

## 藻胆蛋白晶体结构的研究

梁 丽

(中国科学院生物物理研究所,北京)

光合作用的研究是当前国内外重大科研课题之一。植物如何吸收光子?怎样以极高效率传递光能,顺利进行光合作用?对这些机制的深入了解必然涉及光合系统各个组分分子的三维结构。1975年 B. W. Matthews 等<sup>[1]</sup>及 1984年 H. Michel<sup>[2]</sup>等,分别完成了绿菌 (green bacterium) 的细菌叶绿素复合蛋白和紫菌 (purple bacterium) 的光合反应中心复合蛋白的晶体结构分析。但绿菌和紫菌均属低等生物进行不释放氧的光合成。而蓝绿藻 (cyanophycean) 和红藻 (rhodophycean) 与高等绿色植物同样为释放氧光合成,能代表高等植物,它含有丰富的光合辅助色素——藻胆蛋白<sup>[3]</sup>易溶于水和得到晶体,于是人们对藻胆蛋白晶体结构的研究日益重视。本文首先介绍藻胆蛋白的功能、分类和组成,在此基础上对其晶体结构研究状况作一综述。

### 一、藻胆蛋白是藻类的光合辅助色素

在蓝绿藻和红藻中,吸收和传递光能的功能单位是藻胆体,其大小形状随种属而不同,有规则地排布在光合膜上。按照 1984年 Glazer<sup>[4]</sup>的看法,藻胆体主要是由排列在顶端的藻红蛋白和相邻的藻蓝蛋白及在核心部位的变藻蓝蛋白组成。它们吸收波长范围 475nm 到 670 nm 的光子,按照以下途径<sup>[5]</sup>:

藻红蛋白 → 藻蓝蛋白 → 变藻蓝蛋白 →  
叶绿素 a

将光能传递到光合反应中心进行光合反应,其量子效率超过 90%。由于它们具有捕获光子,传递光子的功能,故称之为光合辅助色素。

### 二、藻胆蛋白的种类和组成

藻胆蛋白是一组蛋白的总称。一般按其吸收光谱和荧光发射光谱可区分为藻红蛋白,藻蓝蛋白和变藻蓝蛋白这主要的三种。同一种藻胆蛋白往往由于分子中含有发色团的种类和数目不同,其光谱有细微的差别,此种差别用 R-, C-和 B-等词头予以区分。一些藻胆蛋白的特征光谱列于表 1。

表 1 藻胆蛋白的特征光谱<sup>[3]</sup>

藻胆蛋白	存在于海藻名称	在可见光范围内吸收的最大峰值 (nm)	荧光发射最大值 (nm)
变藻蓝蛋白 B	蓝绿藻,红藻	671>618	680
变藻蓝蛋白	蓝绿藻,红藻	650	660
C-藻蓝蛋白	蓝绿藻,红藻	620	637
R-藻蓝蛋白	红藻	617>555	636
藻红蓝蛋白	蓝绿藻	568>590(s)	607
C-藻红蛋白	蓝绿藻	565	577
b-藻红蛋白	红藻	545>563(s)	570
B-藻红蛋白	红藻	545>563 >498(s)	575
R-藻红蛋白	蓝绿藻,红藻	567>538 >498	578
R-藻红蛋白 <sup>I</sup> <sub>167</sub>	条斑紫菜	565>538 >497	578
R-藻红蛋白 <sup>II</sup> <sub>167</sub>	条斑紫菜	560>540 >498	578

在各种藻类中,藻红蛋白,藻蓝蛋白和变藻

蓝蛋白含量不同。我国盛产的条斑紫菜中含有大量的 R-藻红蛋白。

藻胆蛋白是由不同的多肽链亚基和发色团辅基组成。辅基与多肽链以共价键结合。很多藻胆蛋白是由分子量范围分别为 12,000—20,000 和 15,000—22,000 的  $\alpha$  和  $\beta$  亚基组成的寡聚蛋白。也有些藻胆蛋白中尚存在分子量是 30,000—35,000 的  $\gamma$  亚基<sup>[2]</sup>。1978 年 G. Frank 和 1983 年 P. Füglistaller 等以及 1984 年 W. Sidler 等完成了 *M. laminosus* 中的三种藻胆蛋白的氨基酸序列测定,其中 C-藻蓝蛋白的  $\alpha$  和  $\beta$  亚基分别由 162 个氨基酸和 172 个氨基酸组成。这些工作表明藻胆蛋白的多肽链具有高度的保守性<sup>[2]</sup>,  $\alpha$  或  $\beta$  亚基内的保守性高于二者之间的保守性。

