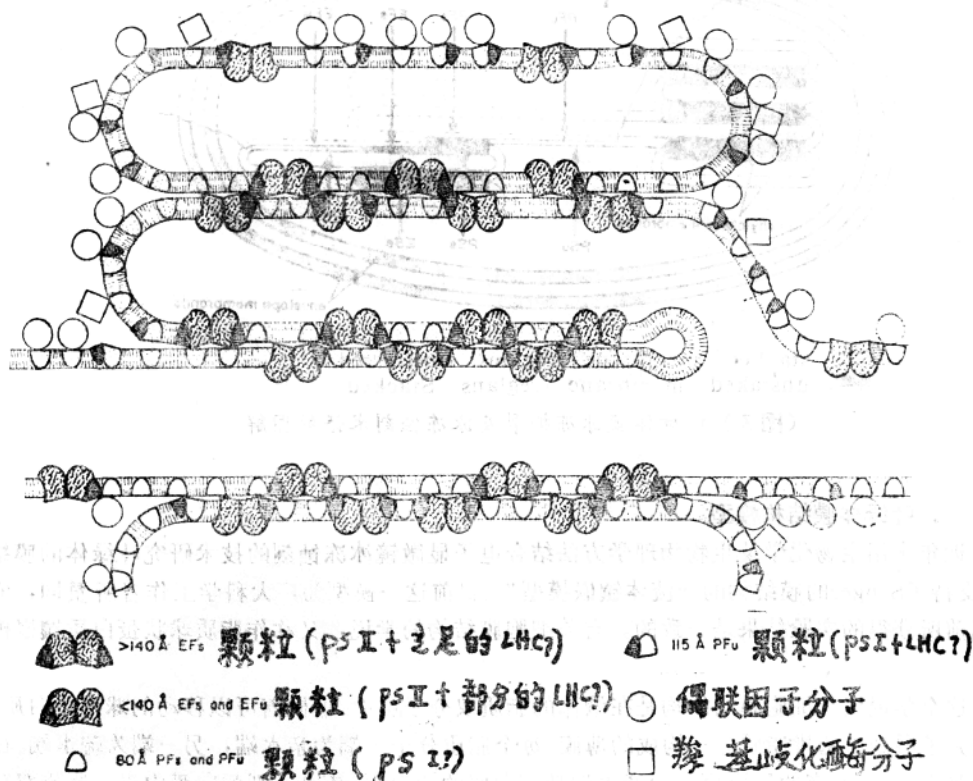
近年来用生物化学及生物物理学方法结合电子显微镜冰冻蚀刻的技术研究叶绿体的膜结构,支持了Singer的膜结构的“流体镶嵌模型”。目前这一模型为广大科学工作者所赞同,它与当前所获得的实验结果是一致的。有关细胞膜结构的学说,又称作脂质球状蛋白质镶嵌模型。

这个学说认为细胞膜的结构是在液体的脂质双分子层中,镶嵌着可以移动的球形蛋白质。脂质双分子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。在脂质双分子层,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。脂质双分子层厚约45埃。球形蛋白质镶嵌在脂质双层内或附着在其表面。因此脂质双分子层成为细胞



