

才与大豆根毛结合产生根瘤。凝集素在根瘤菌与宿主根部的结合中可能是不可缺少的。最近 Stacey<sup>[28]</sup> 利用 Fahraeus 的载玻片培养法观察大豆根瘤菌与大豆根部的结合, 接种根瘤菌后保温 1 小时可看到根毛表面集结了根瘤菌, 根毛尖端更集中。N-乙酰氨基半乳糖和D-半乳糖抑制根瘤菌与根毛的结合。因此如采用更接近整体情况的实验条件进行研究, 也许可以得到比较一致的结果。

糖结合蛋白在生物体中的作用还很多, 如抑制霉菌生长可能是植物防御系统中的不可缺少的因素; 细胞膜上的糖结合蛋白随细胞的分化而变, 如在鸡胚细胞, 可能在细胞分裂、分化过程中起调节控制作用。可举的例子还很多, 但对糖结合蛋白在这些系统中的作用机理知道得很少, 因此有许多工作需要做。

本文承沈昭文教授提出宝贵意见, 谨此致谢。

### 参 考 文 献

- [1] Ashwell, G. et al.: *Adv. Enzymol.*, **41** 99, 1974.  
 [2] Pricer, W. E. et al.: *J. Biol. Chem.*, **251**, 7539, 1976.  
 [3] Tanabe, T. et al.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 1038, 1979.  
 [4] Paulson, T. C. et al.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 8624, 1977.  
 [5] Schepper-Schafer, J. et al.: *Glycoconjugates*, Vol. 6, p. 386, 1981. Yamakawa, T. et al. ed., Japan Sci. Soc. Press, Tokyo.  
 [6] Novogrodsky, A. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*

- U.S.A.*, **74**, 676, 1977.  
 [7] Prieels, J. P. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **75**, 2215, 1978.  
 [8] Neufeld, E. F. et al.: *Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans*, p. 241, 1979, Lennarz, W. ed., Plenum Press, New York.  
 [9] Achord, D. T. et al.: *Cell*, **15**, 269, 1978.  
 [10] Hubbard, A. C. et al.: *J. Cell Biol.*, **83**, 47, 1979.  
 [11] Stahl, P. et al.: *Cell*, **19**, 207, 1980.  
 [12] Virginia, P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 1019, 1981.  
 [13] Bach, G. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **69**, 2048, 1972.  
 [14] Kapalan, A. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **74**, 2026, 1977.  
 [15] Kawasaki, T. et al.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 6536, 1977.  
 [16] Stahl, P. et al.: *Trend. Biol. Sci.*, **5**, 194, 1980.  
 [17] Kolb, H. et al.: *Biol. Cell*, **36**, 301, 1979.  
 [18] Kolb, H. et al.: *Cell Immunol.*, **40**, 457, 1978.  
 [19] Ofek, I. et al.: *Nature*, **265**, 623, 1977.  
 [20] Salit, I. E. et al.: *J. Exp. Med.*, **146**, 1182, 1977.  
 [21] Sharon, N.: *Glycoconjugate Research*, Vol. I, p. 459, 1979, Gregory, J. D. et al. ed., N. Y. Academic Press.  
 [22] Ray, J. et al.: *Nature*, **279**, 215, 1979.  
 [23] Siu, C. H. et al.: *J. Mol. Biol.*, **100**, 157, 1976.  
 [24] Bartles, J. R. et al.: *J. Biol. Chem.*, **255**, 30, 1980.  
 [25] Bohlool, B. B. et al.: *Science*, **185**, 269, 1974  
 [26] Dazzo, F. B. et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, **539**, 276, 1978.  
 [27] Bal, A. K. et al.: *J. Bacteriol.*, **133**, 1393, 1978.  
 [28] Stacey, G. et al.: *Plant Physiol.*, **66**, 609, 1980.  
 [29] Monsigny, M. et al.: *Biol. Cell.*, **36**, 289, 1979.

