

藻胆素的构象变化及其对光吸收的影响*

郑锡光 汪河洲 余振新 高兆兰

朱晋昌 蒋丽金

(中山大学超快速激光光谱学国家重点实验室, 广州 510275)

(中国科学院感光化学研究所, 北京 100101)

摘要 研究藻胆蛋白中藻胆素构象的变化对藻胆素光谱性质的影响, 在光合作用原初过程的研究中有重要意义. 由于四吡咯发色团构象的非同源性随机涨落, 藻胆素的电子激发态能级呈类 Boltzmann 分布; 藻胆素的电子-振动吸收跃迁谱带线型因子可描述为与构象随机分布因子有关的卷积形式; 藻胆素构象的随机分布导致电子-振动吸收跃迁谱带的不对称增宽.

关键词 光合作用, 藻胆素, 构象, 谱带增宽

在红藻和蓝绿藻的光合作用天线系统中, 藻胆素是吸收光能和传递激发能的重要光合色素^[1]. 与叶绿素 (Chl)、细菌叶绿素 (BChl) 和胡萝卜素 (Car) 等其他光合色素不同, 藻胆素-蛋白质超分子复合物 (即藻胆蛋白) 中的藻胆素为延展的开链线型四吡咯基团, 并以共价键——硫醚键与多肽链相连接. 迄今已知的藻胆素仅有 4 种, 即藻红胆素 (phycoerythrobilin)、藻蓝胆素 (phycocyanobilin)、藻脲胆素 (phycourobilin) 和藻紫胆素 (phycobiliviolin), 其基本化学结构相同^[2-4]. 在不同的藻胆蛋白中, 藻胆素的种类和含量均不同. 对于游离的开链四吡咯环分子体系, 晶体结构分析表明, 其稳定的立体化学结构为卷曲的螺旋环型结构^[5]. 藻胆蛋白中, 藻胆素的构象较易受蛋白质环境的影响, 与其他光合色素比较显得较为柔顺^[6]; 在多聚的藻胆蛋白中, 相邻近的藻胆素之间亦存在较强的相互作用^[7]. 发色团-蛋白质之间以及发色团-发色团之间较强的相互作用可影响藻胆素的光谱性质和光合作用天线系统中的原初能量传递动力学过程.

在藻胆蛋白中, 藻胆素与肽链上的氨基酸残基之间的相互作用归因于它们之间的范德华力和氢键等^[8]. 肽链的调控微扰作用, 使藻胆素的线型四吡咯结构出现构象涨落, 从而导

致能级微扰移动和光学跃迁谱带非同源性不对称展宽等效应. 这已被共振相干反斯托克斯拉曼散射 (CARS) 光谱实验结果所证实^[6]. 在可见光频域内, 藻胆素的构象变化对光学跃迁的影响主要是以邻近肽链对四吡咯 π 共轭电子体系能级结构的微扰而实现的.

本文研究藻胆素构象的随机涨落效应对藻胆素光学吸收的影响. 结果表明: 在藻胆蛋白中, 由于藻胆素四吡咯发色团构象的非同源性随机涨落, 藻胆素的 S_1 电子激发态能级呈类 Boltzmann 分布; 藻胆素的电子-振动吸收跃迁谱带线型因子可描述为微扰前线型因子与构象随机分布因子的卷积形式; 藻胆素构象的随机涨落导致藻胆素电子-振动吸收跃迁谱带明显的不对称展宽.

1 理论部分

在不同的藻胆蛋白中, 共振拉曼光谱、CARS 光谱和光化学烧孔 (hole-burning) 光谱实验结果表明, 藻胆素的构象变化主要发生于 C_{15} 甲川桥键上 (S_1 电子激发态)^[1]. 据此, 我们仅考虑 S_1 态藻胆素在 C_{15} 甲川桥键处的构象变化. 令 ζ 为藻胆素的四吡咯结构中 C 环与 D 环之间的平面角 (图 1), 并假设 ζ 近似地

*国家自然科学基金及广东省自然科学基金资助项目.