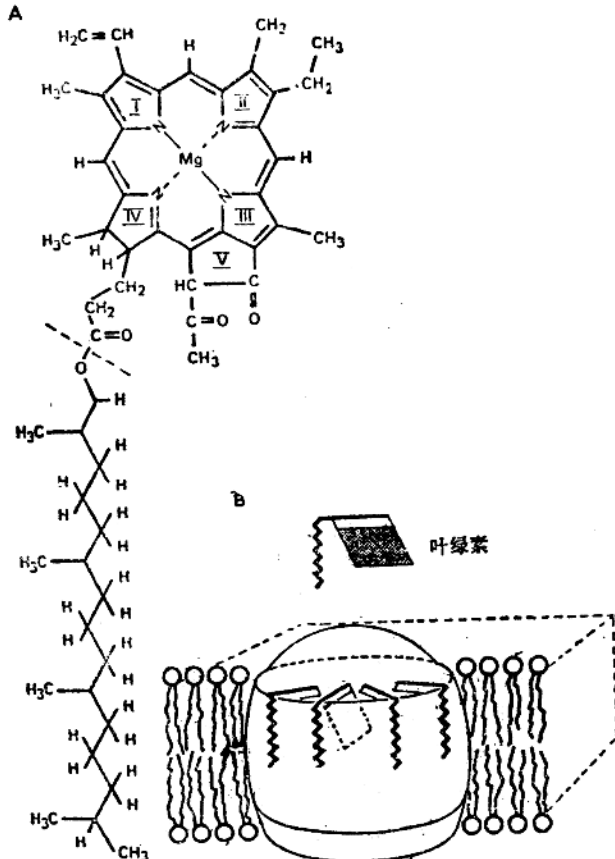
(图4) 叶绿体冰冻蚀刻的模型

膜的基质，嵌入蛋白质又称作内在蛋白或整合蛋白质，它镶在脂质分子双层内。外在蛋白或周围蛋白质，它不嵌在脂质双分子层内，只附着在脂质双分子层的表面。细胞膜蛋白质具有可移性，即镶嵌在液态的脂质双分子层中的蛋白质，在细胞膜上的位置都是可以移动的。



(图5) 叶绿体膜结构模型

叶绿体膜是脂质双分子层膜,在叶绿体的内膜系统中,在基粒膜区和间质膜区都镶嵌有内在蛋白和两个光系统的反应中心,各种天线捕光色素蛋白复合体及电子传递体;而外在蛋白和偶联因子(CF₁)及二磷酸核酮糖羧化酶等是附着在类囊体膜的表面上。内在蛋白渗入或透过膜同膜的脂肪直接作用,它们是完整的连续脂的一部分,如(图5)所示。叶绿素与蛋白相结合,形成叶绿素蛋白复合体,镶嵌在类囊体膜中,形成膜的内在蛋白。(图6)是叶绿体膜内在蛋白叶绿素复合体横切面的图解。



(图6) 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

近年来发现膜中某些脂质之间,呈特异性结合;脂质分子相变时有协同效应,即几十个以上的脂质分子同时相变;膜结构的分相现象和各种酯相共包括“界面酯”以及由此产生的在膜平面上的区块结构。据以上现象Jam和 White 提出了“板块模型”,认为在流动的酯质双分子层中存在许多大小不同、彼此独立移动的酯质板块(有序结构区)。板块之间由无序流动的酯质区(无序结构板块)所分割。无序与有序板块区可能处于一种连续的动态平衡之中。“板块模型”学说是“流体镶嵌模型”学说的补充,能更好地解释目前所揭示的叶绿体膜结构与功能的状况。(图7)是包括捕光、电子传递及质子运转的四个复合物的“膜结构模型”。从(图7)可以看出,跨类囊体膜的多种蛋白的组织是很不对称的,并且有横向的异质性。多种功能蛋白组成四个多亚单位的复合体镶嵌在酯质双分子层中。

分离出两个P700叶绿素a蛋白复合体,称为CP I a及CP I,他们认为CP I a是CP I的寡聚体。1980年我们实验室李桐柱等从小麦类囊体膜上分离出三种P700叶绿素a蛋白复合体。1982年我们又从原核光合生物(柱胞鱼腥藻)分离出四个P7000叶绿素a蛋白复合体(CP I a、CP I b、CP I c及CP I)。低温荧光激发光谱表明这些复合体在625—626nm、677nm、690—692nm和712—714nm处有四个共同的荧光激发峰或肩。根据E677/E714的比值,可将它们分为CP I a、CP I b和CP I c、CP I两种类型。这两类叶绿素蛋白复合体之间的差异在于它们具有不同状态的色素比例所致。我们的实验结果表明无论从真核还是原核光合生物的光合膜上都能分离出几个P700叶绿素a蛋白复合体。它们之间的关系不是寡聚体和单体的关系,它们是由于含有不同质和量的天线色素所致。

近年来不少研究者已分离出极端缺乏天线色素的光系统I反应中心P700叶绿素a蛋白复合体,叶绿素/P700的比值可以从40:1、15:1到7:1。但相反地对光系统I的天线色素则了解很少。最初曾推测,光系统I及光系统II都应有自己特有的天线色素蛋白复合体,但直到近几年才证明了光系统I捕光叶绿素蛋白复合体(LHC—I)作为一个实体在体内存在。近年我们和美国Arntzen实验室合作,首次全面地系统地分离和鉴定了高等植物光系统I捕光叶绿素蛋白复合体(LHC—I)。