[本文于 1982 年 2 月 2 日收到]

## 嗜盐菌中的光能转换

Thomas G. Ebrey

(美国伊利诺斯大学生理和生物物理系)

Ebrey 教授于 1980 年中按中美科学家交流计划来华讲学和短期工作, 在其来华期间曾应我国生物物理学会的邀请举办嗜盐菌紫膜讲习班。此文即 Ebrey 教授回国后应本刊之约所写的一篇综述。

——编者

在缺氧条件下, 嗜盐菌 (*Halobacterium halobium*) 产生一种特殊的膜补片——紫膜, 嵌于

自身的质膜上。人们极感兴趣的是这种新型质膜的三个特性: 一、紫膜只含有菌紫红质这一

种蛋白质,组成高度对称的刚性二维晶格。采用各种物理手段,特别是用电子显微镜得到的分子的精美的电子密度图,给出了关于菌紫红质结构的大量信息(Henderson 和 Unwin, 1975)。二、吸收光的生色团是视黄醛,即视黄色素的生色团。菌紫红质和视色素的生色团都以质子化的希夫碱基与各自的脱辅基蛋白共价键合。已证实,在这两种色素系统中,光的作用使视黄醛的双键之一发生光异构化(Honig等, 1979)。三、菌紫红质通过其光驱动质子泵的作用,能够将光能转化为以质子梯度形式存储起来的化学自由能(参见 Stoeckenius 等的综述, 1979)。

最近,发现嗜盐菌中存在有第二种光能转换过程,这个过程似乎与钠离子被光所驱动,而从细菌内部排出到外部有关(Lindley 和 MacDonald, 1979; Matsuno-Yagi 和 Mukohata, 1980),第二种视黄醛类色素——嗜盐紫红质(halorhodopsin),位于“正常的”细胞质膜上,它可能具有“正常”膜蛋白许多特征;而与这种色素有关的离子和质子的运动,则对理解完整嗜盐菌细胞的功能是很重要的。本文主要讨论嗜盐菌的紫膜,因为从这种不寻常的膜有可能获得光能转换有关性质的详尽结构信息。

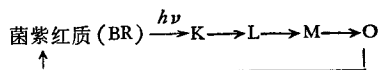
## 1. 结构的研究

迄今为止,分辨率为7 Å的 Henderson-Unwin 类型的结构研究证明,菌紫红质在膜上集成三聚体形式,而每个菌紫红质分子则很可能由跨膜的七个 $\alpha$ 螺旋组成(见 Glaeser 等, 1981)。菌紫红质氨基酸序列的确定(Ovchinnikov 等, 1979; Khorana 等, 1979),导致人们试图把248个氨基酸折叠成电子密度图上所观察到的七个 $\alpha$ 螺旋(例如 Engelman 等, 1980)。由于这种蛋白质七次横跨过膜,因此N端(氨基末端)和C端(羧基末端)将位于膜的两侧,已知C端处于细胞质那一侧(Gerber 等, 1977)。紫膜的其他许多性质,既与膜的细胞质一侧有关,也与膜的细胞外一侧有关(Zingsheim 等, 1978), 1980年, Engelman 等已尝试过,把氨基酸序列

的七个螺旋片段与在电子密度图上观察到的七个螺旋相匹配;在这方面已经用氘标记的氨基酸,通过差值中子衍射测量过(Engelman 和 Zaccai, 1980)。

## 2. 光化学

被菌紫红质的生色团所吸收的光,使色素发生具有亚稳态原初光化学产物的光化学变化,在黑暗中这种原初光产物发生衰变,通过一系列在光谱学上可以区分的中间产物,最终完成恢复到原来的菌紫红质的一个循环。室温下,完成此光循环的时间大约是20ms。光循环中的几种中间产物,业已被 Lozier 等在1975年识别并研究过。这些中间产物出现的顺序如下:



实际上这个变化要比这个简单的图式复杂得多,例如已有足够的证据表明,中间产物M有不止一种形式。中间产物L有部分可以直接衰变为菌紫红质(Lozier 等, 1978; Tokunaga 等, 1981; Kalisky 等, 1981)。