收稿日期: 1995-10-26, 修回日期: 1996-04-23

按正态分布 (Gauss 分布) 律随机分布. ζ 的变化对四吡咯的 π 电子共轭体系的能量有影响. 根据分子力学和量子化学计算结果, 共轭体系 π 电子的共轭能量 E_π 与 ζ 有如下关系^[9]:

$$E_\pi(\zeta) = E_\pi(\zeta_0)\cos^2(\zeta - \zeta_0) \quad (1)$$

其中 ζ_0 为最可几平面角, 对于线型延展的藻胆素, $\zeta_0 \approx 0$. 体系的总能量 E 为

$$\begin{aligned} E &= E_0 - E_\pi \\ &= E_0 - E_\pi(\zeta_0)\cos^2(\zeta - \zeta_0) \end{aligned} \quad (2)$$

E_0 为 σ 骨架的总能量. 由于周围肽链的约束, ζ 足够小. 对上式作关于 ζ 的 Taylor 展开:

$$\begin{aligned} E &= E_0 - E_\pi(\zeta_0)[1 - (\zeta - \zeta_0)^2] \\ &= E_1 + E_2(\zeta - \zeta_0)^2 \end{aligned} \quad (3)$$

式中 $E_1 = E_0 - E_\pi(\zeta_0)$, $E_2 = E_\pi(\zeta_0)$.

若 ζ 满足正态分布, 即

$$g(\zeta) = g(\zeta_0)\exp[-\alpha^2(\zeta - \zeta_0)^2] \quad (4)$$

α 为与 ζ 无关的常数, 则易推导 E 有如下分布:

$$g(E) = g_0\exp(-\beta E) \quad (5)$$

其中 $g_0 = g(\zeta_0)\exp(\beta E_1)$, $\beta = \frac{\alpha^2}{E_2}$ 因 $g(E)$ 与 Boltzmann 分布形式相似, 我们称之为类 Boltzmann 分布. $g(E)$ 虽然亦与温度有关, 但并不是热力学意义上的 Boltzmann 分布.

记 $|G\rangle$ 为电子基能态, $|E_\zeta\rangle$ 为对应于任一构象 (相应地有 ζ 值) 下的电子激发态. 由于 ζ 的随机分布, 不同的 $|E_\zeta\rangle$ 形成一个系统. 对于该系统中的每一系统 $|E_\zeta\rangle$, 当其作为电子吸收跃迁终态时, 其谱带存在同源性展宽 (由热振动态分布引起) 和 Doppler 展宽, 记其线型因子为 $h(\omega)$, 其中 ω 为跃迁波数.

宏观上观察到的谱带线型因子 $f(\omega)$ 应是 $h(\omega)$ 在整个系统中的平均量. 对于同一电子基态 $|G\rangle$,

$$\begin{aligned} f(\omega) &= \sum_{\omega'} h(\omega + \omega_0 - \omega')g(\omega') \\ &\approx \int_{\omega_0}^{\infty} g(\omega')h(\omega + \omega_0 - \omega')d\omega' \\ &= g(\omega) \otimes h(\omega + \omega_0) \end{aligned} \quad (6)$$

上式中 ω_0 对应于最可几跃迁 $|G\rangle \rightarrow |E_{\zeta_0}\rangle$. 由上式可见, 考虑了藻胆素电子激发态构象的随机分布后, 实际所观察到的电子-振动吸收跃迁谱带线型因子可描述为 $h(\omega)$ 与构象随机分布因子 $g(\omega)$ 卷积形式.