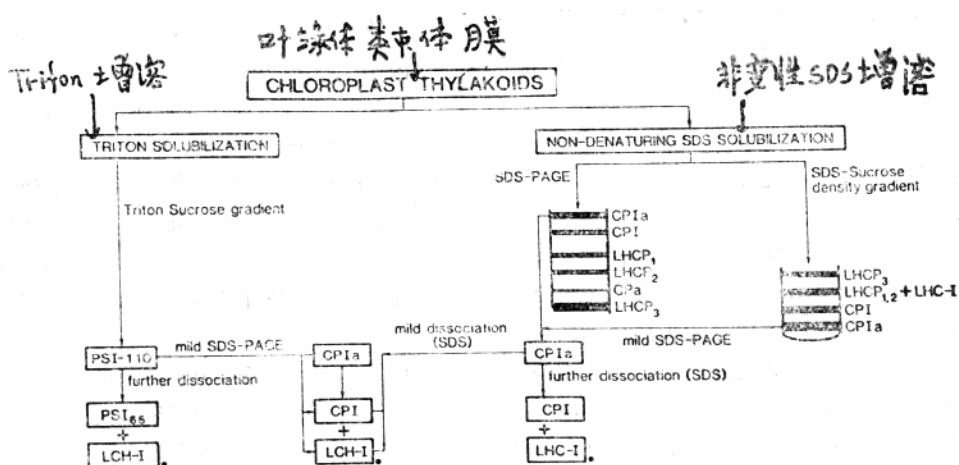
叶绿体膜蛋白的生化活性是高度地依赖于利用表面活性剂裂开蛋白与脂肪之间的疏水键以及克服蛋白在水溶液中的不溶性。阴离子去垢剂如SDS及SDBS,广泛地应用去增溶叶绿体膜释放出较小的颗粒,其沉降系数从1.25到2.65。这些增溶的成份可用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离成各种单个的多肽。遗憾的是,阴离子去垢剂处理失去了亚膜制剂的光化学活性,推测是由于阴离子去垢剂裂解了膜蛋白的四级结构。因此,阴离子去垢剂增溶不可能获得具有生理活性的膜蛋白复合物。

非离子去垢剂如毛地黄皂苷或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,至少部分地保持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。

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,在液氮温度下荧光发射范围在730nm左右。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。

含P700叶绿素a蛋白复合体的颗粒,即PS I—110颗粒(110chlorophyll/P700)。我们进一步用Triton X—100蔗糖梯度离心可获得光系统I捕光叶绿素蛋白复合体(LHC—I),若用SDS增溶PS I—110颗粒再经SDS—PAGE,亦能分离出光系统I捕光叶绿素蛋白复合体带(即LHC—I带)(图8)。

