

CCD 皮秒扫描成象对光系统Ⅱ发射光谱研究^{*}

贺锋涛^{1,2} 贺俊芳² 张 舒^{1,2} 王水才² 侯 洵^{1,2} 单际修³ 匡廷云³

(¹ 中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学技术国家重点实验室, 西安 710068)

(² 西北大学光子学与光子技术研究所, 西安 710069)

(³ 中国科学院植物研究所, 北京 100039)

摘 要 采用 82MHz、514.5nm 的 Ar⁺ 激励光源, 通过我们所建立的 CCD 皮秒扫描成象发射光谱装置分别对 PS Ⅱ 颗粒, 内周天线 CP43、CP47, 外周天线 LHC Ⅱ 四种样品的发射光谱进行扫描成象, 直接、快速地获得了它们的发射光谱曲线. 通过分析认为, PS Ⅱ 的发射荧光很大程度上是由内周天线 CP47 中的叶绿素 a 所发出的.

关键词 PS Ⅱ; CP43; CP47; LHC Ⅱ; 发射光谱

0 引言

光合作用是地球上唯一可大规模把太阳能转变成化学能, 将无机物转变成有机物并放出氧气的过程, 它是维持地球上生命活动最根本的反应. 在光合作用中, 光合器官在光激励下进行一系列复杂的反应过程, 它所跨越的时间范围比较宽: 10⁻³ ~ 10⁻¹⁵ s. 这一系列复杂的反应过程是由两个光系统, 光系统 I (PS I) 和光系统 II (PS II) 来完成. 其中在光系统 II (PS II) 内进行了光合作用最初的光反应过程, 发射光谱不仅可以反映光合作用的原初光化学特点, 而且还可以反应激发分子的衰变特征. 所以我们对 PS II 的发射光谱进行了研究.

的皮秒光脉冲对样品进行激发, 同时使用 pin 管对激光器的锁模状况进行实时监测. 样品激发后

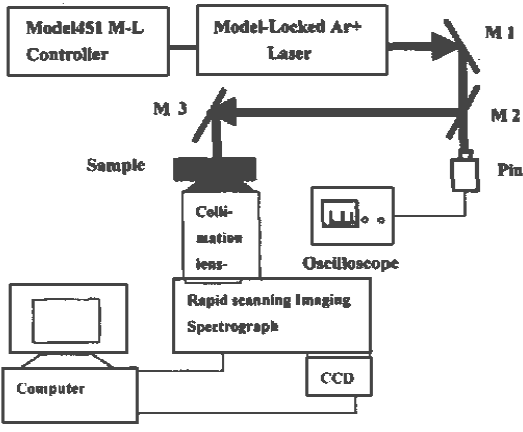


图 1 CCD 皮秒扫描成象发射光谱装置

Fig. 1 CCD picosecond scanning emission spectroscopy equipment

1 实验原理及装置

为了对 PS II 的发射光谱进行研究, 我们建立了一套 CCD 皮秒扫描成象发射光谱装置, 如图 1 所示. 这套装置的测量原理为: 样品在被光激发后所发射荧光经快速扫描单色光谱仪进行扫描, 扫描后的发射光谱经 CCD 成象, 然后经计算机内 Winview 软件处理, 直接得到样品的发射光谱曲线.

所发荧光经准直系统后, 将以近似平行的方式传输, 高效的耦合进快速扫描成象单色光谱仪, 使得荧光收集效率大大提高, 为 CCD 对荧光光谱的直接探测提供了有利条件.

1.1 激发光源

激发光源为美国 Spertra Physics 公司的

实验中我们采用 Ar⁺ 激光器主动锁模后输出

Beamlok 2085-15 型 Ar^+ 激光器, 加主动锁模头后, 可得到重复频率为 82MHz, 脉冲宽度小于 200ps 的脉冲序列. 其波长可从紫外光到可见光调谐, 实验中使用 514.5nm 波长、单线锁模输出.