我们取 $h(\omega)$ 为如下 Gauss-Lorentz 式:

$$h(\omega) = \begin{cases} h(\omega_m)\exp[-\gamma_1^2(\omega - \omega_m)^2] & (\omega \geq \omega_m) \\ h(\omega_m)\frac{1}{1 + \gamma_2^2(\omega - \omega_m)^2} & (\omega < \omega_m) \end{cases} \quad (7)$$

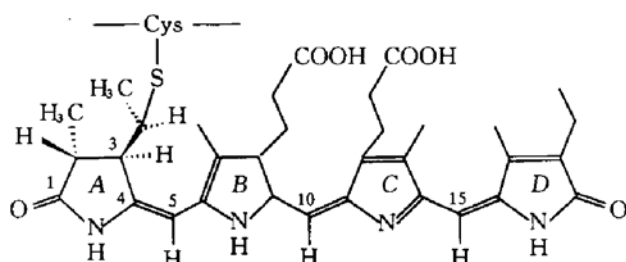


图 1 藻蓝胆素的构象

式中 ω_m 为 $h(\omega)$ 取极大时所对应的波数, γ_1 和 γ_2 为与线型宽度 $\Delta\omega$ 有关的常数. 取 $h(\omega)$ 为如上混合函数形式的原因与 Franck-Condon 原理有关^[10]. 根据 Franck-Condon 原理, 在一般的分子中, 电子在基态和激发态之间跃迁时, 原子核坐标可假设不变. 根据电子基态和激发态上原子核平衡坐标改变的不同程度, 电子跃迁所涉及的电子-振动态数目不同. 当电子自基态向激发态上单一电子-振动态跃迁时, 由于热振动和 Doppler 展宽, 电子吸收谱带应有 Gauss 线型; 但若电子跃迁涉及电子激发态的若干电子-振动带, 则属于同一电子跃迁的电子-振动带, 其带头轮廓近似呈 Lorentz 线型. 如果到电子激发态上最低振动态的跃迁位于电子-振动跃迁带的中心 (ω_m 处) 附近, 则谱带线型轮廓最高处的长波侧, 应归属于到单一的电子-振动态的跃迁, 因而近似有 Gauss 线型.

2 结果与讨论

为分析 S_1 态藻胆素的四吡咯发色团构象

非同源性随机分布对光学吸收的影响, 我们根据 (5) ~ (6) 式进行了电子-振动吸收谱带线型因子的模拟计算. 对线型因子进行归一化时, 计算结果决定于 γ_1 , γ_2 , ω_0 和 β 等参数. 取 $\omega_0 = 16\,129\text{ cm}^{-1}$ (对应于波长 620 nm), 并假定 Gauss 线型和 Lorentz 线型的半高全宽度 (hmfwh) $\Delta\omega = 2000\text{ cm}^{-1}$, 则 $\gamma_1 = \frac{1}{\Delta\omega} \sqrt{\ln 2} = 4.16 \times 10^{-4}\text{ cm}$, $\gamma_2 = \frac{2}{\Delta\omega} = 1.00 \times 10^{-3}\text{ cm}$. 由于 β 反映了藻胆素激发态构象变化的难易程度 (β 越小, 构象变化越容易), 我们选取不同的 β 值进行计算, 以资比较. 计算结果如图 2 所示. 根据图 2 所示的结果, 可以看出: 由于藻胆素电子激发态的四吡咯发色团构象的非同源性随机变化, 电子-振动吸收谱带的线型表现出明显的不对称增宽; 而且 β 越小即藻胆素构象变化越容易时, 谱带增宽越明显.