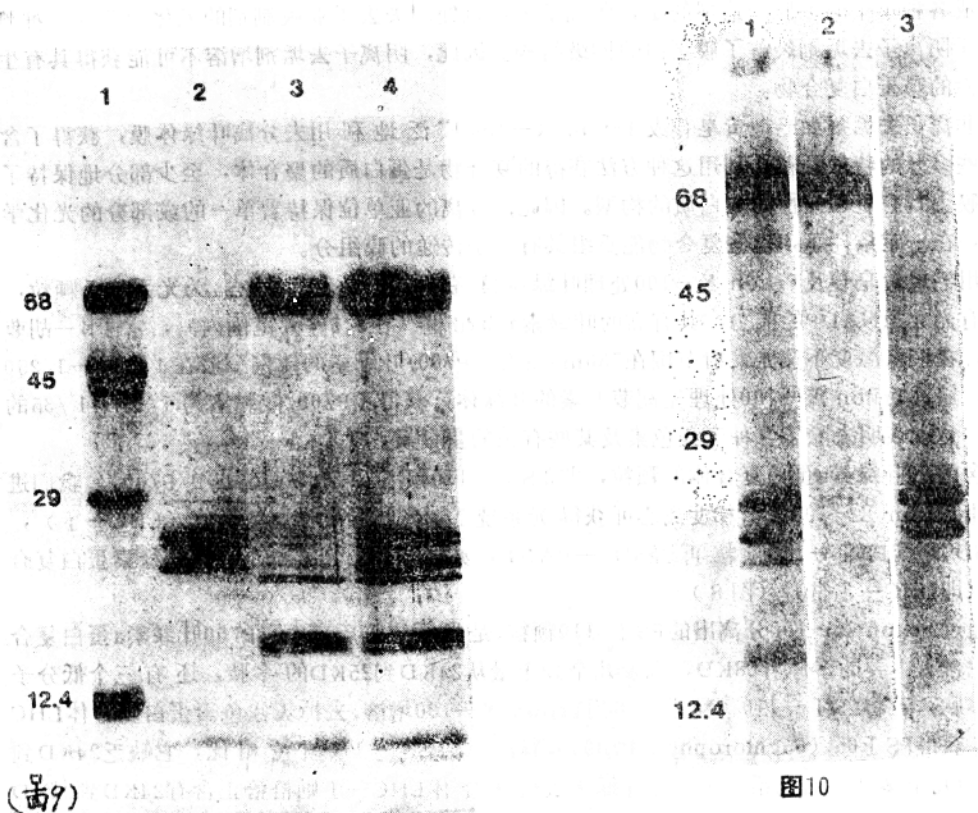
通过Triton X—100分离出的PS I—110颗粒,是光系统I反应中心P700叶绿素a蛋白复合体,它含有主要的多肽有68KD,以及几个分子量从24KD到25KD的多肽,还有三个低分子量的多肽,若将PS I—110颗粒进一步用Triton X—100增溶,去掉天线色素蛋白复合体LHC—I,获得PS I 65 (65chlorophyll/P700)颗粒。与PS I—110颗粒相比,它缺乏24KD到21KD的几个多肽。而光系统I捕光叶绿素蛋白复合体LHC—I则恰恰正含有24KD到21KD的几个多肽。这和用SDS增溶PS I—110颗粒后经SDS—PAGE所获得的CP I a、CP I b和LHC



(图8) 用各种方法从叶绿体类囊体膜获得LHC-I的图示

—I的多肽组成是相吻合的(图9、10)。

CPIa和CPIb是具有相似的吸收光谱,在红区的和兰区吸收峰分别在675nm和438nm,表明分别类似于PS I—110和PS I 65颗粒,都类似于P700叶绿素a蛋白复合体,它们的荧光



发射峰分别在722nm和730nm。而LHC-I的吸收光谱表明,它在红区的最大吸收为668nm,而在兰区为432nm,它的荧光发射峰在730nm,它的一级导数光谱表明它含有叶绿素b(图11、12)。LHC-I的荧光发射在长波区,是由21KD含叶绿素a/b的多肽所发射的。近二、三年来国内外研究的不断进展已表明,F722CP I (PS I 65)是光系统I反应中心P700叶绿素a蛋白复合体,LHC-I的21KD含叶绿素a和b的多肽是光系统I 长波荧光的天线色素蛋白复合体,而LHC-I的其余多肽同样具有天线色素的功能。

