

- 19 Kondo K, Miura Y, Sone H, *et al.* High-level expression of a sweet protein, monellin, in the food yeast *Candida Utilis*. *Nature Biotechnology*, 1997, **15** (5): 453~457
- 20 Linder S, Schliwa M, Kube-Grandenrath E. Direct PCR screening of *Pichia pastoris* clones. *Biotechniques*, 1996, **20** (6): 980~982

Advances in the Studies of *Pichia pastoris* as a Heterologous Gene Expression System. OUYANG Li Ming, ZHANG Huifan, ZHANG Siliang (*College of Bioengineering, East China University of Science & Technology, Shanghai 200037, China*); LIU Zhimin (*Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing*

100071, China).

Abstract *Pichia pastoris* has been utilized widely as a heterologous gene expression system recently. There are several advantages such as high productivity, stable inheritance, secretable product, and mature fermentation techniques. The advances of vector types, vector elements (including promoter, selection marker and signal sequence), host strains, and the strategy for increasing integration copy number were reviewed.

Key words *Pichia pastoris*, gene expression, system

光合生物色素-蛋白质复合物的多样性

李爱芬¹⁾ 陈敏

(烟台大学生物化学系, 烟台 264005)

周百成

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要 通过对近年来放氧型光合生物有关研究结果的概括分析, 提出放氧型光合生物光系统 I、光系统 II 及捕光色素-蛋白质复合物具有多样性, 并根据其 PS I 复合物的 77 K 荧光发射特点, 指出放氧型光合生物光合系统中的能量传递方式也可能存在多样性。

关键词 光合生物, 色素-蛋白质复合物, 多样性

学科分类号 Q946

光合生物在地球上已经有三十几亿年的历史。在光合生物的进化问题上, 曾呈奎和周百成^[1]根据光合色素、光合器和光系统的变化, 将光合生物的进化分为光合细菌、红蓝植物、杂色植物和绿色植物的产生和发展四个阶段。主要进化途径有两条, 一条是有细菌叶绿素和光系统 I 的光合细菌, 另一条是有叶绿素 (Chl) a 和两个光系统的放氧型光合生物。放氧型光合生物在从藻类到高等植物的进化过程中, 光系统 II 的捕光色素-蛋白质复合物的多样性最突出。按曾呈奎等^[1]的观点, 放氧型光合生物红蓝植物、杂色植物和绿色植物的 LHC 分别是藻胆体、Chl a/c 蛋白质复合物和 Chl a/b 蛋白质复合物。

1 绿色植物的色素-蛋白质复合物

1.1 绿色植物的 PS I 复合物

高等植物的 PS I 复合物在 77 K 条件下有 730 nm 长波荧光峰^[2]。大多数绿藻 PS I 复合物的

光谱特性与高等植物不完全相同, 如松藻 (*Codium sp*) 的 PS I 复合物在 77 K 条件下的荧光峰位于 717 nm^[3], 莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 的 PS I 复合物的 77 K 荧光峰位于 714~718 nm 之间。刺松藻 (*Codium fragile*) 和假根羽藻 (*Bryopsis corticulans*) 的 PS I 复合物在 710~715 nm 处有一个肩峰^[4]。

绿色植物的 PS I 复合物都是由核心复合物 (CCI) 和 LHCI 组成的。在 77 K 条件下 CCI 的荧光峰位于 720 nm^[5], LHCI 的位于 730 nm。在温和条件下, LHCI 可分解为含有色素的 LHCI a 和 LHCI b 两部分。在玉米中, LHCI a 的 77 K 荧光峰位于 680~690 nm, LHCI b 的荧光峰位于 730 nm^[6]。除 LHCI a 和 LHCI b 之外, 在大麦^[7]和玉米^[8]中还含有另外两种含色素的组分, 称作 LHCI c 和 LHCI d。