喇曼吸收光谱证明,菌紫质, K、L 和 O 都是质子化的希夫碱基,而 M 则是非质子化的希夫碱基(Lewis 等, 1974; Aton 等, 1977; Tegner 等, 1979; Stockburger 等, 1979; Navua 等, 1981)。对原初光化学过程,已用低温(Lozier 等, 1975; Hurley 等, 1977)和微微秒谱(Applebury 等, 1978)进行过研究。菌紫红质和视色素的原初光化学过程的相似之处有以下几点: (1) 带有一个质子化的希夫碱基; (2) 吸收光谱与母色素相比,向长波方向移动(红移); (3) 原初光产物与母色素之间的光可逆性。这就使人们有充分根据认为,在上述两种过程中,生成原初光化学产物的光效应是相类似的,即光使生色团异构化(Rosenfeld 等, 1977)。从光循环中间产物 L 和 M 提取的生色团表明,它们是 13-顺构象,说明光使得菌紫红质的生色团从全反异构化为 13-顺构象(Pettei 等, 1977; Tsuda 等, 1980; Braiman 和 Mathies,

1980)。这种光致异构化的量子效率是  $0.28 \pm 0.05$ ；正反应和逆反应的效率之和大致等于 1，说明菌紫红质和 K 从一个共同的无势垒激发态跃迁到基态 (Hurley 等, 1977)。原初光化学产物生成之后, 光循环即可自发地进行。驱动光循环及相伴随的质子转移所需的自由能, 一定存贮于原初光化学产物之中。因此, 光的作用是使低自由能色素菌紫红质, 变成高自由能的色素——向红中间产物 (bathointermediate) K (Rosenfeld 等, 1977)。至于 K 的分子性质与菌紫红质有何差别, 以及为何具有高自由能, 则尚未了解。一个特别简单的假说是, 认为以菌紫红质变成 K 为特征的异构化过程, 造成电荷分离而导致 K 的自由能增加 (Honig 等, 1979)。这个假说的基础是: 设想在蛋白质分子内部, 存在一个像生色团的质子化希夫碱基一样的荷电体, 可望其与带负电荷的起平衡离子作用的氨基酸形成电荷对。由于异构作用, 生色团上的氮所带的正电荷与平衡离子的负电荷相分离, 使库仑能增加, 结果生成的亚稳产物 K 的自由能就会比菌紫红质的自由能高。

### 3. 质子泵

菌紫红质的光循环和它的质子泵功能实际上是怎样耦联的, 我们对此一无所知。对质子在紫膜上的释放和重新结合, 也都无法从动力学上将其与光循环中间产物的产生和衰变相联系。举例来说, 当 pH 值低时, 在产生足够数量的非质子化的中间产物 M 之前, 紫膜就释放质子, 而质子重新结合的速度又快于 M 的衰变速度 (参看 Ort 和 Parson, 1978)。此外, 质子的释放和重新结合, 似乎遵从单纯的指数动力学, 而几乎在相同的时间内发生的中间产物 M 的生成和衰变, 则不遵守单纯的指数关系。

进行紫膜上光致质子移动的研究, 使用了几种不同方法制备的样品。当完整的嗜盐菌细胞受到光照时, 在细胞外可以记录到一组复杂的 pH 值的瞬时变化; 其主要特征是, 在瞬时碱化之后, 紧跟着是细胞外介质的酸化, 酸化的持续时间与光照时间等长 (实例见 Bogomolni 等,