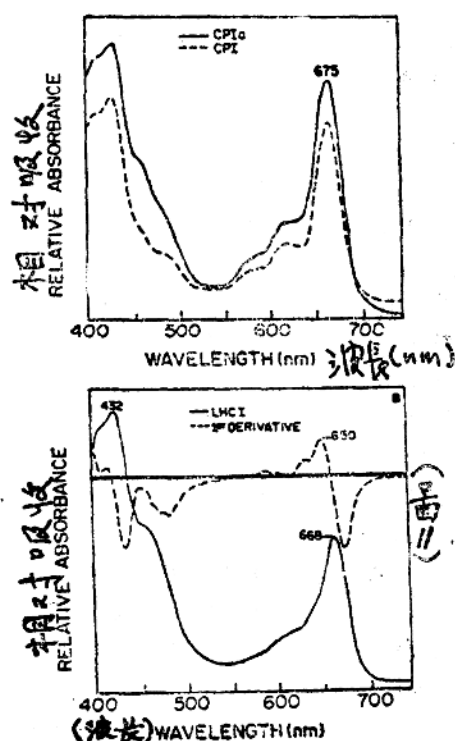


图11

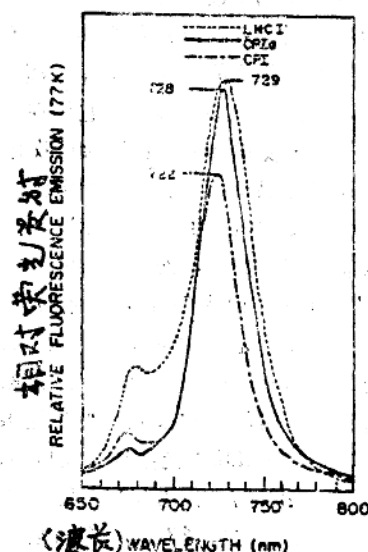


图12

2. 光系统II反应中心及捕光叶绿素蛋白复合体的结构与功能

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等利用毛地黄皂苷处理叶绿体、Boardman等利用毛地黄皂苷及Triton X-100处理叶绿体、Huzisige等用毛地黄皂苷及超声波—Triton X—100处理叶绿体及Vernon等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比值(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,这是完整的光系统II复合物。为了分离光系统II反应中心复合物,Vernon等利用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,但具有高的光系统II活性的颗粒。其后,Wessele等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胂的存在下),富于细胞色素b₅₅₉,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F680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。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埃。Vernon和Wessels等认为这些颗粒是光系统II的反应中心。

直到1977年Hayden等才通过SDS—PAGE首次从高等植物中分离出一种叶绿素a蛋白复合物,它的光谱特性不同于光系统I反应中心叶绿素a蛋白复合物,称为光系统II反应中心叶绿素蛋白复合物。

荧光是最早的和常用于探索原初光物理化学过程的方法之一,近年来不少实验室力图肯定几个蓝光发射带与膜上特殊功能叶绿素蛋白复合物之间的关系。现已肯定在低温下(-196°C) F685、F695是来自光系统II。

一般认为F695来自光系统II反应中心叶绿素蛋白复合物,但在较长时间内F695叶绿素a蛋白复合物却始终没有分离出来,直到近二年由于去垢剂的改进和发展,情况才有所改变。

通过最近国外的以及我们实验室有关的研究,无论用阴离子去垢剂(在低浓度的SDS下)或非离子去垢剂都能从光系统II分离出两个叶绿素a蛋白复合物CPa¹及CPa²,它们分别含分子量为47KD和43KD的多肽。它们在红区的吸收峰分别在675nm和671nm,在兰区的吸收峰分别在439nm及438nm。它们的吸收光谱及一级导数光谱表明它们均含有叶绿素a和类胡萝卜素,缺乏叶绿素b,与LHCP的吸收光谱有显著的差别。CPa¹具有680nm及670nm的吸收状态。CPa¹、CPa²和LHCP之间,最主要的差别是CPa¹主要的吸收状态在680nm, CPa²主要吸收状态在670nm,而LHCP的主要吸收状态在650nm和680nm(图13)。

在常温下CPa¹和CPa²具有相似的蓝光发射,在685nm发射最强。但在低温的情况下,它们的蓝光发射是非常不同的。在 -196°C 低温下,CPa¹的蓝光发射峰在695nm,CPa²的低温蓝光发射峰在685nm(图14)。虽然F695和F685早已肯定是与光系统II有关,但对于这两个蓝光发射带的最初来源,则争论很多。Butler曾报导F695归功于LHCP的贡献, Satoh等和Cho等认为应归功于光系统II反应中心陷井。Bishop提出F695是从光系统II反应中心邻近的天线色素发射的,或由LHCP在一定的条件下聚合的结果。