¹⁾ 通讯联系人: 烟台大学生物化学系, 烟台 264005。

Tel: (0535) 6888995-2116, E-mail: glbio@ytu.edu.cn

收稿日期: 1999-03-11, 修回日期: 1999-10-10

1.2 绿色植物的 PS II 复合物

绿色植物的 PS II 复合物都是由 CC II 和 LHC II 组成的. 高等植物的 CC II 由内周天线复合物 CC IIa、CC IIb 和反应中心 (RC II) 组成. CC IIa (亦称 CP47) 在 77 K 条件下有位于 695 nm 的荧光峰^[9], CC IIb (亦称 CP43) 与 CP47 一起组成 PS II 的内周天线; RC II 的 77 K 的荧光峰位于 685 nm. 绿藻的 CC II 在色素组成以及光谱特性等方面与高等植物相似, 如松藻的 PS II 在 77 K 的荧光峰位于 697 nm 和 685 nm, 其 CC II 只含有 Chl a 和 α -胡萝卜素^[3].

高等植物 LHC II 的 6 种多肽组成了 4 种捕光色素-蛋白质亚复合物, 分别是 LHC IIa、LHC IIb、LHC IIc 和 LHC IId. 这 4 种主要的 LHC II 在 77 K 的荧光峰都位于 680 nm. 某些绿藻的 LHC II 与高等植物有所不同, 如松藻^[3]、刺松藻和假根羽藻^[4]的 LHCP (相当于高等植物的 LHC II) 除含有 Chl a 和 b 以外, 还含有特殊的类胡萝卜素管藻素和管藻黄素. 这些研究表明: 低等绿色植物在捕光色素-蛋白质复合物的组成上具有多样性, 这些变化都是它们适应特定生活环境的结果.

2 红蓝植物的色素-蛋白质复合物

2.1 Chl-蛋白质复合物

近年来对红蓝藻 Chl-蛋白质复合物的研究表明, 蓝藻聚球藻 (*Synechococcus leopoliensis*) PS I 复合物的 77 K 荧光峰位于 730 nm, 685 nm 处有一个不明显的肩峰^[10], 钝顶螺旋藻 (*Spirulina*

platensis) 的 PS I 没有 LHC I, RC I 以三聚体或单聚体形式存在^[11]. 红藻紫球藻 PS I 复合物的 77 K 荧光峰位于 730 nm, 680 nm 有一个小的发射峰, 它由 CC I 和 LHC I 组成, CC I 富含 β -胡萝卜素, 在 77 K 的最大荧光峰位于 720 nm, 与高等植物相似. 紫球藻 LHC I 的 77 K 荧光峰位于 680 nm^[12], 与高等植物的 LHC I a 相似.

2.2 藻胆蛋白

到目前为止, 已经发现 4 种类型的藻胆蛋白, 分别是藻红蛋白 (PE)、藻蓝蛋白 (PC)、藻红蓝蛋白 (PEC) 和异藻蓝蛋白 (AP). 根据其光谱特性不同, 藻红蛋白又可分为 R-PE、C-PE、B-PE 和 b-PE 4 种, 藻蓝蛋白有 C-PC 和 R-PC 两种, 现已分离到的异藻蓝蛋白也有三种类型. 在藻胆蛋白中有 4 种藻胆素, 分别是藻蓝胆素 (PCB)、藻红胆素 (PEB)、藻脲胆素 (PUB) 和 Phycobiliviolin (PXB). 这 4 种藻胆素的吸收峰分别是, PCB 位于 620~650 nm, PEB 位于 540~565 nm, PUB 位于 495 nm, PXB 位于 568~575 nm. 藻胆蛋白是一种寡聚体蛋白质, 其基本组成单位是 α 亚基和 β 亚基. 在 B-PE 和 R-PE 中还存在少量的 γ 亚基.

3 杂色植物的色素-蛋白质复合物

3.1 杂色植物的 PS I 复合物

杂色植物包括六门不同的藻类, 其 PS I 复合物的荧光特性见表 1. 可见, 杂色植物 PS I 复合物的荧光特性与高等植物明显不同, 这预示着杂色植物在 PS I 结构和能量传递等方面具有特异性.