1.2 样品池

我们的样品池很薄, 厚度为 1mm, 为消除热效应对样品性质的影响, 采用冷却循环蠕动泵使样品循环, 冰水混和物冷却, 将样品温度几乎控制在 0℃.

1.3 分光装置

我们使用的分光装置为 270MHz 快速扫描成像单色光谱仪, 具有两个输出通道, 通道 1 为全光谱输出, 通道 2 为单色输出, 由计算机控制可进行自动扫描, 具有宽的扫描范围(0~12000) 和高的光谱分辨率(0.03nm).

1.4 探测系统

对于微弱发射荧光信号的探测, 一般采用低噪音光电倍增管和 Boxcar 系统, 为了对其光谱进行测量, 必须采取步进的方法, 对不同波长下的信号进行测量, 然后对这些信号进行解卷积和数据拟合, 数据采集时间较长, 增加了样品的光照时间, 且不能直接获得荧光光谱信号.

我们使用 TECCD1242×1152 型 CCD 作为探测系统, 它配有冷却的高灵敏面阵和内配数据采集板的 486 微机及 Winview 处理软件, 可直接、快速获得 CCD 面阵上的发射光谱强度分布曲线.

2 结果与讨论

为了获得 PS II 内部微观信息, 我们采用这套 CCD 皮秒扫描成像发射光谱装置分别对 PS II 颗粒, 内周天线 CP43、CP47, 外周天线 LHC II 四种样品的发射光谱进行了研究.

样品的发射荧光参量往往受样品浓度的影响, S.L. Shapiro 等人通过对 Chlb 的发射荧光光谱测量得知, 存在浓度猝灭, 随着浓度的增加, 荧光的寿命减小, 并且衰变规律也发生了变化. 一般样品浓度为 10^{-4} mol/L , 超过此浓度就要考虑猝灭因素. 因此我们采用了 $2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的较低浓度.

由于样品对光很敏感, 在强光照射下易降低样品的化学活性. 如果长时间的强光照射, 会引起样品机体的修复速率低于破坏速率, 则可造成样品的不可逆破坏. 因此实验时应在较短的时间

内采集数据, 而我们这套装置直接对样品荧光光谱进行成像, 可在数秒钟内完成数据的采集, 大大缩短了样品的光照时间. 同时使用 100mW 以下的较低光强, 图 2 为我们所测到的四种样品的发

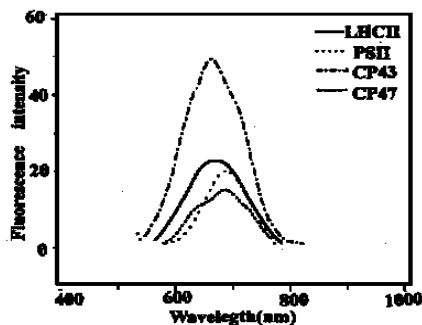


图 2 LHC II, PS II, CP43, CP47 的发射光谱

Fig. 2 Emission spectra of LHC II, PS II, CP43, CP47 射光谱. 其光谱范围和峰值波长分别为(562~789) nm, 672nm (LHC II); (540~826) nm, 670nm (CP43); (584~773) nm, 690nm (CP47); (581~773) nm, 690nm (PS II). 我们知道: PS II 主要由集光系统和反应中心组成, 集光系统又分为外周天线 LHC II 和内周天线(CP43、CP47). 其中外周天线距离反应中心较远, 激发态要比内周天线高, 它键接了 PS II 中大约 65% 的叶绿素分子和绝大多数的辅助色素分子, 主要功能就是吸收光能并将激发能传递到内周天线. 内周天线 CP43 和 CP47 是与 PS II 反应中心紧密结合的核心天线蛋白, 除了将外周天线蛋白捕获的光能传递到反应中心, 还具有维持反应中心稳定性, 保持放氧活性的功能^{1,2} 它们的激发能与反应中心激发能相当. 反应中心是进行光化学反应的单元, 它将激光系统陷获的能量以稳定的化学能储存起来.

