

植物光系统 II 捕光过程的超分子结构基础*

李安节^{1,2)} 柳振峰^{1,2)**}

¹⁾中国科学院生物物理研究所, 中国科学院生物大分子科教融合卓越中心, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101;

²⁾中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 光系统 II (photosystem II, PS II) 是位于植物、藻类和蓝细菌等放氧光合生物类囊体膜上的重要超分子复合物, 它可通过捕获光能用于激发反应中心的电荷分离并驱动电子传递过程, 在常温常压下可将水分子裂解产生氧气和质子。植物光系统 II 的外周存在主要和次要捕光复合物 II (major and minor light-harvesting complex II, LHC II), 它们负责吸收光能并向光系统 II 传递激发能, 并且还参与非光化学淬灭和状态转换相关的捕光调节过程。近年来, 围绕光系统 II 和 LHC II 的结构生物学研究取得了一系列重要进展, 本文总结了 PS II、LHC II 和二者共同组成的 PSII-LHCII 超级复合物的结构生物学研究历程以及最新进展, 并对该领域的未来研究方向做出展望。

关键词 光系统 II, 捕光复合物 II, 结构生物学, 膜蛋白, 光合作用

学科分类号 Q71, Q632, Q615

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0221

1 概述

植物、藻类和蓝细菌等光合作用生物通过一系列复杂而巧妙的光物理、光化学和生物化学反应过程将光能转化为有机化合物中的化学能。光合作用的产物是构筑地球上大多数生命体的主要物质来源, 其中储存的化学能也是生命体赖以生存的重要能量来源。据统计^[1], 光合作用每年产生净重约 1 000 亿吨的生物量, 这相当于世界上人口总重量的 100 倍, 等价于 100 TW 的能量存储速率。在植物类囊体膜上有两个光系统负责捕获和转化光能, 分别为光系统 II (photosystem II, PS II) 和光系统 I (photosystem I, PS I)。这两个光系统通过效率接近 100% 的原初光反应过程, 将光子的能量转化为激发态叶绿素中的化学能。它们通过反应中心的电荷分离实现能量的转换, 并在电子传递的过程中产生跨膜质子浓度梯度和还原力 NADPH^[2]。PS II 中的放氧复合物(oxygen evolving complex, OEC)将水分子裂解并释放出氧气和质子, 从水分子中抽提出的电子经由 PS II、质体醌库(plastoquinone pool, PQ pool)、细胞色素 *b₆f*、质体蓝素(plastocyanin, PC), 并最终由 PSI 传递给铁氧化还原蛋白

(ferredoxin, Fd)。在铁氧化还原蛋白 -NADPH 氧化还原酶(ferredoxin-NADPH oxidoreductase, FNR)的作用下, NADP⁺ 被还原为 NADPH。在光合作用电子传递过程中, 质子在类囊体腔侧累积, 形成跨膜质子浓度梯度, 驱动 ATP 合成酶合成 ATP。光反应过程中所产生的 NADPH 和 ATP 为暗反应过程提供还原力和能源, 将二氧化碳固定并转化为生物可利用的糖类物质。

PS II 核心复合物通常以二体形式发挥生理功能, 每个单体中包含膜内在的核心捕光天线复合物 CP47 和 CP43、结合了电子传递链辅因子的核心亚基 D1 和 D2、低分子质量亚基和膜外周亚基(extrinsic subunits)。CP47 与 CP43 分别由 *psbB* 和 *psbC* 基因编码, 均含有 6 条跨膜 α 螺旋, 并都在跨膜螺旋 V 和 VI 之间存在一段较大的腔侧环状区

* 国家重点研发计划项目资助(2017YFA0503702)、中国科学院 B 类战略性先导科技专项(XDB08020302)和前沿科学重点研究项目(QYZDB-SSW-SMC005)、国家自然科学基金(31670749)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-64881481, E-mail: liuzf@sun5.ibp.ac.cn

收稿日期: 2018-08-10, 接受日期: 2018-08-20

(luminal loop). CP43 与 D1 邻近, 其腔侧区上有一段 3_{10} 螺旋包含高度保守的基序 GGETMRFWD^[3], 其中的 Glu354 残基与 Mn_4CaO_5 簇直接配位, 而 Arg357 则在第二配位层起到间接稳定 OEC 的作用^[4]. CP47 的跨膜区和基质区与邻近的 D2 相互作用, 其腔侧结构域连同 CP43、D1 和 D2 的腔侧结构域以及外周亚基一起将 OEC 与外界溶液隔离, 为 OEC 介导水的氧化反应提供理想和可控的微环境. CP47 和 CP43 亚基中都结合有众多的叶绿素 *a* (Chl *a*) 和 β 胡萝卜素(BCR)分子, 这些色素分子共同组成 PS II 的核心捕光天线系统, 为反应中心 D1 和 D2 传递光能. D1 和 D2 亚基分别由 *psbA* 和 *psbD* 基因编码, 二者氨基酸序列具有大约 53% 的相似性. D1 与 D2 亚基均含有 5 条跨膜 α 螺旋, 其中结合着 PS II 反应中心和电子传递载体, 包括负责氧化 OEC 的 Tyr_Z(Y_Z), 由“特殊叶绿素对” P_{D1} 和 P_{D2} 共同构成的 P680, “辅助叶绿素” Chl_{D1} 和 Chl_{D2}, 去镁叶绿素 Pheo_{D1} 和 Pheo_{D2}, 以及质体醌 Q_A 和 Q_B. 此外 D1、D2 中分别在靠近 PsbI 和 PsbX 的位置还结合有不参与原初电子传递的外周叶绿素 Chl_{ZD1} 和 Chl_{ZD2}. 虽然电子传递载体都是成对出现的, 并且在空间排布上也呈现出偶二次旋转对称性, 但实际上仅有 D1 一侧的辅因子具有介导原初电子传递的活性^[5]. 这可能是因为 D2 侧靠近 OEC 的酪氨酸残基 Tyr_D(Y_D) 处于较为疏水的环境中, 使其在生理条件(pH6.5)下被氧化后形成的中性自由基 Y_D· 比另一侧的 Y_Z· 更稳定, Y_D· 被 OEC 还原的时间比 Y_Z· 被还原的时间更长^[6]. 目前普遍接受的原初光反应的电子传递路线为: P680 受到有效激发后电子由类囊体腔侧向基质侧传递, 经由 Chl_{D1}、原初电子受体 Pheo_{D1}、质体醌 Q_A, 最终传递给质体醌 Q_B 并扩散到类囊体膜中. P680 被激发后形成氧化性非常强的 P680⁺, 它通过 Y_Z 从 OEC 得到电子重新被还原为 P680. D2 侧的电子传递载体可能通过次级电子传递参与 PS II 的光保护过程^[7].

PS II 核心复合物中存在大量的低分子量亚基, 这些亚基中绝大多数都具有单次跨膜螺旋. 低分子量亚基的作用主要是结合辅因子和稳定 PS II 核心复合物. PsbE 和 PsbF 各提供一个组氨酸残基与血红素分子配位, 共同构成细胞色素 *b559* (cytochrome *b559*, Cyt *b559*). Cyt *b559* 是一个具有氧化还原活性的亚基, 不参与原初的电子传递过程, 其功能可能是参与次级电子传递过程, 从而保

护 PS II 免受光损伤^[8-9]. 在 PS II 的光保护过程中, 它可能承担着氧化 PQH₂ 并将电子传递给 P680⁺ 的作用, 通过一个围绕 PS II 的“无效”循环电子传递来耗散过剩的光能^[10]. 此外, PsbE 和 PsbF 中任意一个亚基的缺失将导致 PS II 核心复合物的解体^[11-12]. 其余低分子量亚基的功能绝大多数与 PS II 的组装和损伤修复有关. 例如, *psbH* 基因缺失的集胞藻细胞(*Synechocystis* PCC 6803)中 CP47 无法与反应中心复合物(D1-D2-Cyt *b559*)正常组装, 对光损伤变得更加敏感^[13], 在弱光下其光抑制的解除和 D1 蛋白的周转速率也比野生型低^[14]. *psbI* 基因的缺失不会影响反应中心的装配, 但是会导致 CP43 亚基与反应中心解离^[15]. PsbJ 与 Cyt *b559* 的两个亚基共同围绕成一个 PQH₂ 的扩散通道, 该通道将 D2 蛋白上的 Q_B 位点与外界的疏水磷脂膜环境相连^[16]. PsbJ 还参与介导外周亚基 PsbP 和 PS II 核心复合物之间的组装^[12].