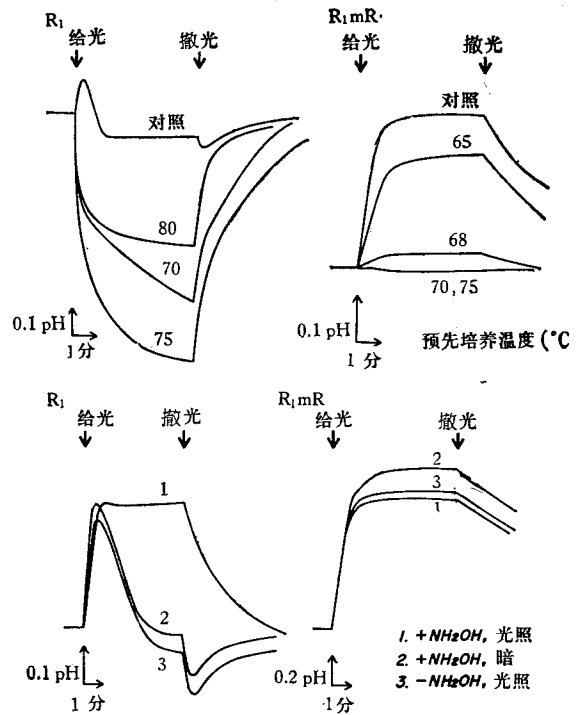


图 1 热或羟胺处理时, 光致 pH 值变化的效应

热处理(上): 野生种  $R_1$  或没有菌紫红质的突变种  $R_{1,mR}$  细胞悬浮液, 在给定的温度下预先培养五分钟, 然后测定 pH 值的变化; 初始 pH 值为 6.9—7.1。

$NH_2OH$  羟胺处理(下):  $R_1$  或  $R_{1,mR}$  细胞悬浮液(37°C 含 0.4M  $NH_2OH$ ), 预先光照两小时, 洗两次, 然后测定 pH 值的变化(曲线 1) 对照组: 将上述带有  $NH_2OH$  的细胞悬浮液置于暗处(曲线 2), 或者不加  $NH_2OH$  的溶液光照两小时(曲线 3); 初始 pH 值为 7.1—7.3, (蒙允许, 图取自 Matsuno-Yagi 和 Mukohata 1980 年的文章)。

1976, 图 1), 持续酸化是由于光引起的质子从细胞内向细胞外输运。用细胞包裹 (重新封好的细胞碎片) 所作的实验, 即光使包裹外介质酸化, 最有力地证明, 紫膜吸收光后, 确实使质子定向移动, 当把紫膜包入磷脂包裹光照后, 介质酸化。电子显微镜察明, 当封闭细胞包裹中, 紫膜面向外侧, 而在重新组成的磷脂-紫膜包裹中紫膜翻转面向内侧, 因此, 对于封闭细胞包裹, 光使质子释放到细胞的外表面, 而在细胞质表面上吸收质子, 菌紫红质分子能够翻转多次, 因此每个菌紫红质分子可以输运多个质子, 净结果是质子外流使外介质酸化, 目前尚不清楚横跨细胞的能量梯度的最终形式, 但有可能是

质子的主动运动转换为钾离子梯度 (Stoeckenius 等, 1979)。

光照完整细胞时所观察到的瞬时碱化现象的本质是什么? 这是个更难解答的问题。现已提出几种假说。在完整细胞中观察到的碱化, 似乎取决于两个不同的过程: 在标准的封闭细胞包裹样品中, 易被观察到的只是其中之一 (Lindley 和 Mac Donald, 1979), 在标准的封闭细胞包裹样品中观察到的瞬时碱化, 被认为是由于光致  $H^+$  从包裹中逐出, 结果使膜电位迅速变化, 通过电导致的  $Na^+/H^+$  反向载体, 产生向内钠离子流, 净效应是质子流。因此, 在光致质子泵占优势使外介质中形成酸化之前, 外介质先碱化 (Lanyi 和 Mac Donald, 1976; Bogomolni 等, 1976), 在某些选择的封闭细胞包裹样品中 (Lindley 和 Mac Donald, 1979), 也象在完整细胞中一样, 可以观察到吸收质子的第二种类型, 这种碱化是由于嗜盐菌的第二种色素—嗜盐菌紫红质, 它能利用光能主动地将钠离子转移到细胞外面, 由于带正电的钠离子排到细胞外, 使膜电位变得更负, 对应于这种变化, 质子就流入细胞 (Lindley 等, 1979, Matsuno-Yagi 和 Mukohata, 1980; Lanyi, 1980), 采用几种突变种和化学处理方法, 有助于将碱化和酸化区分开, 前者是由于钠泵而形成质子的被动流动, 后者则取决于光驱动的菌紫红质的质子泵。1977年, Matsuno-Yagi 和 Mukohata 发现一种没有菌紫红质的突变细胞, 光照时介质只有碱化而没有酸化。野生种细胞经羟胺处理后, 也能使酸化消失, 原因可能是菌紫红质被选择性地破坏了。另外, 把完整细胞在  $70^{\circ}C$  左右加热数小时, 看来由于钠泵色素变性而保留了菌紫红质, 因此, 瞬时碱化消失, 只能观察到持续的酸化效应 (Matsuno-Yagi 和 Mukohata, 1980)。