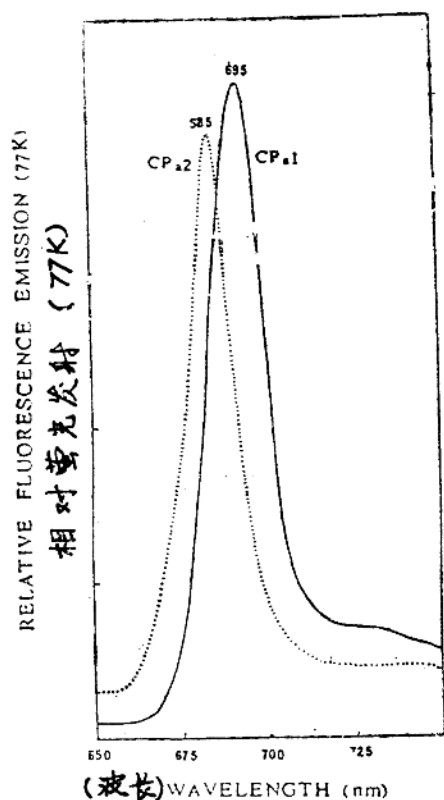
根据目前国内外现有的研究进展,已经证明F695是由光系统II反应中心P680叶绿素a蛋白复合物(CPa¹)所发射的, F685是由光系统II内周天线叶绿素a蛋白复合物(CPa²)所发射的,而F680—F682是由光系统II外周天线捕光叶绿素a/b蛋白复合物(LHCP)所发射的,光系统II光合单位则由这三种不同类型各含不同质和量的叶绿素蛋白复合物所组成。

四、叶绿体膜上叶绿素蛋白复合物结构与功能的调控

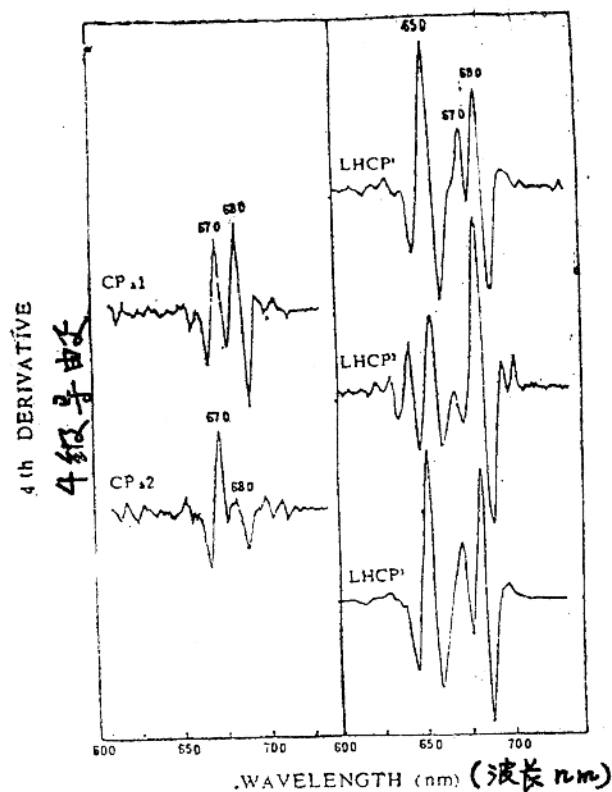
1. 光系统II捕光叶绿素a/b蛋白复合物(LHCP)的光谱特性

目前已证实叶绿体中最大量的叶绿素是同蛋白质相结合形成色素蛋白复合物。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。这个复合物至少含有两个多肽,分子量在25—27KD。这个复合物含有大部分在叶绿体膜上的叶绿素b。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蛋白复合物的分配是伴随着光系统II反应中心的分配。