在高等植物和绿藻中, 负责稳定 OEC 的外周亚基为 PsbO、PsbP、PsbQ 和 PsbR, 而在蓝藻为 PsbO、PsbV、PsbU、CyanoP 和 CyanoQ, 在红藻则是 PsbO、PsbP、PsbV、PsbU 和 PsbQ'. 虽然有些外周亚基(如 PsbR、CyanoP 和 CyanoQ 等)在已报道的晶体结构或冷冻电镜结构中未被检测到, 但是有遗传学和生物化学证据证明它们的存在^[17-19].

PsbTn 也是一种结合在 PS II 上的膜外周亚基, 并且只存在于真核光合生物中^[20], 其具体功能目前尚不清楚. 以拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)PsbTn 的基因和氨基酸序列为模板进行同源序列检索, 返回的结果显示 PsbTn 广泛存在于主要被子植物(angiosperms)中, 而在原核光合生物、藻类和低等植物(如苔藓等)中暂未发现其同源蛋白质.

放氧光合生物的光系统 II 捕光复合物由核心天线(CP47 和 CP43)和外周天线两部分组成. 虽然核心天线在进化过程中是高度保守的^[21], 外周的捕光天线系统在不同的放氧光合生物中存在较大的差异. 蓝藻和红藻的外周捕光天线是一种名为藻胆体(phycobilisome, PBS)的超分子机器^[22], 该复合物位于类囊体胞质侧/基质侧的膜外周表面, 其结构组成含有以下几个部分: 处于核心位置的别藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC)和外周杆状天线藻青蛋白(phycoyanin, PC)、藻红蛋白(phycoerythrin, PE)和藻红蓝蛋白(phycoerythrocyanin, PEC). 藻胆体中负责吸收和传递光能的色素分子为胆色素(bilin), 光能经由处于最外侧的 PE 和 PEC 依次传

递给 PC、APC, 并进一步传递给光系统反应中心. Zhang 等^[23]于 2017 年解析了红藻中分子质量高达 16.8 MU 的藻胆体的 3.5Å 分辨率结构, 详细阐释了藻胆体中各部分之间和连接蛋白在藻胆体组装中的机制. 在绿藻和高等植物中, PS II 的外周捕光天线复合物为内在膜蛋白-色素复合物, 被命名为捕光复合物 II (light-harvesting complex II, LHC II)^[24]. LHC II 中负责吸收和传递光能的色素为 Chl *a* 和 Chl *b*, 因此 LHC II 也称名为 Chl *a/b* 结合蛋白. LHC II 的脱辅基蛋白由 *lhcb* 基因编码, 每个 *Lhcb* 单体有 3 次跨膜螺旋, 跨膜螺旋之间的大量空间由色素分子填充. LHC II 分为主要捕光复合物(major LHC II /majLHC II, 可直接简称为 LHC II)和次要捕光复合物(minor LHC II)两种类型, 其生理条件下的寡聚状态分别为三聚体和单体. 在高等植物中, 主要捕光复合物 majLHC II 由 *Lhcb1-3* 三个亚基以不同的剂量比组成同质或异质三聚体, 次要捕光复合物分别为 CP29 (*Lhcb4*)、CP26 (*Lhcb5*)和 CP24(*Lhcb6*). 在衣藻中, 主要捕光复合物可由 9 种不同 *Lhcbm* 亚基(*Lhcbm1-6*、*Lhcbm8*、*Lhcbm9* 和 *Lhcbm11*)构成, 次要捕光复合物含 CP29 和 CP26 但缺少 CP24. Kühlbrandt 等^[25]于 1994 年报道了通过二维晶体电子衍射法解析的豌豆 LHC II 三聚体 3.4Å 分辨率的三维结构, 揭示了 LHC II 脱辅基蛋白的粗略结构和色素分子在其中的大致排布位置. Liu 等^[26]于 2004 年报道了采用 X 射线晶体学方法解析的菠菜 LHC II 三聚体 2.72Å 分辨率的三维结构, 鉴定并且精确定位了每个单体中 8 个 Chl *a*、6 个 Chl *b*、1 个紫黄素(violaxanthin)、1 个叶黄素(lutein)和 1 个新黄素(neoxanthin)分子. 该项研究所提供的一套高精度的近乎完整的 LHC II 三聚体结构数据为深入探讨和揭示 LHC II 中的能量传递和光保护分子机理奠定了基础.

2 光系统 II 核心复合物的结构研究历程

PS II 核心复合物作为光合作用裂解水产生氧气和发生原初电子传递过程的场所, 解析其高分辨率的三维结构有助于理解 PS II 在光能驱动下裂解水的分子机理, 并有望为人工模拟光合作用裂解水制氢的应用基础研究提供可借鉴的模板, 因而该方面的研究工作多年来得到高度重视. Barber 实验室早期使用电子晶体学方法获得了聚球藻 (*Synechococcus elongatus*)PS II 16 Å 分辨率的投影密度图、菠菜 PS II 9Å 投影密度图以及 10Å 三维

密度图^[27-29]. 这些密度图可以阐释 PS II 中主要亚基的相对位置, 包括反应中心复合物(D1-D2-Cyt *b559*)和核心捕光天线 CP43、CP47 等. 然而, 受到分辨率的限制, 很多低分子量亚基以及色素分子的空间排布无法确定. Zouni 等^[30]于 2001 年报道了聚球藻 (*Synechococcus elongatus*)PS II 的 3.8Å 分辨率晶体结构, 这是首例通过 X 射线晶体学方法解析的具有放氧活性的 PS II 三维结构. 该结构中 PS II 以同质二聚体形式存在, 每个单体中有 36 条跨膜螺旋被定位, 其中 22 条螺旋属于 D1、D2、CP43、CP47 亚基, 在单体内构成 C2 对称. D1 和 D2 蛋白各有 5 条呈半圆形排布的跨膜螺旋, 两个半圆形交错在一起形成一个“握手”状结构. CP43 与 CP47 分别位于 D1 侧和 D2 侧, 各含有 6 条跨膜螺旋, 形成三对跨膜螺旋(每对跨膜螺旋中存在一个 C2 对称), 它们由亚基中心的一个 C3 对称轴联系在一起. Cyt *b559*、PsbH、PsbK、PsbL 以及其他 7 条之前未被归属的跨膜螺旋得到了定位. 在 CP43 与 CP47 中分别发现 12 和 14 个 Chl *a* 分子, 它们分布于靠近基质侧和囊腔侧的两个层面上. D1 和 D2 亚基中电子传递载体的空间位置也得到了解析, PD1 与 PD2 之间的距离较远, 提示二者之间激子耦合作用很弱, 作者推测 P680⁺ 位于二者中的一个 Chl *a* 分子上. 根据色素分子之间的位置关系, 核心捕光天线的激发能在传递给反应中心 P680 的途中可能经过 Chl_{Z_{D1}}/Chl_{D1} 和 Chl_{Z_{D2}}/Chl_{D2}, 去镁叶绿素也可能参与该过程. 放氧复合物中的 4 个锰离子被定位, 其分布呈 Y 形. 受到分辨率的限制, 该结构中放氧复合物上的 Ca²⁺ 没有被定位, 并且所有亚基只有主链走向被确定. 除反应中心亚基中参与电子传递的 Tyr 残基外, 其他氨基酸的侧链均未被归属.