从我们所测到的 PS II 颗粒、CP43、CP47、LHC II 四种样品的发射光谱来看, 外周天线 LHC II 发射光谱与内周天线 CP43、CP47 的吸收光谱均有很大程度的重叠, 这与 LHC II 吸收光能并将激发能传递到内周天线的功能是一致的. Alfonso 等人^{3~5} 通过研究均以证明: 内周天线 CP43、CP47 除了结合 Chla 分子外, 还分别结合了 4 或 5 个和 3 或 4 个 β 胡萝卜素. 单际修等人⁶ 通过对 CP43、CP47 进行选择性的激发后证明, β 胡萝卜素和 Chla 分子之间存在能量传递, CP43、CP47 中的荧光均是由 Chla 所发射. 从我们测到的 CP47 与 PS II 颗粒荧光发射光谱看, 它们的光谱范围基本相同, CP47 为 (584~773) nm, PS II 颗粒为 (581, 773) nm. 且峰值波长相同, 均为

690 nm. 所以 PS II 中的荧光在很大程度上是由 CP47 中的 Chla 所发射的.

参考文献

- 1 Bricker T M. The structure and function of Cpa and cpa-2 in photosystem II. Photosynth Res, 1990, 24; 1~13
- 2 Bassi R, Hoyer-Harsen G, Barbato R, et al. Chlorophyll proteins of the photosystem II antenna system. J Biol Chem, 1987, 262; 13 333~13 341
- 3 Alfonso M, Montoya G, Gases R, et al. Core antenna complexes, CP43 and CP47, of high plant photosystem II spectral properties, pigment stoichiometry, and amino acid composition. Biochemistry, 1994, 33; 1094~10500
- 4 单际修, 王居硕, 匡廷云等. 光系统 II 核心天线 CP43 和 CP47 的分离纯化及光谱性质研究. 生物物理学报, 1999, 15 (1); 142~151
- 5 单际修, 王居硕, 刘玉龙. 等纯化光系统 II (PS II) 核心天线复合 CP43 和 CP47 的共振喇曼光谱. 植物学报, 1999, 41 (3); 280~284
- 6 单际修, 王居硕, 李良璧, 赵南明, 匡廷云. 光系统 II 核心天线 CP43, CP47 中 β -Car 与 Chla 分子间的能量传递, 科学通报, 2000, 45(2); 183~187

EMISSION SPECTRA OF PS II STUDIED BY CCD PICOSECOND SCANNING IMAGE SPECTROSCOPY

He Fengtao^{1,2}, He Junfang¹, Zhang Shu^{1,2}, Wang Shuicai¹, Hou Xun^{1,2},
Shan Jixiu³, Chen Yaodong³, Kuang Tingyun³

¹National Key Laboratory of Transient Optics Technology Laboratory, Xi'an Institute of Optical and Precision Mechanics, Academia Sinica, Xi'an 710068

²Institute of Photonics and Photon Technology, Northwestern University, Xi'an 710069

³Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing 100039

Received date: 2000-04-06

Abstract In this article, a CCD picosecond scanning image spectroscopy is introduced to measure emission spectra of four samples, PS II particle, CP43, PC47 and LHC II in a direct and fast way. The samples are excited by 82MHz Ar⁺ laser centered at 514.5nm. The experiment result shows that the main part of the fluorescence spectrum of PS II is aroused by Chla in inner antenna CP43.

Keywords PS II; CP43; CP47; LHC II; Emission spectrum



He Fengtao was born in 1974. He received his B.S. degree in 1998 in the department of physics, Northwest University. He is studying for his M.S. degree in Northwest University now. His current research interest lies in the ultrafast process of PS II of photosynthesis.