藻红蛋白是红色,藻蓝蛋白和变藻蓝蛋白是蓝色,这全是由于有不同的开链的四吡咯辅基。按照其分子结构不同,这些辅基分别称为藻红胆素(PEB),藻蓝胆素(PCB)和藻尿胆素(PUB)。此外还有未测定出结构的发色团(PXB)。据部分文献,现将它们在亚基中的分布和含量列于表 2。

### 三、藻胆蛋白结晶学研究概况

十多年来,许多科学工作者对下述几种藻胆蛋白进行了艰苦的晶体学研究,他们取得的

表 2 藻胆蛋白中的亚基和藻胆素<sup>[2]</sup>

藻胆蛋白	亚基组成	稳定聚集态的最低分子量	每个多肽上的发色团
B-藻红蛋白	$(\alpha\beta)_6\gamma$	240,000	$\alpha$ -2PEB $\beta$ -4PEB $\gamma$ -2PEB, 2PUB
b-藻红蛋白	$(\alpha\beta)_n$	—	$\alpha$ -2PEB $\beta$ -4PEB
C-藻红蛋白	$(\alpha\beta)_6$	230,000	$\alpha$ -2PEB $\beta$ -4PEB
R-藻蓝蛋白	$(\alpha\beta)_3$	130,000	$\alpha$ -1PCB $\beta$ -1PCB, 1PEB
C-藻蓝蛋白	$(\alpha\beta)_3$	120,000	$\alpha$ -1PCB $\beta$ -2PCB
藻红蓝蛋白	$(\alpha\beta)_3$	103,000	$\alpha$ -1PXB $\beta$ -2PCB
变藻蓝蛋白 B	$(\alpha\beta)_3$	98,000	$\alpha$ -1PCB $\beta$ -1PCB
变藻蓝蛋白 II	$(\alpha\beta)_3$	105,000	$\alpha$ -1PCB $\beta$ -1PCB

研究成果摘要列于表 3。表中列出的以藻蓝蛋白居多,八个种属有七种不同的晶体结构。西德 Schirmer 等<sup>[13]</sup>首先在 C-藻蓝蛋白的晶体结构上有所突破,他们根据 3 Å 分辨率的 X 射线衍射晶体结构提出了在一个晶体中  $(\alpha\beta)_3$  的分子模型。每个  $(\alpha\beta)$  围绕着结晶学的三重轴排布(如图 1),形成一个直径为 110 Å 高为 30 Å 的圆盘状分子,分子中心有 35 Å 直径的空洞。 $\alpha$  和  $\beta$  亚基由一个局部的二重轴关联,表现出结构上的一定类似性。每个亚基肽链折迭成八