Kamiya 等^[31]于 2003 年报道了嗜热蓝藻 (*Thermosynechococcus vulcanus*)PS II 3.7Å 分辨率的晶体结构. 在该结构中首次观察到一个全 α 螺旋组成的 12 ku 外周亚基蛋白(PsbU)结合在 Cyt *c550* (PsbV)和 33 ku 蛋白(PsbO)之间, 在二者之间起到桥梁的作用. 在反应中心附近新发现的 2 个 β 胡萝卜素 (β-carotene, Car) 与 Cyt *b559*、Chl_{Z_{D2}} 和 Chl_{D2} 的距离揭示, 反应中心 D2 侧电子传递链发挥光保护作用的可能途径为 *cyt b559*-Car-RC 或 Chl_{Z_{D2}}-Car-RC. 位于 D1 蛋白 C 端的 Ala344 的主链羧基、Asp170 和 Glu333 残基的侧链与锰离子簇有直接配位相互作用, His337、Asp189 和 Asp342

等残基侧链的氮原子或氧原子也可能参与配位. 作者对一些低分子质量亚基的定位与 Zouni 等^[30]报道的结果有所差异. 受到分辨率的限制, 该结构模型中的放氧复合物中也没有发现钙离子的密度. Ferreira 等^[31]于 2004 年解析了嗜热蓝藻 (*Thermosynechococcus elongatus*) PS II 3.5Å 分辨率晶体结构, 首次定位了 OEC 中钙离子的位置, 并依据钙锰两种金属的配位性质和键长, 推测出 OEC 为 Mn_3CaO_4 簇以单氧桥与第 4 个锰离子相连. 在此基础上, Umena 等^[4]于 2011 年报道了 1.9Å 分辨率的 *Thermosynechococcus vulcanus* PS II 的晶体结构, 确定了 OEC 中 4 个锰离子, 1 个 Ca^{2+} 离子和 5 个氧原子的精确位置. 其中 3 个锰离子、1 个 Ca^{2+} 和 4 个氧原子构成与 Ferreira 等报道的具有相似的类型立方烷结构, 每两个相邻锰离子之间都有两个并列的氧原子桥相连. 不同的是, 在 Umena 等的结构中观察到与第 4 个锰原子相连的是 2 个氧原子桥而非 Ferreira 等报道的 1 个. 在 1.9Å 分辨率结构中还观察到 2 个氯离子的结合位点. 2 个氯离子所处的化学环境中都各自含有 2 个水分子. 对于其中 1 个氯离子, 其周围还有 D2-Lys 317 的侧链氨基和 D1-Glu 333 的主链氮原子与之结合, 而另一个氯原子则是与 D1-Asn 338 和 CP43-Glu 354 的主链氮原子结合. Rivalta 等^[32]依据该结构模型以及实验证据推断, 这 2 个氯离子可能阻止 D2-K317 和 D1-D61 之间形成盐桥, 从而使连接 OEC 和囊腔侧溶液的质子通道保持畅通.

3 植物 PS II-LHC II 超级复合物的发现和 研究历史

为了增加吸收光能的表面积和捕光能力, 植物 PS II 不仅包含有核心捕光天线复合物 CP43 和 CP47, 还在其外周结合了主要捕光复合物 LHC II 和次要捕光复合物 CP29、CP26 和 CP24. 1995 年 Boekema 等^[33]报道了菠菜 PS II-LHC II 超级复合物 25Å 分辨率的电镜二维密度图, 结果显示该复合物整体上是 26.8 nm×12.3 nm 的长条形颗粒, 由两个单体构成并具有 C2 对称性. 每个单体中靠近边缘的一个三角形区域被归属为与之匹配的 LHC II 三聚体, 而 LHC II 与 PS II 核心之间的单体密度被认为属于 CP29、CP26 和 CP24. 1998 年, Boekema 等^[34]报道了菠菜 PS II-LHC II 复合物约 24Å 分辨率的二维密度图, 并观察到 PS II 外周结合的 LHC II

数量是可变的. 作者将 PS II 核心简称为“C”, 最靠近核心的 LHC II 由于其较强的结合力而简称为“S” (strongly-associated LHC II), 靠近外侧的 LHC II 由于其与 PS II 的中等结合力而被简称为“M” (moderately-associated LHC II). 该项工作中发现的 PS II-LHC II 超级复合物共有 $C_2S_2M_2$ 、 C_2S_2M 、 C_2SM 、 C_2S_2 和 C_2S 5 种不同类型. $C_2S_2M_2$ 颗粒尺寸约为 $320\text{Å} \times 220\text{Å}$, 每个单体中在 S 型 LHC II 和次要捕光天线之间结合了一个 M 型 LHC II 三聚体. 1999 年 Boekema 等^[35]报道了从菠菜类囊体中提取的一系列 PS II-LHC II 复合物的二维密度图. 其中包括之前报道过的 C_2S_2 、 C_2S_2M 、 $C_2S_2M_2$, 新发现的 C_2S_2ML 、 $C_2S_2M_2L$ 、 C_2S_2L 、 $C_2S_2L_2$ (L 代表与 PS II 复合物结合强度最弱的 Loosely-associated LHC II), 还有以 C_4S_4 为基础的 $C_4S_4M_{2,4}$ 巨大复合物 (megacomplex). 根据 Boekema 等^[36]于 1999 年报道的另一项工作, CP29、CP26 和 CP24 分别位于 CP47、CP43 和 D2 亚基旁边, L-LHC II 的结合位点位于 CP43 和 CP26 所组成的外侧界面上. $C_4S_4M_2$ 型复合物又根据两个 C_2S_2M 之间相对位置的差异而分为 I 型和 II 型, I 型复合物中处于两个 C_2S_2 桥接位置的 M-LHC II 周围结合的亚基均为次要捕光复合物, 而 II 型中一个 C_2S_2 上的 M-LHC II 处于另一个二体的 L 型 LHC II 的结合位置. Albanese^[37]和 Nosek^[38]也报道了以 PS II 二体为基本单位进一步二聚化形成的各种巨大复合物, 这与 PS II 在体内易形成二维晶体状排列的观察一致.

在电镜三维重构方面, Harrer^[39]报道了分辨率为 40Å 的 PS II-LHC II 复合物三维结构, 其组装形式为 C_2S_2 和 C_2S_2M . 受到分辨率限制, 亚基之间具体的装配机制无法得到阐释, 只能大致推测外周亚基在囊腔侧的位置. 2006 年 Nield 等^[40]报道了菠菜 C_2S_2 复合物 17Å 分辨率的三维结构, 并将已经发表的 PS II 核心复合物、LHC II、PsbP 和 PsbQ 的高分辨率晶体结构填充到密度图内, 搭建出一个初步模型. 依据该结构, 作者初步提出了复合物中的色素排布模型, 并分析了植物 PS II 中的外周亚基排布和结合位点与蓝藻 PS II 外周亚基的区别. 2014 年 Pagliano 等^[41]报道了豌豆 $C_2S_2M_2$ 30Å 分辨率三维结构模型, 并通过质谱技术在 $C_2S_2M_2$ 复合物样品中鉴定出外周亚基 PsbP、PsbQ 和 PsbR (该亚基的具体结合位点至今仍然未知) 的存在.

4 近原子分辨率的 PS II-LHC II 超级复合物三维结构

前期研究通过低分辨率的电镜二维密度图和三维重构发现并区分了不同类型的 PS II-LHC II 超级复合物, 对其中的亚基进行了大致的定位. 为了揭示超级复合物中各亚基界面上的细节信息, 解释超级复合物的组装原理并分析外周捕光复合物向核心天线传递能量的途径, 需要在高分辨率下解析 PS II-LHC II 超级复合物的三维结构. 2016 年, 魏雪鹏等^[33]采用单颗粒冷冻电镜方法解析了菠菜 C_2S_2 复合物 3.2Å 分辨率的结构, 在国际上首次报道了植物 PS II-LHC II 超级复合物的近原子分辨率三维结构. 总体上, 该超级复合物是由两个相同的 CS 单体按照 C2 对称性组装而成(图 1). 每个单体中除了含有 4 个膜内在大亚基 CP47、CP43、D1 和 D2 外, 还有 12 个膜内在低分子质量亚基得到了精确定位, 其中 11 个在蓝藻 PS II 核心复合物中具有相似的结合位置, PsbW 为植物和藻类所特有. PsbE 和 PsbF 共同组成 Cyt *b*559, 位于由 D1 和 D2 亚基组成的反应中心的 Q_B 位点一侧, 被夹在 PsbJ 和 PsbX 两个亚基之间; PsbZ、PsbK 和 PsbJ 围绕在