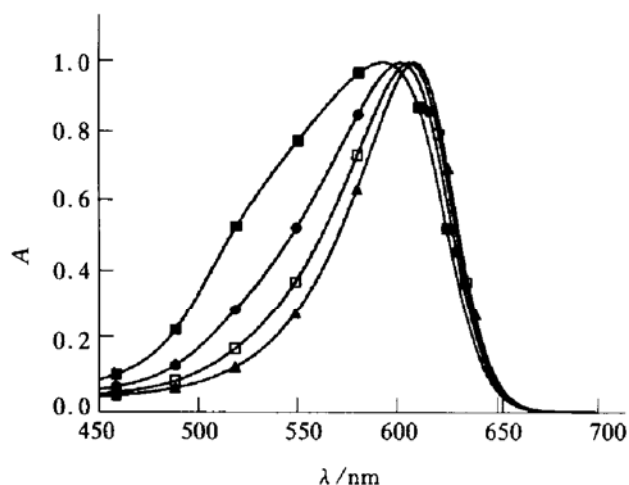


图 2 吸收谱线型的非同源性增宽

■—■: $\beta = 4.0 \times 10^{-4}\text{ cm}$; ●—●: $\beta = 8.0 \times 10^{-4}\text{ cm}$; □—□: $\beta = 1.2 \times 10^{-3}\text{ cm}$; ▲—▲: $\beta = 1.6 \times 10^{-3}\text{ cm}$.

图 3 为对藻胆素在可见光区内吸收的一例实验光谱的拟合. 实验材料为提取自条斑紫菜 (*Spirulina platensis*) 的别藻蓝蛋白 (APC) 的 α 亚基, 分离与提纯方法如文献 [11] 所述; 吸收光谱在 $5.0 \times 10^{-2}\text{ mol/L K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4 + 1\text{ mol/L NaSCN}$ 溶液 ($\text{pH} \sim 7.0$)

中以 Hewlett Packard 8451A 阵列二极管分光光度计测量得到. APC 的 α 亚基仅含一个藻胆素——藻蓝胆素, 因而无需考虑不同藻胆素吸收的叠加效应. 根据 APC α 亚基主吸收峰的 Gauss 轮廓, 确定 $\omega_0 = 16\,185\text{ cm}^{-1}$, $\Delta\omega = 1102\text{ cm}^{-1}$, 并调节 β 使理论谱线与实验谱线的标准偏差最小. 当 $\beta = 5.02 \times 10^{-4}\text{ cm}$ 时, 计算结果很好地逼近实验谱线. 以往在分析藻胆素或藻胆蛋白的吸收光谱时, 仅是简单地将之解叠为二或多个 Gauss 成分, 并不加证明地把各 Gauss 成分归属为 0-0' 跃迁或振动结构和非同源性构象分布效应^[10]. 此处, 我们在较严格的物理基础上很自然地得到了藻胆素吸收光谱的振动结构和非同源性构象分布的不对称增宽效应.

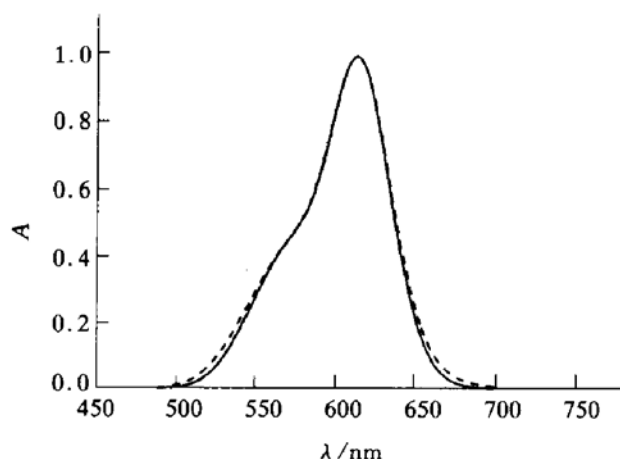


图 3 APC α 亚基的吸收光谱

—: 实验曲线; ---: 理论曲线.

综上所述, 我们得到如下若干结果: a. 在藻胆素 S_1 电子激发态上, 由于四吡咯发色团构象的非同源性随机分布, 藻胆素的电子激发态能级表现出类 Boltzmann 分布; b. 藻胆素自电子基态向 S_1 态跃迁时, 电子-振动吸收谱带线型因子可描述为未考虑构象变化时的谱带线型因子与构象随机分布因子的卷积形式; c. 藻胆素构象的随机分布导致电子-振动吸收跃迁谱带显著的不对称增宽.