表 1 杂色植物 PS I 复合物的荧光特性

门类	藻类名称	77 K 荧光特性/nm	参考文献
硅藻	三角褐指藻 <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	690, 716	[13]
隐藻	<i>Cryptomonas rufescens</i>	730	[14]
金藻	定鞭金藻 <i>Pavlova lutherii</i>	684, 708	[15]
黄藻	肋胞藻 <i>Pleurochloris meiringensis</i>	680, 716	[16]
褐藻	锯齿形墨角藻 <i>Fucus serratus</i>	686, 720	[17]
	糖海带 <i>Laminaria saccharina</i>	686, 715	[17]
	裙带菜 <i>Undaria pinnatifida</i>	680, 715	[18]
	海蒿子 <i>Sargassum confusum</i>	680, 715	[18]
	萱藻 <i>Scytosiphon lomentarius</i>	680, 715	[18]

3.2 杂色植物的 PS II 复合物

三角褐指藻的 PS II 组分的 77 K 荧光峰位于

694 nm, 该复合物含有 Chl a、c、墨角藻黄素和 β -胡萝卜素. 金藻 PS II 组分含有 Chl a 和 c. 隐藻

PS II 复合物含有 Chl a、c₂ 等色素, 褐藻圆锥顶孢藻 (*Acrocarpia paniculata*) PS II 复合物的荧光峰位于 694 nm, 糖海带的位于 685 nm, 裙带菜、萱藻和海蒿子的位于 683 nm^[18]. 这些 PS II 复合物除含 Chl a 以外, 均含有 Chl c. 虽然杂色藻类与高等植物 PS II 的色素组成不同, 但 77 K 荧光发射峰的波长是相近的.

3.3 杂色植物的 LHC

杂色植物 LHC 的色素组成除了 Chl a 和 c 以外, 还含有特殊的类胡萝卜素, 如墨角藻黄素、多甲藻素等. 隐藻和少数甲藻还含有藻胆蛋白. 因此, 杂色藻类的捕光色素-蛋白质复合物的色素组成十分复杂多样, 成为研究的热点.

褐藻和硅藻主要的 LHC 是墨角藻黄素-Chl a/c 蛋白质复合物 (FCPC), 它位于类囊体膜内部, 向反应中心的 Chl a 传递能量. 隐藻除 FCPC 以外, 还含有藻胆蛋白, 但隐藻的藻胆蛋白不仅种类与红藻和蓝藻不同, 而且存在于类囊体膜中, 不形成藻胆体, 相对于红藻和蓝藻的藻胆蛋白, 目前对隐藻藻胆蛋白的结构和功能还缺乏深入的研究. 甲藻主要有两种类型的 LHC, 一种是 PCP₂, 第二种是 PCP₁, 该复合物存在于类囊体膜表面.

4 讨 论

免疫交叉反应揭示不同门类光合生物的捕光色素-蛋白质复合物的多肽具有同源性. 褐藻和硅藻的 LHC 多肽与高等植物的 LHC 抗体有免疫交叉反应, 说明含有 Chl a 和 b 的捕光色素-蛋白质复合物同含有 Chl a 和 c 的捕光色素-蛋白质复合物多肽的某些氨基酸序列是相同的. 糖海带 FCPC 的 21 ku 多肽经胰蛋白酶降解为 16、11、5.5 和 5 ku 四个组分, 其中 16 ku 多肽的 N 端上有 2 个保守序列, 即 Lam1 和 Lam2, 同其他杂色藻类的 LHC 和马铃薯的 CAB (chlorophyll a/b binding protein) 4 和 CAB 7 相似, 16 ku 多肽同锯齿形墨角藻的 LHC 抗体有免疫交叉反应. 红藻紫球藻的 LHC I 同大麦的 PS I 复合物、菠菜的 LHC I、CP29、LHC II 都有免疫交叉反应^[12]. 除此之外, 红藻紫球藻的 LHC I 与硅藻三角褐指藻的含 Chl a 和 c 的 LHCs 也具有免疫交叉反应. 由基因推论的硅藻、褐藻和金藻的 LHC 氨基酸序列与高等植物 LHC 多肽相似. 由此可见, 无论是只含 Chl a 的捕光色素-蛋白质复合物, 还是含 Chl a 和 c、含 Chl a 和 b 的捕光

色素-蛋白质复合物的多肽都有一定程度的同源性. 因此, 认为所有真核光合生物都有共同的祖先, 并支持叶绿体有共同起源的观点. 但目前还不清楚隐藻与高等植物 LHC 多肽的关系.