CP43 面向脂双层的外侧表面, 而 PsbW 和 PsbI 则在另一侧被夹在 CP43、D1 和 S 型 LHC II 所围成的凹槽中; PsbX 和 PsbH 分别位于 D2 和 CP47 亚基面向脂双层的外侧表面, PsbTc、PsbL 和 PsbM 3 个小亚基则是插在 CP47 和 D1'/D2' ('标识的亚基来自于相邻的单体)之间形成的 PS II 二聚化界面中. 2 个次要捕光复合物 CP26 和 CP29 分别以不同的角度结合在 CP43 和 CP47 的侧面, 附近的 PsbZ 和 PsbH 亚基分别对 CP26-CP43 和 CP29-CP47 的界面起到加固的作用. CP29 的 N 端区域含有一个长达 87 个氨基酸残基的结构域, 由无规则卷曲结构组成, 位于基质侧并且具有较高的柔性. 在之前解析的 CP29 晶体结构中, 这个结构域由于被降解掉而未能得到解析^[42]. 冷冻电镜结构揭示 CP29 的 N 端结构域由 motif 1 和 motif 2 两个基序组成, 其中 motif 1 与 LHC II 单体的 N 端结构域相似, 其 Trp14 的主链羰基与 Chl *a*601 配位. Motif 2 由一段长达 40Å 的发夹环状区折叠成 L 形结构, 在这段发夹结构附近发现了一个新的叶绿素 (Chl *a* 616) 结合位点, 由 Leu80 的主链羰基与 Chl *a*616 的 Mg^{2+} 配位. 根据冷冻电镜结构分析的

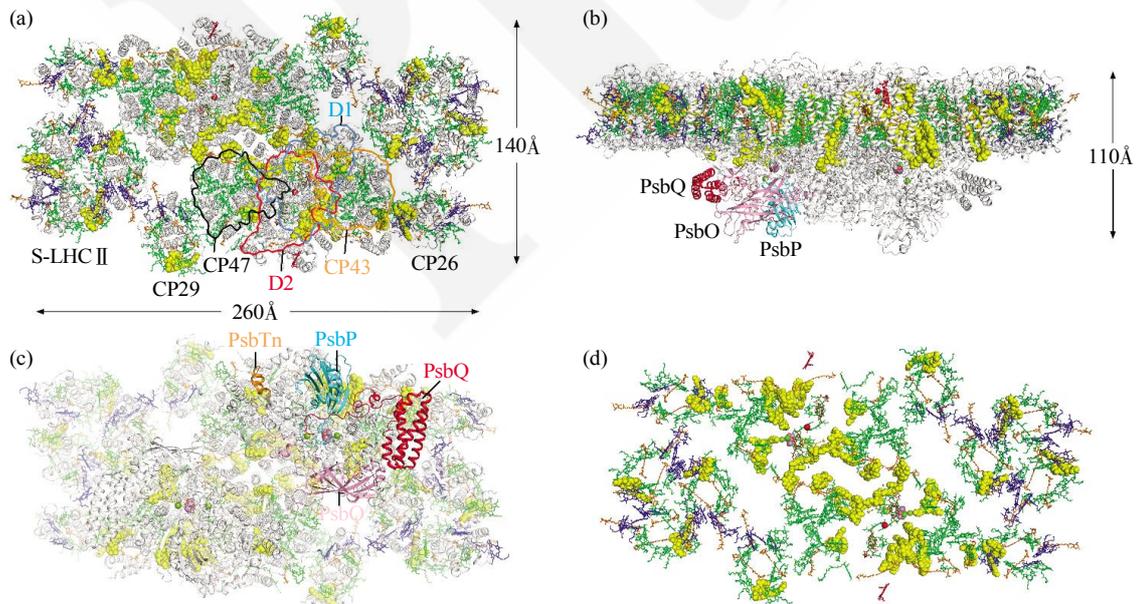


Fig. 1 Overall structure of spinach C_2S_2 supercomplex

图 1 菠菜 C_2S_2 复合物的总体结构

(a, b, c) 分别对应从基质侧、沿膜平面和囊腔侧的视图. (d) 显示了从基质侧观察的复合物中各种辅因子分子的总体排布图. 在一个单体中的 PsbO、PsbP、PsbQ 和 PsbTn 亚基分别使用粉色、青色、红色和橙色表示, 其余的蛋白质肽链部分均使用灰色的飘带模型. Chl *a*, Chl *b*, 脱镁叶绿素和质体醌分别被显示为绿色、蓝色、棕色和黄橙色的棍状模型, 所有类胡萝卜素均被显示为橙色. 所有脂质分子均被显示为黄色的球状模型. 血红素和 Fe^{2+} 都被显示为红色, 分别用棍状和球状模型表示. 氯离子被显示为黄绿色. OEC 被显示为球状模型, 其中的 Ca^{2+} 、锰离子和氧原子分别被显示为绿色、紫色和红色.

结果和之前的晶体结构研究结果, CP29 中应该总共含有 14 个叶绿素分子(冷冻电镜结构中可能丢失了一个外周的叶绿素分子 Chl 614)和 3 个类胡萝卜素分子. 在 CP26 中, 共发现了 13 个叶绿素结合位点和 3 个类胡萝卜素结合位点, 其中包含一些以往未被报道过的色素分子, 如 Chl *b*601、Chl *a*604、Chl *b*607 和 Chl *b*608.

在 CP26 和 CP29' 之间, S 型 LHC II 三聚体通过 PsbW-PsbI 二聚体与 CP43 和 D1 亚基相连. 虽然 S-LHC II 中的一个单体面向 CP43, 二者之间的直接相互作用较弱, 仅在接近基质侧和腔侧表面的位置形成一些弱的范德华相互作用. 面向 CP43 的 S-LHC II 单体中的 Chl *a*611-Chl *a*612 与 PsbW 的 Trp117 和 Phe121 之间存在疏水相互作用, 位于腔侧的 Asn88 与 PsbW 上 Trp107 和 Asn103 之间通过氢键结合. 此外, LHC II 的 Leu84 侧链和 PsbW Trp107 之间也存在范德华相互作用. 在 LHC II 和 CP43 的界面上发现有大量的脂类分子密度存在, 这些脂类分子可能通过极性和疏水相互作用来介导 LHC II 与 CP43 之间组装. CP29 和 CP26 也间接参与 S-LHC II 与 PS II 核心的组装: 一方面, CP29 与 CP47、PsbH 有直接相互作用, CP26 与 CP43 和 PsbZ 有相互作用; 另一方面, CP29 和 CP26 二者都与 S-LHC II 之间形成由疏水氨基酸和色素分子介导的直接相互作用, 间接地把 S-LHC II 与 PS II core 组装在一起. 菠菜 C₂S₂ 型 PS II -LHC II 超级复合物的冷冻电镜结构揭示了外周捕光复合物 CP29、CP26 和 S-LHC II 与 PS II 核心之间界面上的结构细节和组成, 解释了超级复合物的组装原理.

在 CP43 和 CP47 亚基的腔侧水溶结构域表面上, 结合了 PsbO、PsbP、PsbQ 和 PsbTn 四个不同膜外周亚基. 前三者围绕 CP43 的腔侧结构域, 构成一个冠状结构起到稳定 Mn₄CaO₅ 簇结合位点的作用, 并将其与外界溶液隔离开(图 1b, c). PsbTn 亚基位于 CP47 和 PsbE 之间, 该蛋白质含有一个链内二硫键(Cys17-Cys26), 这对二硫键距离反应中心特殊叶绿素对中的 PD2 分子 35.5Å, 距离 Tyr160_{D2}(Tyr_D/Y_D) 22.3Å(图 2). Tyr_D 在不同的放氧光合生物中高度保守, 该残基可能参与放氧中心 Mn 簇的组装过程^[43], 可通过静电效应影响 P680 特殊叶绿素对阳离子的局域化^[44], 并影响 P680⁺ 还原时的质子偶联电子传递过程^[45]. 近期的一项功能研究结果提示 PsbTn 有可能参与调节 Tyr_D 的氧化状态和稳定性, 影响氧化态 Tyr_D 衰减的动力学过程^[46].