因为光循环始于带有质子化希夫碱基的菌紫红质, 而在光循环过程进行时, 中间产物 M 的生色团变为非质子化, 所以这个领域中的一些工作者强烈地倾向于, 被泵出的质子就是希夫碱基上的质子。如果确实如此, 那么要求的理

想配比是, 在此光循环过程中, 每个 M 所泵出的质子不超过一个。Ort 和 Parson 1979 年的研究首先指出, 这个想法可能并不准确。他们二人证明, 在紫膜片样品中, 每个 M 释放出的质子数 (0.8—1.4) 取决于盐的浓度。后来对紫膜 (包括磷脂包裹和整细胞) 的研究, (Govindjee 等, 1980; Bogomolni 等, 1980; Renard 和 Delmelle, 1980), 确证这些实际上被泵出而穿过细胞膜的质子, 并不是恰好在膜的同一侧被释放和重新结合的 (“玻尔” 质子, 参见 Eisenbach 和 Caplan, 1979)。因此, 在生理条件下, 每个 M 能泵出的质子就超过一个, 这个出人意料的化学计量算法 (Stoichiometry) 结果, 使得希夫碱基质子在泵出过程中的作用模糊不清了。而对解释高自由能中间产物 K 的形成及如何导致运输一个以上质子穿过细胞膜的机理, 无疑还需要更进一步的假说 (例如 Kalisky 等, 1981)。

有关光循环过程中, 光引起菌紫红质的构象变化和氨基酸侧链改变的报道已很多。例如, Becher 等, 1978; Bogomolni 等, 1978。有些模型把氨基酸 (酪氨酸) 的离子化作为泵作用过程的一部分 (参见 Kalisky 等, 1981)。最近有人提出, 菌紫红质的 C-端 (大约在其 21 个氨基酸端的尾部) 对质子泵起特殊的作用, (R. Govindjee, K. Ohno, T. Ebrey, 1981)。他们发现, 用蛋白水解酶截去菌紫红质的 C 末端, 则释放质子的量子效率下降为原来的一半, 而光循环不变。这说明菌紫红质尾部的 C 末端, 部分地担负着保证紫膜质子泵有高量子产额的功能。

## 参 考 文 献

- Appleybury, M. et al.: *Biophys. J.*, **23**, 375—382, 1978.  
Aton, B. et al.: *Biochemistry*, **16**, 2995—2999, 1977.  
Becher, B. et al.: *Biochemistry*, **17**, 2293—2300, 1978.  
Bogomolni, R. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **440**, 68—88, 1976.  
Bogomolni, R. et al.: *Biochemistry*, **17**, 1037—1041, 1978.  
Bogomolni, R. et al.: *Biochemistry*, **19**, 2152—2159, 1980.  
Braiman, M. et al.: *Biochemistry*, **19**, 5421—5428, 1980.  
Eisenbach, M. and Caplan, S. R.: *Current Topics in Membranes and Transport*, Vol. **12**, pp. 165—247,

1979.