在成熟的叶绿体类囊体膜上捕光叶绿素a/b蛋白复合物(LHCP)约占全部叶绿素蛋白复合物的50%左右。它对类囊体膜的垛叠、光能吸收及激发能分配的调节都具有重要的作



(图13) CPa¹、CPa²及LHCP的
四级导数光谱



(图14) CPa¹、CPa²的相对荧光发射光谱

用。因此，深入地研究它的结构与功能对于阐明膜的结构与光能吸收和激发能分配机理是非常重要的。

Thorner和Ogawa早在1966年通过SDS—PAGE就分离出一条LHCP带，其后其它几个实验室曾分离出2—3条LHCP带，一般认为LHCP在体内以单体、二聚体及三聚体存在。我们从小麦类囊体膜上分离出四条LHCP带，即LHCP¹、LHCP²、LHCP³及LHCP⁴。根据光谱特性、电泳迁移率及表观分子量的测定，我们认为在体内LHCP有四种形式：单体、二聚体、三聚体及四聚体存在。在体内它们以寡聚体的形式存在有利于光能的吸收和传递。同时，非离子去垢剂Triton X-100处理菠菜叶绿体再经蔗糖梯度离心，分离高度纯化的能保持天然膜结构状态的捕光叶绿素a/b蛋白复合体。近年来国内外的研究者鉴定了高度纯化的LHCP的多种光谱特性。它的低温吸收光谱表明，在红区的吸收峰为676nm、671nm和651nm，兰区的吸收峰为436nm、464nm和484nm。从它们的导数光谱可以清楚地看到，在兰区，叶绿素b的吸收峰和胡萝卜素的吸收峰分开形成了二个特征峰位，并且叶绿素b峰位向短波长移。LHCP在室温下的圆二色光谱表明672nm(+)和685nm(-)这两个CD峰可能是叶绿素a所具有的。而646nm(-)和657nm(-)这两个CD峰可能是叶绿素b所具有的。从高度纯化的LHCP的线二色光谱表明，681nm(+)这个峰，可能是长波叶绿素a所具有的，662nm(+)这个肩可能是叶绿素b所具有的。653nm(+)、648nm(-)和642nm(+)

这是捕光叶绿素a/b蛋白复合体所特有的指文峰。在兰区697nm(+)、434nm(+)、472nm(+)及446nm(+)这些正峰可能是胡萝卜素、叶绿素b、叶绿素a等所共有的。

在对高度纯化的捕光叶绿素a/b蛋白复合体进行全面的光谱特性鉴定的基础上,为了进一步阐明它的分子结构与功能的关系,我们实验室对它的色素组成及色素在蛋白内的排列进行了探讨。高度纯化的LHCP用100%丙酮溶解后,在纤维素薄板上点样、层析,结果表明,LHCP含有胡萝卜素、叶黄素、叶绿素a、叶绿素b、紫黄素及新黄素。为了更好地了解叶绿素a、b及类胡萝卜素在蛋白内的排列,探讨了有机溶剂对LHCP光谱特性的影响。结果表明叶绿素a受到的影响比叶绿素b更为强烈,在兰区胡萝卜素的吸收峰(484nm)首先消失,从四级导数光谱表明,首先是色素波长681nm吸收状态峰消失,而672nm色素状态和650nm色素状态的峰仍然存在。因此,推测高度纯化的仍保持天然膜结构状态的捕光叶绿素a/b蛋白复合体的色素排列可能是胡萝卜素处于最外层,叶绿素a处于中层而叶绿素b处于最里层。

2. 光系统II捕光叶绿素a/b蛋白复合体的蛋白磷酸化调节了激发能在两个光系统之间的分配

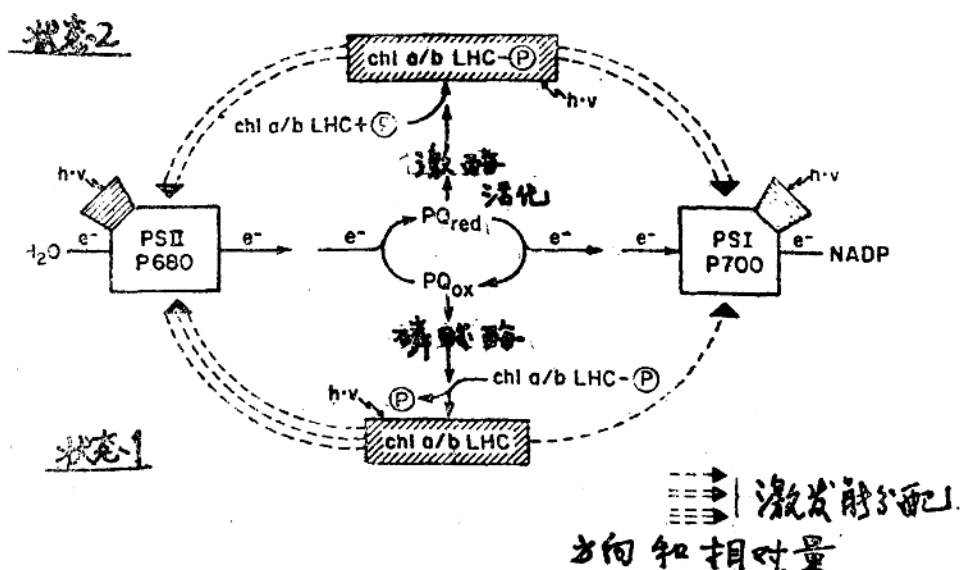
在高等植物及绿藻的叶绿体膜上组成的两种类型光化学单位的色素蛋白复合体具有明显的空间分隔。虽然叶绿体类囊体膜具有横向的异质性,但两个光系统必须串联协同作用才能达到最高效率。在改变周围环境条件的情况下,叶绿体必须适应这种变化,灵敏的调节激发能在两个光系统之间的均衡分配,以适应周围环境的变化,达到最高的效率。因此LHCP的蛋白磷酸化对叶绿体膜激发能分配的调节是非常重要的。尤其是叶绿体如何在变化的外界环境条件下对光能吸收、传递、分配及转化的调节。研究的结果已充分肯定,镶嵌在类囊体膜上的LHCP的蛋白磷酸化,增强了735nm的荧光发射,降低了685nm的荧光发射强度,表明激发能的分配有利于光系统I。LHCP的蛋白磷酸化之后,光系统I的量子产量增加,而光系统II的量子产量减低,说明LHCP的蛋白磷酸化确实使能量的分配有利于光系统I。