高等植物 PS I 复合物在 77 K 条件下有 730 nm 的长波荧光峰, 它是由 LHC I 的 21 ku 多肽上的 Chl a 发出的荧光. 长期以来, 人们将这种长波荧光看作是 PS I 的重要表征. 但某些藻类的 77 K 荧光特性与高等植物明显不同, 褐藻、硅藻等杂色植物的 PS I 复合物没有 730 nm 长波荧光峰, 褐藻只有位于 715 nm 的发射峰^[13,18]. 绿藻的 PS I 复合物普遍缺少 730 nm 长波荧光峰, 如管藻目绿藻的 PS I 复合物在 710~715 nm 处有一个发射肩峰. 藻类 PS I 复合物的荧光多样性是在长期进化过程中适应海水光照环境的变化有很大关系, 预示其 PS I 复合物在结构和能量传递等方面具有特异性.

参 考 文 献

- 1 曾呈奎, 周百成. 关于藻类植物进化的若干问题. 见: 第一届中国藻类学术讨论会论文集. 北京: 科学出版社, 1983. 1~7
- 2 Tseng C K, Zhou B C. Some problems on the evolution of algae. In: Proceedings of the 1st Chinese Phycological Symposium. Beijing: Academic Press, 1983. 1~7
- 3 Kuang T Y, Argyroudi Akoyunoglou J H, Nakatani H Y, et al. The origin of the long wavelength fluorescence emission band (77 K) from photosystem I. Arch Biochem Biophys, 1984, **235** (2): 618~627
- 4 Anderson J M. Chlorophyll protein complexes of a marine alga, *Codium* species (Siphonales). Biochim Biophys Acta, 1985, **806** (1): 145~153
- 5 陈 敏. 管藻目绿藻 PS I 和 PS II 的结构特异性研究. [学位论文]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 1998
- 6 Chen M. Structural characterization of PS I and PS II in siphonous green algae: [Doctorate thesis]. Qingdao: Oceanology Institute, The Chinese Academy of Sciences, 1998
- 7 Bassi R, Rigoni F, Giacometti G M. Chlorophyll binding proteins with antenna function in higher plants and green algae. Photochem Photobiol, 1990, **52** (6): 1187~1206
- 8 Thornber J P, Cogdell R J, Chitnis P, et al. Antenna pigment-protein complexes of higher plants and purple bacteria. In: Barber J, eds. Advances in Molecular and Cell Biology. Greenrich, CT: JAI Press, 1994, 55~118
- 9 Anandan S, Vainstein A, Thornber J P. Correlation of some published amino acid sequences for photosystem I polypeptides to a 17 ku LHC I pigment-protein and to subunit III and IV of the core complex. FEBS Lett, 1989, **256** (1~2): 150~154
- 10 Preiss S, Peter G F, Anandan S, et al. The multiple pigment-proteins of the photosystem I antenna. Photochem Photobiol, 1993, **57** (1): 152~157
- 11 Dekker J P, Hassoldt A, Pettersson A, et al. On the nature of the F695 and F685 emission of photosystem II. In: Mathis P, eds. Photosynthesis, **1**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995, 53~56
- 12 李桐柱, 林世青. 一个高分辨率的凝胶电泳系统及其从蓝藻中分离的叶绿素蛋白复合体. 植物学报, 1995, **37** (1): 34~40
- 13 Li T Z, Lin S Q. Chlorophyll protein complexes of blue-green