- Engelman, D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 2023—2027, 1980.
- Engeliman, D. and Zaccari, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 5894—5898, 1980.
- Gerber, G. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 5426—5430, 1977.
- Glaeser, R. et al.: *Biophys. J.*, **33**, 218a, 1981.
- Govindjee, R. et al.: *Biophys. J.*, **30**, 231—242, 1980.
- Govindjee, R. et al.: *Abstracts, Am. Soc. Photobiol.*, 1981.
- Henderson, R. and Unwin, P. N.: *Nature*, **257**, 28—32, 1975.
- Honig, B. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 2503—2507, 1979.
- Hurley, J. et al.: *Nature*, **270**, 540—542, 1977.
- Kalisky, D. et al.: *Biochemistry*, 1981.
- Khorana, M. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 5046—5050, 1979.
- Lanyi, J. and MacDonald, R.: *Biochemistry*, **15**, 4608—4614, 1978.
- Lewis, A. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 4462—4466, 1974.
- Lindley, E. and MacDonald, R.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **88**, 491—499, 1979.
- Lozier, R. et al.: *Biophys. J.*, **15**, 955—962, 1975.
- Lozier, R. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **440**, 545—556, 1976.
- Lozier, R. et al.: in *Energetics and Structure of Halophilic Microorganisms* (S. R. Caplan and M. Ginzburg, Eds). pp. 123—142. Elsevier, New York, 1978.
- Matsuno-Yagi, A. and Mukohata, Y.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **199**, 297—303, 1980.
- Matsuno-Yagi, A. and Mukohata, Y.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **78**, 237—243, 1977.
- Narva, D. et al.: *Photochem. Photobiol.*, (in press), 1981.
- Ort, D. and Parson, W.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 6158—6164, 1978.
- Ort, D. and Parson, W.: *Biophys. J.*, **25**, 341—354, 1979.
- Ovchinnikov, Y. et al.: *FEBS Letters*, **100**, 219—224, 1979.
- Pettei, M. et al.: *Biochemistry*, **16**, 1955—1959, 1977.
- Renard, M. and Delmelle, M.: *Biophys. J.*, **32**, 993—1006, 1980.
- Rosenfeld, T. et al.: *Pure Appl. Chem.*, **49**, 341—351, 1977.
- Stockburger, M. et al.: *Biochemistry*, **18**, 4886—4900, 1979.
- Stoeckenius, W. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **505**, 215—278, 1979.
- Terner, J. et al.: *Biophys. J.*, **26**, 527—542, 1979.
- Tokunaga, T. and Yoshizawa, T.: in press, *Biophys. Struct. Mech.*, 1981.
- Tsuda, M. et al.: *Nature*, **287**, 351—353, 1980.
- Zingsheim, H. et al.: *J. Mol. Biol.*, **123**, 275—278, 1978.

[本文于1982年1月5日收到]

## 光合作用的热力学含义\*

黄惠慈

(中国科学院生物物理研究所)

一切生物都需要能流维持其生命活动。其中一种极重要的能流,就来源于太阳辐射。如果把一切生物,包括植物和动物,当作一个不可分割的整体来看,那么太阳辐射就可说成是总的能流来源了。作者希望通过本文来说明,(1)生命物质必须处于何种状态,(2)太阳辐射必须满足什么条件,光合作用才能进行,即在什么条件下能流才能为生物所利用,以维持其生命活动。但作者并不强调光合作用的特殊性。

首先,让我们尝试着去理解生命状态是什么。创造生命的途径大致可归纳为如下三条:(1)由生命制造生命。这是目前自然产生生命

的唯一方法,即由细胞制造细胞,由DNA复制DNA,由RNA制造蛋白质等等。(2)人工合成生命。即从 $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ 等小分子逐步合成各种氨基酸,核苷酸,ATP,甚至具活性的类蛋白质,蛋白质和核酸。(3)生命在早期的地球上由无生命物质逐步合成。

途径(3)的机理已不得而知。但我们从今日地球表面温和环境中不再由无机分子自发合成生命这一事实来看,可推测当初的地球情况和今天大不相同。生物学家们猜测,当时地球表

\* 本文为作者在1981年10月27日光合作用原过程学术讨论会上的发言,经修改而成。