图 1 C-藻蓝蛋白  $(\alpha\beta)_3$  分子沿结晶学三重轴的立体对投影图<sup>[13]</sup>

—代表  $\beta$  亚基 —代表  $\alpha$  亚基

表 3 几种藻胆蛋白结晶学研究的主要结果

研究者姓名	藻类名称	藻胆蛋白	主要结果
Dobler 等 <sup>[7]</sup> (1972年)	<i>M. laminosus</i>	C-藻蓝蛋白	初步结晶学研究 P63, $a = b = 154.1 \text{ \AA}$ , $c = 40.07 \text{ \AA}$ , $\gamma = 120^\circ$
Fiserling 等 <sup>[8]</sup> (1974年)	<i>Synechococcus</i> sp. 6301	C-藻蓝蛋白	初步结晶学研究 沿着堆积方向的重复周期60 Å
Mackert 等 <sup>[9]</sup> (1977年)	<i>Agmenellum</i> <i>quadruplicatum</i>	藻蓝蛋白	初步结晶学研究 P321; $a = b = 188.7 \text{ \AA}$ , $c = 60 \text{ \AA}$ $\gamma = 120^\circ$ M. W. = 120,000
Sweet 等 <sup>[10]</sup> (1977年)	<i>Arabaena</i> <i>variabilis</i>	C-藻蓝蛋白	初步结晶学研究 P63, $a = b = 154 \text{ \AA}$ , $c = 40 \text{ \AA}$ , $\gamma = 120^\circ$ 不对称单位中含有 $(\alpha\beta)_2$ , 分子量 $7 \times 10^4$ 与 Dobler 等的晶体是同晶形。
Fisher 等 <sup>[11]</sup> (1980年)			5 Å 分辨率晶体结构 P63, $a = b = 154.1 \text{ \AA}$ , $c = 40.1 \text{ \AA}$ , $\gamma = 120^\circ$ 圆盘状分子, 110 Å (外径) $\times$ 40 Å (高); 中心空洞直径 20 Å. 三个结构域, 可分辨 $\alpha$ -螺旋柱状电子云区域。
Sweet 等 <sup>[10]</sup>	<i>Porphyridium</i> <i>cruentum</i>	B-藻红蛋白	初步结晶学研究 R3, $a = b = 189 \text{ \AA}$ , $c = 60 \text{ \AA}$ , $\gamma = 120^\circ$ 分子聚集态 $(\alpha\beta)_2$ , $\gamma$ , 分子量 240,000 不对称单位中含有 $(\alpha\beta)_2\gamma_{1/3}$
Fisher 等 <sup>[11]</sup>			5.25 Å 分辨率晶体结构 R3, $a = b = 189 \text{ \AA}$ , $c = 60 \text{ \AA}$ , $\gamma = 120^\circ$ 圆盘状分子, 107 Å (外径) $\times$ 55 Å (高); 分子有 32-D <sub>3</sub> 对称性, 六个对称等效单位. $\gamma$ 链位于 3 重轴周围的无序的, 低电子密度区域, 以 1/3 占有率占有三个等效位置。
Morisset 等 <sup>[12]</sup> (1984年)	<i>Chroomonas</i> sp.	Cryptomonad 藻蓝蛋白-645	初步结晶学研究 两种晶态: 三方 P3 <sub>2</sub> 1/P3 <sub>2</sub> 1 正交 P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 不对称单位中有两个或三个 $(\alpha'\beta_2)$
Schirmer 等 <sup>[13]</sup>	<i>M. laminosus</i>	C-藻蓝蛋白	3 Å 分辨率的晶体结构 P63, $a = b = 154.6 \text{ \AA}$ , $c = 40.5 \text{ \AA}$ , $\gamma = 120^\circ$ 与 Dobler 等的是一种晶体, 与 Sweet 等的是同晶形, 获得较多重要的结构信息。
梁丽等* (1986年)	<i>Porphyra</i> <i>yezoensis</i>	R-藻红蛋白	初步结晶学研究 R3 或六方晶系. $a = b = 109 \text{ \AA}$ , $c = 58 \text{ \AA}$ , $\gamma = 120^\circ$ 分子聚集形式 $(\alpha\beta)_n$ , $\alpha = 19,000$ , $\beta = 19,800$

\*梁丽等: «X 射线衍射用的 R-藻红蛋白晶体生长»(待发表)

个螺旋, 并形成一个无规则的环。其中六个螺旋排布成一个球部, 而另外两个螺旋竖起来, 在亚基之间形成中等强度的联结。球部螺旋的排布类似于球蛋白的折迭。α 和 β 亚基的半胱氨酸 84 连结的发色团拓朴上等价于血红蛋白。C-藻蓝蛋白的所有的九个发色团 (开链的四吡咯

辅基) 构象处于一个伸展状态, 如图 2 所示。在这个 C-藻蓝蛋白中的发色团中心之间的最短距离是 22 Å。目前关于实现能量传递机制有激子耦合和诱导共振 (Fürster 机制)<sup>[14]</sup> 等假说。但 C-藻蓝蛋白  $(\alpha\beta)_3$  的 3 Å 晶体结构结果表明, 发色团间最短距离为 22 Å, 这对于有效的

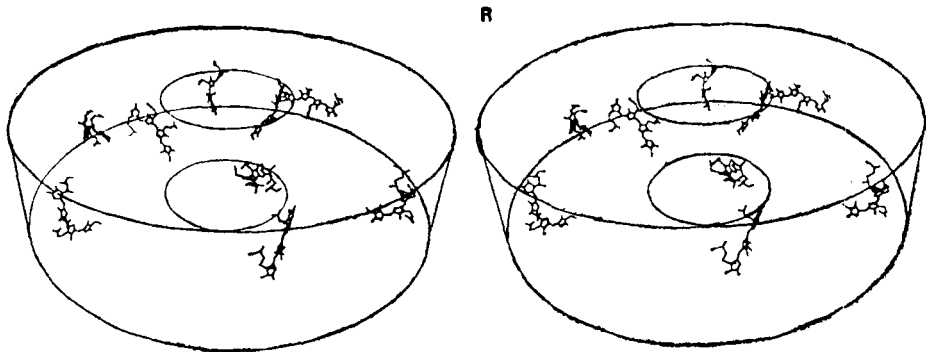


图2 C-藻蓝蛋白( $\alpha\beta$ ), 中发色团的排布<sup>[13]</sup>.