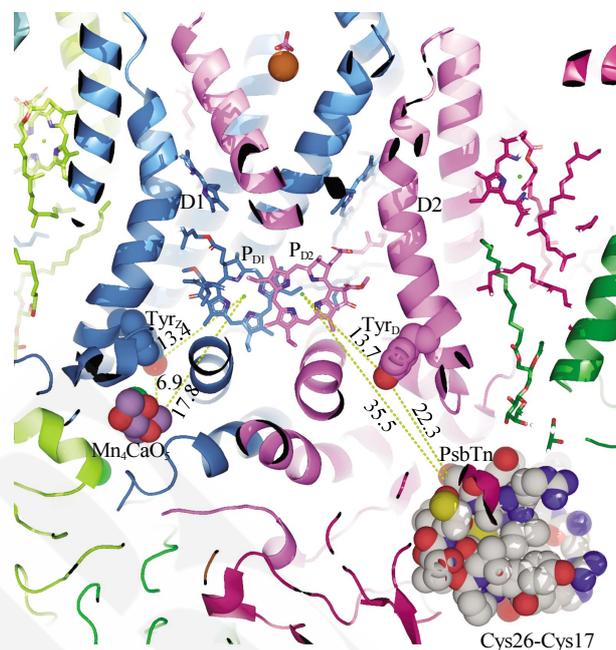


Fig. 2 The binding site of PsbTn in spinach PS II and its relationship with the reaction center

图 2 菠菜 PS II 中的 PsbTn 结合位点及其与反应中心的相对关系

PsbTn 和 Mn₄CaO₅ 用球状模型显示, 其他蛋白质亚基用飘带图显示, 色素和其他辅因子用棍状模型显示. 虚线附近的数字代表两两基团之间的距离(Å).

叶绿素(chlorophyll, Chl)是参与光合作用捕光的主要功能基团, 在菠菜 PS II -LHC II 超级复合物的结构中总共发现并定位了 105 个 Chl 分子, 其中 LHC II 三聚体结合了 42 个 Chl 分子(24 个 Chl *a* 和 18 个 Chl *b*), CP29 和 CP26 中都各含有 13 个叶绿素分子(CP29 含 10 个 Chl *a* 和 3 个 Chl *b*; CP26 含 9 个 Chl *a* 和 4 个 Chl *b*)(图 1d). 根据外周捕光复合物与核心天线复合物(CP43 和 CP47)之间以及外周捕光复合物之间界面上的两两 Chl 分子之间的距离、相对位置和空间取向, 推测从外周捕光复合物到 PS II 可能存在多条不同的能量传递途径:

a. S-LHC II 可能分别通过 Chl *a*611 和 Chl *a*614 向 CP43 的 Chl *a*506 和 Chl *a*501 传递激发能;
b. CP26 分别通过 Chl *b*601、Chl *a*611 和 Chl *a*614 向 CP43 的 Chl *a*513、Chl *a*512 和 Chl *a*503 传递能量;
c. CP29 分别通过 Chl *a*616、Chl *a*603 和 Chl *b*607 向 CP47 的 Chl *a*616、Chl *a*610 和 Chl *a*607 传递激发能. 此外, S-LHC II 还通过其富含 Chl *b* 的区域和 CP26 和 CP29 形成较为紧密的叶绿素分子间衔接(包括 Chl *b*-Chl *a* 和 Chl *b*-Chl *b* 相互作用), 提

示 S-LHC II 有可能向 CP26 和 CP29 传递激发能, 有关能量传递过程的时间动力学参数还有待进一步的深入研究来揭示. 在光保护过程中, LHC II 和次要捕光复合物中都可能出现能量依赖性的非光化学淬灭(NPQ)位点^[24], 推测在 LHC II、CP29 和 CP26 中的 Chl *a*610-*a*611-*a*612-Lut 和 Chl *a*603- *a*609-Zea 色素簇可能在高光条件下发挥能量耗散位点的作用. 这些位点可能在光能过剩的情况下淬灭高能态的叶绿素分子, 将过多激发能以热能的形式耗散, 从而保护类囊体膜上的蛋白质、脂质和色素等分子免受光损伤.

2017 年, 豌豆 C₂S₂M₂ 型 PS II -LHC II 超级复合物两个不同状态的高分辨率冷冻电镜三维结构得到了解析, 分别是垛叠态的 2.7Å 分辨率结构和非垛叠态的 3.2Å 分辨率结构^[47]. 相比于之前解析的 C₂S₂ 型超级复合物, C₂S₂M₂ 型超级复合物在每个单体中多了一个中等结合强度的 LHC II (M-LHC II) 和一个次要捕光天线复合物 CP24(图 3a~c). CP24 的三维结构也是首次在该项工作中得到解析, 与其他 LHC 家族蛋白质类似, CP24 的脱辅基蛋白 Lhcb6 由 3 条跨膜螺旋和其间的连接区所组成, 其 C 末端较短而 AC 跨膜螺旋的连接区较长. CP24 中结合有 11 个叶绿素分子和 3 个类胡萝卜素分子, 其中 N1 位点的类胡萝卜素分子位于 CP24 和 CP29 之间的界面上, 在之前的体外重组 CP24 实验中未被发现. 与 S-LHC II 不同的是, M-LHC II 中包含一个特有的 Lhcb3 亚基, 处于和 CP24 接触的一侧. Lhcb3 与 Lhcb1/b2 的主要区别在于 N 端和 AC 连接区、BC 连接区. Lhcb3 与 Lhcb1/b2 在 N 端区域和 AC 连接区存在显著差异, 这使得 Lhcb3 不能像 Lhcb1/b2 那样单独形成同质三聚体, 在 BC 连接区的一个氨基酸残基的插入使得 Lhcb3 与 CP24 之间的结合更加紧密. CP29、S-LHC II 和 CP24 共同参与形成 M-LHC II 的结合位点, 辅助其装配到 C₂S₂ 超级复合物上, 从而形成 C₂S₂M₂ 超级复合物. CP29/S-LHC II 和 M-LHC II 之间的接触较少, 而 CP24 则与 M-LHC II 形成了紧密的相互作用, 其界面上存在多对氢键和范德华相互作用. 同时, CP24 与 CP29 之间形成紧密的异质二聚体, 二者之间也存在较多的范德华相互作用和疏水相互作用. 如此, CP29 作为桥梁将 M-LHC II 与 PS II 核心区域的 CP47 衔接起来.

C₂S₂M₂ 超级复合物结构的每个单体中除了含有 28 个蛋白质亚基外, 还含有 157 个 Chl 分子, 2

个脱镁叶绿素分子, 44 个类胡萝卜素分子以及众多的其他辅因子和脂类分子(图 3d). 根据叶绿素分子的位置和相互关系, 从 M-LHC II 和 CP24 到 PS II 核心之间的激发能传递过程可能存在多条不同的途径. 尽管 M-LHC II 和 CP24 之间的相互作用非常紧密, 二者之间的 Chl 分子距离较远, 其中最近的一对色素分子为 Chl *b*608_{CP24}-*a*612_{Lhcb3} (距离 19.5Å). 由于 Chl *a* 分子的激发态能级比 Chl *b* 低, 这条途径可能介导 CP24 向 M-LHC II 传递能量, 而无法从 M-LHC II 向 CP24 再向核心方向传递光能. 在 M-LHC II 与 CP29 之间的界面上, Chl *a*611_{Lhcb3} 和 *a*611_{CP29} 之间的距离 16.8Å, 是 M-LHC II 和 CP29 靠近基质侧的主要激发能传递途径. 在腔侧, M-LHC II 与 CP29 之间的能量传递依靠 Chl *a*614_{Lhcb3}-*a*613_{CP29} 和 Chl *b*605_{monomer-1/M-LHC II}-*a*604_{CP29} 两条途径. 此外, M-LHC II 还可以将激发能通过 Chl *a*612_{M-LHC II} -*a*612_{S-LHC II}、Chl *a*610_{monomer-1/M-LHC II} -*a*611_{S-LHC II}、Chl *a*604_{monomer-1/M-LHC II} -*a*614_{S-LHC II} 和 Chl *b*605_{monomer-1/LHC II}-*b*605_{S-LHC II} 四条途径将激发能传递给 S-LHC II. CP24 吸收的光能可以通过靠近基质侧的 Chl *b*608_{CP24} 或 *b*609_{CP24} 传递给 Chl *a*601_{CP29}, 也可以通过囊腔侧的 Chl *b*606_{CP24}-*b*614_{CP29} 途径传递.