由于藻胆蛋白在可见光频域内主要吸收 450~650 nm 的光, 以弥补 Chl a 和 Chl b 的吸收空白, 藻胆素构象的非同源性变化所引起

的电子吸收谱带不对称增宽,使藻类的光合作用天线系统在蓝、绿光区的更宽频域内吸收光子能量、更充分利用太阳光;同时,电子跃迁谱带增宽亦增大了发色团之间的光谱重叠积分,有利于发色团间的能量传递。但同时,由于藻胆素的开链四吡咯骨架较为柔顺,其构象涨落使无辐射弛豫跃迁几率增大。这可能是藻胆素的荧光量子产率比叶绿素略小的主要原因之一。

注意到高等植物中的天线色素叶绿素和胡萝卜素为闭链四吡咯体系。与藻胆素的开链四吡咯体系比较,叶绿素和胡萝卜素的分子骨架更加刚性。捕光天线系统中四吡咯体系的化学结构的演化,抑或是自然界中植物进化的一个象征。

在应用方面而言,由于发色团构象比较敏感地受蛋白质环境的影响,若能利用光谱学方法测量发色团构象的变化,则可由此判别不同的蛋白质环境,并有可能应用于蛋白质的标识。

参 考 文 献

- 1 van Grondelle R, Dekker J P, Gillbro T *et al.* Biochim Biophys Acta, 1994; **1187**: 1
- 2 Holzwarth A R. Physiol Plant, 1991; **83**: 518
- 3 Glazer A N. Biochim Biophys Acta, 1984; **768**: 29
- 4 Glazer A N. Biochim Biophys Acta, 1982; **36**: 173
- 5 Kratky C, Jorde C, Falk H *et al.* Tetrahedron, 1983; **39** (11): 1859
- 6 Baumann E, Schneider S, Gege P *et al.* Ber Bunsenges Phys Chem, 1989; **93**: 312
- 7 Zheng X G, Zhao F L, Wang H Z *et al.* Proc SPIE-Int Soc Opt Eng, 1994; **2137**: 570

- 8 Schirmer T, Bode W, Huber R. J Mol Biol, 1987; **196**: 677
- 9 Falk H, Müller N. Tetrahedron, 1983; **39** (11): 1875
- 10 Csatorday K, MacColl R, Csizmadia *et al.* Biochemistry, 1984; **23**: 6466
- 11 林启山, 张建平, 曾繁杰等. 植物生理学报, 1992; **18** (3): 253

Conformation Variation and Its Effects on Optical Absorption of Phycobilin. Zheng Xiguang, Wang Hezhou, Yu Zhenxin, Gao Zhaolan (State Key Laboratory of Ultrafast Laser Spectroscopy, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China); Zhu Jinchang, Jiang Lijin (Institute of Photographic Chemistry, Academia Sinica, Beijing 100101, China).

Abstract Investigation into effects of conformation variation on optical absorption of phycobilins is important in photosynthesis research. It is found that the electronic excited-state of phycobilin exhibits a quasi-Boltzmann distribution due to inhomogeneous random variation of its conformation, and that the envelope of the vibronic absorption transition band can be described as convolution with the inhomogeneous random distribution of conformation variation. Inhomogeneous random distribution of phycobilin conformation variation results in asymmetric broadening of vibronic absorption transition band.

Key words photosynthesis, phycobilin, conformation, spectropic band broadening

白细胞介素-2 活化 DNA 结合因子的研究

朱锦芳 郑仲承 孙兰英 郭丽英 J. THEZE¹⁾ 刘新垣

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 用凝胶阻滞分析的方法,发现鼠T淋巴细胞系CTLL-2在白细胞介素-2(IL-2)刺激下可活化

¹⁾Pasteur Institute, Paris. 收稿日期: 1995-10-26, 修回日期: 1996-03-20