观察方向是与三重轴成 $60^\circ$ 角. 三聚体的外形用一个高 $30\text{ \AA}$ , 外径 $110\text{ \AA}$  内径 $35\text{ \AA}$  的空心圆柱表示.

激子耦合的能量传递机制似乎显得太大了. 可是对于诱导共振的能量传递则显得是有可能的. 希望通过今后晶体学结构修正工作, 得到更精细的结构参数, 进一步查明在藻胆体中无辐射高效率的能量传递机理.

在蓝绿藻和红藻中的三种主要藻胆蛋白中, 唯有藻红蛋白存在于部分种属中<sup>[15]</sup>. 国外发现在人工培育的紫球藻 (*P. cruentum*) 中含有四种主要的藻胆蛋白, 其相对含量是: 变藻蓝蛋白为5%, R-藻蓝蛋白为11%, b-藻红蛋白为42% 和 B-藻红蛋白为42%, 以藻红蛋白为最高, 因而引起人们对它的极大兴趣. 人们先后对 B-藻红蛋白晶体进行了初步结晶学<sup>[10]</sup> 和  $5.25\text{ \AA}$  分辨率的晶体结构研究<sup>[11]</sup>. 但由于 ( $\alpha\beta$ )<sub>6</sub> 的  $\gamma$  链在  $R_3$  空间群中处于某种无序状态, 这给晶体结构分析带来一定困难. 可喜的是中国沿海盛产一种名条斑紫菜的藻类, 含有丰富的 R-藻红蛋白, 且无  $\gamma$  链, 已为最近的研究所证实<sup>[16]</sup>. 目前已获得 X 射线衍射实验适用的单晶体, 并已开始了初步结晶学的研究, 因而可以作为研究光子传递给叶绿素 a 的第一步的理想材料. 笔者认为, 如果我国能充分利用这一有利条件, 组织人力, 积极开展条斑紫菜中 R-藻红蛋白晶体学结构的研究, 必将为揭开光合作用中光子传递机制作出贡献.

本文承蒋丽金先生指正, 特此致谢.

### 参 考 文 献

- [1] Fenna, R. and Matthews, B. W.: *Nature*, **258**, 573—577, 1975.
- [2] Deisenhofer, J. et al.: *J. Mol. Biol.*, **180**, 385—398, 1984.
- [3] Glazer, A. N.: *Biochemistry of Plants*, vol. 8, 51—96, Academic Press, Inc. 1981.
- [4] Glazer, A. N.: *Biochim. Biophys. Acta*, **768**, 29—51, 1984.
- [5] Gantt, E.: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **32**, 327—347, 1981.
- [6] 蒋丽金: «光合作用研究进展»(第二集), 50—65, 中国科学院植物生理研究所、植物研究所主编.
- [7] Döber, M. et al.: *J. Mol. Biol.*, **71**, 785—787, 1972.
- [8] Eiserling, F. A. and Glazer, A. N.: *J. Ultrastruct.*, **47**, 16—25, 1974.
- [9] Hackert, M. L. et al.: *J. Mol. Biol.*, **111**, 365—369, 1977.
- [10] Sweet, R. M. et al.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 22, 8258—8260, 1977.
- [11] Fisher, R. G. et al.: *J. Biol. Chem.*, **255**, 11, 5082—5089, 1980.
- [12] Morisset, W. et al.: *Arch. Microbiol.*, **140**, 202—205, 1984.
- [13] Schirmer, T. et al.: *J. Mol. Biol.*, **184**, 257—277, 1985.
- [14] Förster, Th. and Glazer, A. N.: *Comparative Effects of Radiation* (By Burton, M. et al. eds.), 300, Wiley, New York, 1960.
- [15] Glazer, A. N.: *Photochem. Photochem. Photobiol. Rev.*, **1**, 71—115, 1976.
- [16] 曾繁杰等: «中国科学», **4**, 364—368, 1986.