在豌豆 C₂S₂M₂ 超级复合物发表的同期, 拟南芥 C₂S₂M₂ 超级复合物的冷冻电镜三维结构在 5.3Å 分辨率下被解析^[48]. 虽然该结构的分辨率有限, 它显示了一个 M-LHC II -CP24 亚复合物与 PS II 核心复合物以几乎共平面的状态相结合. 对于非垛叠态和垛叠态的豌豆 C₂S₂M₂ 超级复合物, M-LHC II -CP24 亚复合物相对于 PS II 核心复合物发生了轻微转动, 分别朝着腔侧偏离 PS II 的跨膜区平面约 7° 和 10°, 提示 M-LHC II 和 CP24 在超级复合物中的结合位置具有较高的可变性. 在最近解析的 PS I -LHC I -LHC II 超级复合物的三维结构中^[49], 也观察到磷酸化的 LHC II (pLHC II) 与 PS I -LHC I 复合物之间存在一个近 10° 的夹角, 其中 pLHC II 向基质侧倾斜. 这个倾角的存在导致了 pLHC II 腔侧区和 PsaO 亚基之间的相互作用被弱化. 在体内的环境中, 复合物之间非共平面的相互关系可能诱导周围的脂双层膜发生弯曲, 或者产生膜蛋白疏水区与脂分子之间的疏水错配(hydrophobic mismatch)的现象. 这种结合的不稳定性或许可以帮助 LHC II 从 PS II 或 PS I 的外周解离下来, 该机制可能使得植物在不同的光照条件下得以通过剥离外周捕光复合物来下调 PS II 或 PS I 的捕光能力.

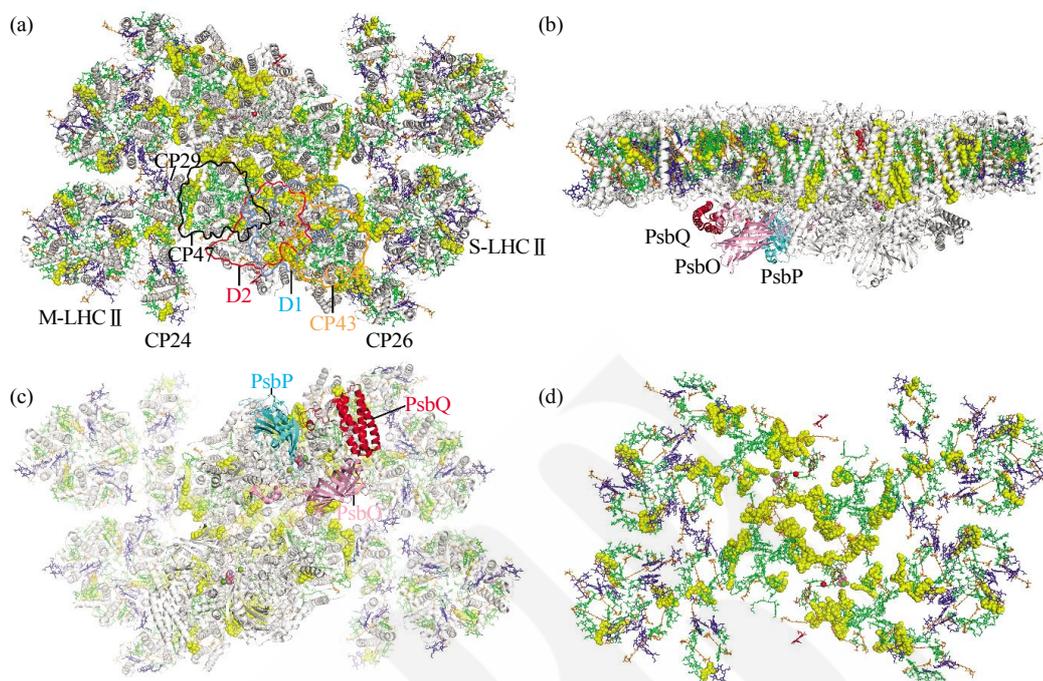


Fig. 3 Overall structure of pea $C_2S_2M_2$ supercomplex in stacked state

图 3 豌豆垛叠型 $C_2S_2M_2$ 复合物的总体结构

(a, b, c) 分别对应从基质侧、沿膜平面和囊腔侧的视图。(d) 显示了从基质侧观察的复合物中各种辅因子分子的总体排布图。在一个单体中的 PsbO、PsbP 和 PsbQ 亚基分别使用粉色、青色和红色表示,其余的蛋白质肽链部分均使用灰色的飘带模型。Chl *a*、Chl *b*、脱镁叶绿素和质体醌分别被显示为绿色、蓝色、棕色和黄橙色的棍状模型,所有类胡萝卜素均被显示为橙色。所有脂质分子用黄色的球状模型显示。血红素和 Fe^{2+} 都被显示为红色,分别用棍状和球状模型表示。氯离子显示为黄绿色。OEC 显示为球状模型,其中的 Ca^{2+} 、锰离子和氧原子分别被显示为绿色、紫色和红色。

5 总结与展望

PS II-LHC II 超级复合物的结构生物学研究至今已 20 多年的历史,近年来该研究领域内的一系列进展回答了人们迫切希望解决的关于超级复合物组装原理和能量传递途径的基础问题。尽管如此,领域内仍然存在一系列的重要科学问题有待进一步的深入研究来回答。例如,虽然 PsbS 的晶体结构在 2015 年已被解析^[50],其在光保护过程中的作用机制仍不完全清楚。在 2017 年解析的 $C_2S_2M_2$ 型超级复合物中,在 CP24-CP29 和 PsbH-CP47 之间的凹槽状区域内发现一个可能容纳 PsbS 单体的可能结合位点。PsbS 是否可以在此处结合,还是存在其他的结合位点?其在能量依赖性的非光化学淬灭(NPQ)过程中是如何发挥作用?在强光条件下,是什么因素可能诱导 PS II 周围的 LHC II 发生重排并进入淬灭状态?这一系列问题还需进一步的研究来阐明。

光强较弱时,在优先激发 PS I 的光照条件下,LHC II 主要结合在 PS II 的外周(状态 1)。当光质发生变化时,在优先激发 PS II 的光照条件下,LHC II 发生磷酸化并有一部分迁移到 PS I 附近(状态 2)^[51]。这两个不同状态之间的动态调节过程被称为状态转换,这个机制是通过一对叶绿体激酶(Stt7/STN7)和磷酸酶(PPH1/TAP38)实现对 LHC II 的可逆磷酸化和去磷酸化,使得其中一部分 LHC II 在 PS II 和 PS I 之间来回迁移,在二者之间平衡分配激发能并调节其激发水平。最近,与 pLHC II 相结合的 PS I-LHC I 超级复合物的高分辨率三维结构得到解析,研究结果解释了状态 2 下 pLHC II 与 PS I-LHC I 复合物之间的特异性相互作用和识别细节,并展示了 pLHC II 向 PS I 传递激发能的途径^[49]。目前普遍认为在状态 1 时,LHC II 主要处于去磷酸化的状态并大量结合在 PS II 的周围。在状态 1 转换至状态 2 的过程中,Lhcb1 和 Lhcb2 在状态转换激酶的作用下发生磷酸化,一部分 pLHC II 从 PS II 的外周解离下来并迁移到 PS I

附近^[52-54]. LHC II 中的磷酸化位点位于 Lhcb1 和 Lhcb2 亚基的 N 端, 该位点发生磷酸化后如何改变其与 PS II 的亲合力, 使得 pLHC II 从 PS II 外周脱落下来并迁移到 PSI 的外周? 该科学问题也有待进一步的研究来阐明.