- algae isolated by a new gel electrophoresis system with high resolving power. *Acta Botanica Sinica*, 1995, **37** (1): 34~40
- 11 Shubin V V, Bezsmertnaya I N, Karapetyan N V. Efficient energy transfer from the long wave-length antenna chlorophylls to P700 in photosystem I complexes from *Spirulina platensis*. *Photochem Photobiology*, 1995, **30** (2~3): 153~160
 - 12 Wolfe G R, Cunningham F X, Durnford D, *et al.* Evidence for a common origin of chloroplasts with light-harvesting complexes of different pigmentation. *Nature*, 1994, **367** (6463): 566~568
 - 13 Berkaloff C, Caron L, Rousseau B. Subunit organization of PS I particle from brown algae and diatoms: Polypeptide and pigment analysis. *Photosyn Res*, 1990, **23** (2): 181~193
 - 14 Lichtle C, Duval J C, Lemoine Y. Comparative Biochemical, functional and ultrastructural studies of photosystem particles from a Cryptophyceae: *Cryptomonas rufescens*, isolation of an active phycoerythrin particle. *Biochim Biophys Acta*, 1987, **894** (1): 76~90
 - 15 Hiller R G, Bardin A M, Nabadryk E. The secondary structure content of pigment-protein complexes from the thylakoids of two Chromophyte algae. *Biochim Biophys Acta*, 1987, **894** (3): 365~369
 - 16 Wilhelm C, Buchel C, Rousseau B. The molecular organization of chlorophyll-protein complexes in the xanthophycean alga *Pleurochloris meiringensis*. *Biochim Biophys Acta*, 1988, **934** (2): 220~226
 - 17 Berkaloff C, Caron L, Rousseau B. Subunit organization of PS I particle from brown algae and diatoms: Polypeptide and pigment analysis. *Photosyn Res*, 1990, **23** (2): 181~193
 - 18 李爱芬. 褐藻两个光系统色素-蛋白质复合物的分离及特性研究. [学位论文]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 1998
Li A F. Separation and characterization of pigment-protein complexes of two photosystems in brown algae: [Doctorate

thesis]. Qingdao: Oceanology Institute, The Chinese Academy of Sciences, 1998

Diversity of Pigment-protein Complexes of Photosynthetic Organisms. LI Aifan, CHEN Min (*Department of Biochemistry, Yantai University, Yantai 264005, China*); ZHOU Baicheng (*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China*).

Abstract PS I, PS II and light-harvesting complexes (LHC) in oxygen evolving photosynthetic organisms were reviewed. These organisms include cyanobacteria, red algae, brown algae, diatoms, chrysophytes, dinophytes, xanthophytes, cryptophytes, green algae and green plants. The diversity of pigment-protein complexes that fuel the conversion of radiant energy to chemical bond energy was highlighted, and the evolutionary relationships among the LHC structural polypeptides and the characteristics of the fluorescence emission of PS I at 77 K was discussed.

Key words photosynthetic organisms, pigment-protein complexes, diversity

钙调神经磷酸酶的研究进展*

符民桂 唐朝枢

(北京医科大学第一医院心血管研究所, 北京 100034)

摘要 钙调神经磷酸酶 (CaN) 是一种受 Ca^{2+} / 钙调素调节的丝/苏氨酸蛋白磷酸酶, 广泛存在于哺乳动物的组织细胞中, 作为 Ca^{2+} 信号下游的一种效应分子, 参与多种细胞功能的调节. 在 T 细胞活化的信号传导中起到调节枢纽的作用; 在神经递质的释放、突触可塑性方面亦有重要的调节作用. 新近的研究表明, CaN 在心肌肥厚的发生发展中起到中心作用. 对 CaN 的分子结构、酶学特性、组织分布、信号传导及生物学功能方面的研究进展进行了介绍.

关键词 钙调神经磷酸酶, 分子结构, 信号传导, 生物学功能

学科分类号 Q73

钙调神经磷酸酶 (calcineurin, CaN) 属丝/苏氨酸蛋白磷酸酶家族成员 (又称蛋白磷酸酶 2B, PP2B), 是迄今发现的唯一受 Ca^{2+} / 钙调素 (CaM) 调节的丝/苏氨酸蛋白磷酸酶. 长期以来认为体内去磷酸化是一种无需调节的固有反应, CaN 的发现证实去磷酸化反应也和磷酸化反应一样受到

多种因素的调节^[1]. 目前认为 CaN 是一种广泛分布的、参与多种细胞功能调节的多功能信号酶. 在细胞因子介导的 T 细胞活化中起到调节枢纽的作

* 国家自然科学基金重点项目 (39730220) 资助.

Tel: (010) 66171122-2577

收稿日期: 1999-03-15, 修回日期: 1999-07-08