根据kyle等提出的“天线移动”的假说,叶绿体在进行蛋白磷酸化之后,部份的LHCP从富于光系统II的基粒膜区移动到间质膜区,扩大了光系统I捕光面积。kyle和kuang(匡)等进一步证明了LHCP的蛋白磷酸化,LHCP以单体的形式从基粒膜区横向移动到间质膜区。最近我们实验室又证明了LHCP蛋白磷酸化之后不仅以单体,而且以二聚体、三聚体,即不同寡聚体的形式从基粒膜区向间质膜区移动,与光系统I相结合,扩大了光系统I的捕光截面,从而使激发能的分配有利于光系统I。

3. 光系统II捕光叶绿素a/b蛋白复合体在类囊体膜垛叠中的功能及类囊体膜垛叠的生理意义

许多研究已充分证明,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,有分化明显的垛叠的片层区域,即基粒。这样的基粒是绿色植物细胞膜的独特表现。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



(图15) LHCP蛋白磷酸化调节激发能分配的图解

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。

Argyroudi—Akoyungyou等，Arntzen等和匡廷云等先后证明了蚕豆、豌豆和小麦的发育不完善的叶绿体类囊体膜，缺乏捕光叶绿素a/b蛋白复合物 (LHCP)，相应地缺乏基粒。在发育不完善的叶绿体膜转绿的过程中，LHCP的出现，伴随着基粒的垛叠。国内外的研究都已证明了悬浮在低盐介质中的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。Arntzen等认为阳离子诱导了捕光色素蛋白复合物与光系统II反应中心的结合及完整膜上捕光色素蛋白复合物之间的结合，后一过程，是通过两膜之间的横键来达到的。我们在研究中观察到，发育完善的类囊体膜上镶嵌有捕光叶绿素a/b蛋白复合体的叶绿体膜，基粒的垛叠要求阳离子的存在，相反的，发育不完善的类囊体膜，缺乏捕光叶绿素a/b蛋白复合物。即使在阳离子存在的情况下，类囊体膜亦不要发生垛叠。因此，我们认为捕光叶绿素a/b蛋白复合物是引起膜垛叠的一个主导的、带根本性的因素，而在膜系统中保持一定的阳离子浓度则是膜垛叠的一个重要的诱发因素。

4. 内外因素对类囊体膜上叶绿素蛋白复合物结构与功能的调节

(1) 低温对叶绿体膜LHCP蛋白磷酸化调控激发能在两个光系统分配的影响

镶嵌有色素蛋白复合体的叶绿体类囊体膜对温度是极其敏感的。低温对膜上LHCP蛋白磷酸化的影响因材料而异。根据我们实验室的研究玉米经低温处理后，强烈地影响了膜上LHCP的蛋白磷酸化，降低了两个光系统之间激发膜分配的调节。但相同的低温条件下对菠菜LHCP蛋白磷酸化的影响不大。低温对叶绿体膜上LHCP蛋白磷酸化的影响与植物本身的