目前为止, PS II -LHC II 超级复合物的高分辨率三维结构均是在离体环境下得到的, 复合物的外周包裹着去污剂微囊. 这些超级复合物在体内条件下的组装模式、其对于类囊体膜形态的影响以及 PS II 与其他膜蛋白复合物(如细胞色素 b_6f 和 PS I 等)之间的相互关系和可能的互作模式都不明确, 有待通过原位冷冻电子断层成像 (*in situ cryo-electron tomography*) 技术或其他方法加以研究. 2010 年, Daum 等^[55]报道了对菠菜和豌豆 PS II -LHC II 的原位电子断层成像研究, 该项工作中观察到在类囊体的垛叠区中 PS II -LHC II 有时会形成二维晶体, 而在非垛叠区则没有这种现象. 作者推测类囊体垛叠过程可能是由这些高度规则的 PS II 阵列之间的静电相互作用介导. 2011 年, Kouril 等^[56]使用冷冻电子断层成像解析了菠菜 PS II -LHC II 的原位 40Å 分辨率的结构, 在类囊体上并未发现高度规则排列的二维晶体区, 只在一个重构结果中发现少量排列规则的 PS II 颗粒, 并推测出几种可能的 $C_2S_2M_2$ 颗粒之间的排布方式. 现阶段, 电子断层成像技术受限于数据信噪比低(与样品性质和成像电子剂量低等因素有关)、CTF 函数校正困难等问题, 结构解析的分辨率难以达到近原子分辨率水平, 这些具体的技术问题有待领域中新技术和新方法发展方面的突破来解决.

在 2011 年和 2013 年, Amerongen 实验室^[57]和 Fleming 实验室^[58]分别基于推测的 PS II -LHC II 超级复合物结构模型对其能量传递过程的时间动力学进行了初步研究. 在高分辨率 PS II -LHC II 超级复合物三维结构的支持下, 生物物理学家是否能够通过将超快光谱学方法和理论计算相结合的方法对复合物中的两两色素分子之间的能量传递过程时间常数做出精确的预测和描述? Yoneda 等^[59]借助飞秒瞬态吸收光谱技术发现, 在较强光照时 PS II 二体复合物中并不是每个单体都参与原初光反应. 由于激子-激子湮灭效应, 仅有一个单体反应中心的激发态被保留下来进行后续的电荷分离. Shoji 等^[60]通过计算模拟的方法研究了 PS II 放氧复合物附近的氢键网络和质子通道, 从动力学的角度探讨了放氧复合物的工作机制. 围绕植物 PS II -LHC II 超级复

合物结构的计算模拟和分子动力学研究工作有待进一步开展, 该项研究或许能够促进人们对于其结构动态变化和捕光调节机制方面的理解. 此外, 基于对复合物中色素排布规律和锰簇精细结构的认识, 人们已经初步开发出模拟天然体系的光能捕获和光致水裂解的人工材料^[61-63]. 基于 PS II -LHC II 超级复合物的结构来开展系统深入的功能和机理研究, 应用天然体系的组装和运作原理来发展与太阳能利用相关的应用基础研究是“后结构时代”应该重点关注的方向.

参 考 文 献

- [1] Barber J. Photosynthetic energy conversion: natural and artificial. *Chem Soc Rev*, 2009, **38**(1): 185-196
- [2] Rochaix J D. Regulation and dynamics of the light-harvesting system. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, **65**(1): 287-309
- [3] Ferreira K N, Iverson T M, Maghlaoui K, *et al.* Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. *Science (New York, NY)*, 2004, **303**(5665): 1831-1838
- [4] Umena Y, Kawakami K, Shen J R, *et al.* Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature*, 2011, **473**(7345): 55-60
- [5] Barber J. Crystal structure of the oxygen-evolving complex of photosystem II. *Inorganic Chemistry*, 2008, **47**(6): 1700-1710
- [6] Faller P, Debus R J, Brettel K, *et al.* Rapid formation of the stable tyrosyl radical in photosystem II. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(25): 14368-14373
- [7] Stewart D H, Brudvig G W. Cytochrome b559 of photosystem II. *Biochim Biophys Acta*, 1998, **1367**(1): 63-87
- [8] Poulson M, Samson G, Whitmarsh J. Evidence that cytochrome b559 protects photosystem II against photoinhibition. *Biochemistry*, 1995, **34**(34): 10932-10938
- [9] Heber U, Kirk M R, Boardman N K. Photoreactions of cytochrome b-559 and cyclic electron flow in Photosystem II of intact chloroplasts. *Biochim Biophys Acta*, 1979, **546**(2): 292-306
- [10] Miyake C, Yokota A. Cyclic flow of electrons within PS II in thylakoid membranes. *Plant Cell Physiol*, 2001, **42**(5): 508-515
- [11] Morais F, Barber J, Nixon P J. The chloroplast-encoded alpha subunit of cytochrome b-559 is required for assembly of the photosystem two complex in both the light and the dark in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J Biol Chem*, 1998, **273** (45): 29315-29320
- [12] Suorsa M, Regel R E, Paakkarinen V, *et al.* Protein assembly of photosystem II and accumulation of subcomplexes in the absence of low molecular mass subunits PsbL and PsbJ. *Eur J Biochem*, 2004, **271**(1): 96-107
- [13] Komenda J, Lupinkova L, Kopecky J. Absence of the psbH gene product destabilizes photosystem II complex and bicarbonate binding on its acceptor side in *Synechocystis* PCC 6803. *Eur J Biochem*, 2002, **269**(2): 610-619

- [14] Komenda J, Barber J. Comparison of psbO and psbH deletion mutants of *Synechocystis* PCC 6803 indicates that degradation of D1 protein is regulated by the QB site and dependent on protein synthesis. *Biochemistry*, 1995, **34**(29): 9625–9631
- [15] Dobakova M, Tichy M, Komenda J. Role of the PsbI protein in photosystem II assembly and repair in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Physiol*, 2007, **145**(4): 1681–1691
- [16] Murray J W, Barber J. Structural characteristics of channels and pathways in photosystem II including the identification of an oxygen channel. *J Struct Biol*, 2007, **159**(2): 228–237
- [17] Bricker T M, Roose J L, Fagerlund R D, *et al.* The extrinsic proteins of Photosystem II. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1817**(1): 121–142
- [18] Roose J L, Wegener K M, Pakrasi H B. The extrinsic proteins of Photosystem II. *Photosynth Res*, 2007, **92**(3): 369–387
- [19] Enami I, Okumura A, Nagao R, *et al.* Structures and functions of the extrinsic proteins of photosystem II from different species. *Photosynth Res*, 2008, **98**(1–3): 349–363
- [20] Pagliano C, Saracco G, Barber J. Structural, functional and auxiliary proteins of photosystem II. *Photosynth Res*, 2013, **116**(2): 167–188
- [21] Hohmannmarriott M F, Blankenship R E. Evolution of photosynthesis. *Ann Rev Plant Biol*, 2011, **62**(1): 515–548
- [22] Gantt E, Conti S F. Granules associated with the chloroplast lamellae of *Porphyridium cruentum*. *J Cell Biol*, 1966, **29**(3): 423–434
- [23] Zhang J, Ma J, Liu D, *et al.* Structure of phycobilisome from the red alga *Griffithsia pacifica*. *Nature*, 2017, **551**(7678): 57–63
- [24] Pan X, Liu Z, Li M, *et al.* Architecture and function of plant light-harvesting complexes II. *Curr Opin Struct Biol*, 2013, **23**(4): 515–525
- [25] Kuhlbrandt W, Wang D N, Fujiyoshi Y. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature*, 1994, **367**(6464): 614–621
- [26] Liu Z, Yan H, Wang K, *et al.* Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72Å resolution. *Nature*, 2004, **428**(6980): 287–292
- [27] Da Fonseca P, Morris E P, Hankamer B, *et al.* Electron crystallographic study of photosystem II of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Biochemistry*, 2002, **41**(16): 5163–5167
- [28] Hankamer B, Morris E P, Barber J. Revealing the structure of the oxygen-evolving core dimer of photosystem II by cryoelectron crystallography. *Nat Struct Biol*, 1999, **6**(6): 560–564
- [29] Hankamer B, Morris E, Nield J, *et al.* Three-dimensional structure of the photosystem II core dimer of higher plants determined by electron microscopy. *J Struct Biol*, 2001, **135**(3): 262–269
- [30] Zouni A, Witt H T, Kern J, *et al.* Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8Å resolution. *Nature*, 2001, **409**(6821): 739–743
- [31] Kamiya N, Shen J R. Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II from *Thermosynechococcus vulcanus* at 3.7Å resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(1): 98–103
- [32] Rivalta I, Amin M, Lubner S, *et al.* Structural-functional role of chloride in photosystem II. *Biochemistry*, 2011, **50**(29): 6312–6315
- [33] Boekema E J, Hankamer B, Bald D, *et al.* Supramolecular structure of the photosystem II complex from green plants and cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**(1): 175–179
- [34] Boekema E J, Van Roon H, Dekker J P. Specific association of photosystem II and light-harvesting complex II in partially solubilized photosystem II membranes. *FEBS Lett*, 1998, **424**(1–2): 95–99
- [35] Boekema E J, Van Roon H, Calkoen F, *et al.* Multiple types of association of photosystem II and its light-harvesting antenna in partially solubilized photosystem II membranes. *Biochemistry*, 1999, **38**(8): 2233–2239
- [36] Boekema E J, Van Roon H, Van Breemen J F, *et al.* Supramolecular organization of photosystem II and its light-harvesting antenna in partially solubilized photosystem II membranes. *Eur J Biochem*, 1999, **266**(2): 444–452
- [37] Albanese P, Nield J, Tabares J A, *et al.* Isolation of novel PS II - LHC II megacomplexes from pea plants characterized by a combination of proteomics and electron microscopy. *Photosynth Res*, 2016, **130**(1–3): 19–31
- [38] Nosek L, Semchonok D, Boekema E J, *et al.* Structural variability of plant photosystem II megacomplexes in thylakoid membranes. *Plant J*, 2017, **89**(1): 104–111
- [39] Harrer R. Associations between light-harvesting complexes and Photosystem II from *Marchantia polymorpha* L. determined by two- and three-dimensional electron microscopy. *Photosynth Res*, 2003, **75**(3): 249–258
- [40] Nield J, Barber J. Refinement of the structural model for the Photosystem II supercomplex of higher plants. *Biochim Biophys Acta*, 2006, **1757**(5–6): 353–361
- [41] Pagliano C, Nield J, Marsano F, *et al.* Proteomic characterization and three-dimensional electron microscopy study of PS II -LHC II supercomplexes from higher plants. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1837**(9): 1454–1462
- [42] Pan X, Li M, Wan T, *et al.* Structural insights into energy regulation of light-harvesting complex CP29 from spinach. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, **18**(3): 309–315.
- [43] Ananyev G M, Sakiyan I, Diner B A, *et al.* A functional role for tyrosine-D in assembly of the inorganic core of the water oxidase complex of photosystem II and the kinetics of water oxidation. *Biochemistry*, 2002, **41**(3): 974–980
- [44] Rutherford A W, Boussac A, Faller P. The stable tyrosyl radical in photosystem II : why D? *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1655**(1–3): 222–230
- [45] Jeans C, Schilstra M J, Ray N, *et al.* Replacement of tyrosine D with phenylalanine affects the normal proton transfer pathways for the reduction of P680⁺ in oxygen-evolving photosystem II particles from *Chlamydomonas*. *Biochemistry*, 2002, **41**(52): 15754–15761
- [46] Ahmadova N. Studies of the two redox active tyrosines in

- Photosystem II [D]. Uppsala; Acta Universitatis Upsaliensis, 2017
- [47] Su X, Ma J, Wei X, *et al.* Structure and assembly mechanism of plant $C_2S_2M_2$ -type PS II -LHC II supercomplex. *Science* (New York, NY), 2017, **357**(6353): 815–820
- [48] Van Bezouwen L S, Caffarri S, Kale R S, *et al.* Subunit and chlorophyll organization of the plant photosystem II supercomplex. *Nat Plants*, 2017, **3**: 17080
- [49] Pan X, Ma J, Su X, *et al.* Structure of the maize photosystem I supercomplex with light-harvesting complexes I and II. *Science* (New York, NY), 2018, **360**(6393): 1109–1113
- [50] Fan M, Li M, Liu Z, *et al.* Crystal structures of the PsbS protein essential for photoprotection in plants. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, **22**(9): 729–735
- [51] Rochaix J-D. Role of thylakoid protein kinases in photosynthetic acclimation. *FEBS Letters*, 2007, **581**(15): 2768–2775
- [52] Iwai M, Yokono M, Inada N, *et al.* Live-cell imaging of photosystem II antenna dissociation during state transitions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(5): 2337–2342
- [53] Unlu C, Polukhina I, Van Amerongen H. Origin of pronounced differences in 77 K fluorescence of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in state 1 and 2. *Eur Biophys J*, 2016, **45**(3): 209–217
- [54] Unlu C, Drop B, Croce R, *et al.* State transitions in *Chlamydomonas reinhardtii* strongly modulate the functional size of photosystem II but not of photosystem I. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(9): 3460–3465
- [55] Daum B, Nicastro D, Austin J, *et al.* Arrangement of photosystem II and ATP synthase in chloroplast membranes of spinach and pea. *The Plant cell*, 2010, **22**(4): 1299–1312
- [56] Kouril R, Oostergetel G T, Boekema E J. Fine structure of granal thylakoid membrane organization using cryo electron tomography. *Biochim Biophys Acta*, 2011, **1807**(3): 368–374
- [57] Caffarri S, Broess K, Croce R, *et al.* Excitation energy transfer and trapping in higher plant photosystem II complexes with different antenna sizes. *Biophys J*, 2011, **100**(9): 2094–2103
- [58] Bennett D I G, Amarnath K, Fleming G R. A structure-based model of energy transfer reveals the principles of light harvesting in photosystem II supercomplexes. *J Amer Chem Soc*, 2013, **135**(24): 9164–9173
- [59] Yoneda Y, Katayama T, Nagasawa Y, *et al.* Dynamics of excitation energy transfer between the subunits of photosystem II dimer. *J Amer Chem Soc*, 2016, **138**(36): 11599–11605
- [60] Shoji M, Isobe H, Yamanaka S, *et al.* Large-scale QM/MM calculations of hydrogen bonding networks for proton transfer and water inlet channels for water oxidation-theoretical system models of the Oxygen-Evolving Complex of Photosystem II [M]/SABIN J R, BRANDAS E J. *Advances in Quantum Chemistry*, Vol 70. San Diego; Elsevier Academic Press Inc. 2015: 325–413
- [61] Wasielewski M R. Self-assembly strategies for integrating light harvesting and charge separation in artificial photosynthetic systems. *Accounts of Chemical Research*, 2009, **42**(12): 1910–1921
- [62] Zhang C, Chen C, Dong H, *et al.* A synthetic Mn_4Ca -cluster mimicking the oxygen-evolving center of photosynthesis. *Science* (New York, NY), 2015, **348**(6235): 690–693
- [63] Nocera D G. The artificial leaf. *Accounts of Chemical Research*, 2012, **45**(5): 767–776

Supramolecular Structural Basis of The Light-Harvesting Process in Plants*

LI An-Jie^{1,2)}, LIU Zhen-Feng^{1,2)**}

⁽¹⁾ National Laboratory of Biomacromolecules, CAS Center for Excellence in Biomacromolecules,
Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

⁽²⁾ University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Photosystem II (PS II) is an important supramolecular complex located in the thylakoid membranes of plants, algae and cyanobacteria. Powered by the energy harvested from light, PS II carries out energy conversion through charge separation in the reaction center, drives the primary electron transport process and splits water molecules into oxygen and protons under ambient temperature and pressure. At the peripheral region of plant PS II, there is a pool of major and minor light harvesting complexes II (LHC II) responsible for absorbing light energy and transferring excitation energy to PS II. They are also involved in the regulation of light harvesting through the non-photochemical quenching and state-transition processes. In recent years, tremendous progresses have been made in structural biology studies of plant PS II-LHC II supercomplexes. Here we review the history and latest progresses concerning the structures of PS II, LHC II and the PS II-LHC II supercomplexes, and discuss the perspectives for future research.

Key words photosystem II, light-harvesting complex II, structural biology, membrane protein, photosynthesis

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0221

* This work was supported by grants from the National Key R&D Program of China (2017YFA0503702), the Strategic Priority Research Program of CAS (XDB08020302), the Key Research Program of Frontier Sciences of CAS (QYZDB-SSW-SMC005), and the National Natural Science Foundation of China (31670749).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-64881481, E-mail: liuzf@sun5.ibp.ac.cn

Received: August 10, 2018

Accepted: August 20, 2018