

光系统Ⅱ捕光复合体飞秒时间分辨荧光特性的研究

任兆玉^{1,2,3} 贺俊芳^{1,2} 王水才¹ 侯 洵^{1,2} 匡廷云⁴

(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 710068; 3. 西北工业大学应用物理系, 西安 710072;
4. 中国科学院植物研究所光合作用基础研究开放实验室, 北京 100039)

摘要: 采用时间分辨荧光光谱技术研究了菠菜 (*Spinacia oleracea* L.) 叶绿体中捕光色素复合体 (LHCⅡ) 荧光的时间特性和光谱特性。用脉宽为 120 fs、波长为 400 nm 的倍频钛宝石激光激发 LHCⅡ样品; 原始荧光信号由 Boxcar 采集, 通过建立多指数模型, 用非线性最小二乘法拟合, 得到了激发能在 LHCⅡ中传递的时间常数分别为: 320 fs、4.0 ps 和 20.0 ps。相对应的各组分荧光占总荧光的百分比分别为: 3.4%、50.0% 和 46.6%。经全局分析, 解得荧光强度随波长变化曲线; 用高斯 3 峰解叠得到荧光光谱的峰值波长分别为: 652 nm、672 nm 和 691 nm。通过分析得出了时间常数与 LHCⅡ中各色素成分之间的对应关系, 并给出了可能的能量传递模型。

关键词: 捕光复合体(LHCⅡ); 能量传递; 时间常数; 荧光特性; Chl a/b

中图分类号: Q945.11 文献标识码: A 文章编号: 0577-7496(2001)12-1237-06

Studies on Femtosecond Fluorescence Properties of Light-harvesting Complex in Photosystem Ⅱ

REN Zhao-Yu^{1,2,3}, HE Jun-Fang^{1,2}, WANG Shui-Gai¹, HOU Xun^{1,2}, KUANG Ting-Yun⁴

(1. State Key Laboratory of Transience Optics Technology, Xi'an Institute of Optics, The Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068, China;
2. Institute of Photonics and Photon-technology, Northwest University, Xi'an 710068, China;
3. Applied Physics Department, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China;
4. Laboratory of Photosynthesis Basic Research, Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: Fluorescence properties of light-harvesting complex (LHCⅡ) in photosystem Ⅱ isolated from spinach (*Spinacia oleracea* L.) was investigated with the time-resolved fluorescence spectroscopic technique. The sample was excited by double frequency Ti:Al₂O₃ laser with 400 nm wavelength and 120 fs width. Fluorescence signal was detected by Boxcar. Three life-time components (320 fs, 4.0 ps and 20.0 ps) were obtained by multi-exponential curve model and nonlinear least-square fitting method. Three fluorescence peaks (652 nm, 672 nm, 691 nm) were obtained by Global analysis and Gauss curve fitting. These components were analyzed according to the structural and fluorescence spectroscopic property of LHCⅡ. The fluorescence ratio of each component to that of all the component was 3.4%, 50% and 46.6% respectively. The possible model of energy transfer in LHCⅡ was discussed.

Key words: light-harvesting complex; energy transfer; time constant; fluorescence properties; Chl a/b

在高等植物的光系统Ⅱ(PSⅡ)中,反应中心进行光化学反应所需要的能量主要是由捕光色素复合物(LHCⅡ)吸收来自太阳的光能,经过天线色素系统(LHCⅡ、CP43、CP47)传递至反应中心,最后被反应中心 Chl a 680 陷获而得到。因此,光能的吸收、传递和陷获是反应中心获得能量的主要方式。外周天线 LHCⅡ 是目前研究得最多的捕光色素复合物,它结合了绿色植物近 50% 的叶绿素分子。在高等植物转绿的过程中,LHCⅡ 首先形成的是单体,然后再形成三聚体^[1,2]。LHCⅡ b 是其中主要的三聚体

复合物,键接了大约 60% 的 PSⅡ 叶绿素。较小的复合物有 CP29、CP26、CP24,都是单体结构,每一个仅键接了 5% 的 PSⅡ 叶绿素^[3,4]。Kühlbrandt 等^[2]用分辨率为 3.4 Å 的电子结晶术研究了豌豆的 LHCⅡ 三维结晶结构,表明 LHCⅡ 中的每一个单体都包含 3 个跨膜 α 螺旋,由 7 个 Chl a 和 5 个 Chl b、2 个类胡萝卜素、2 个叶黄素分子排成两层。这些数据表明所有的 Chl b 与 Chl a 紧密相邻,大部分 Chl a 与胡萝卜素紧密相邻,由此提供了从 Chl b 到 Chl a 和三线态的 Chl a 到胡萝卜素的快速高效的能量传递。构

收稿日期: 2000-11-14 接受日期: 2001-04-12
基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(G1998010100)。Supported by State Key and Basic Research Development Plan of China (G1998010100)。

成每个亚单元(单体)的色素分子(Chl a、Chl b、类胡萝卜素、叶黄素)都有多种光谱状态。一些低温下的吸收光谱、荧光光谱、圆二色谱、线二色谱^[5-8]及其他光谱实验已经在 LHC II 单体中发现了 6 种以上的光谱成分:P648、P660、P669、P678、P684、P695。超快光谱实验^[9-12]研究报道了能量在 LHC II 中的传递时间主要发生在 200~500 fs、2~6 ps、14~36 ps 以及纳秒数量级的长寿命组分。Holzwarth^[13]根据诸多测量结果,于 1995 年在第十届国际光合作用大会上提出了能量在 Chl b 650 → Chl a 675 的传递时间为 290 fs;在 Chl b 655 → Chl a 680 的传递时间为 3.7 ps;在 Chl a 675 → Chl a 680 的传递时间大于 10 ps。研究激发态分子的荧光衰变是揭示分子间能量传递机理及其动力学规律的重要手段,本文通过对色素分子之间的能量传递机理进行分析,采用飞秒时间分辨荧光光谱技术,研究了 LHC II 超快荧光的时间特性和光谱特性以及能量在 LHC II 中各色素之间传递的超快过程。

1 激发能在天线阵列中的传递机理

当一个色素分子吸收光能后,该分子中的电子将从基态跃迁至激发态的某个振转能态。由振转能态退激发到同一能级的最低振动能态的时间是 10⁻¹²~10⁻¹⁴ s,而荧光发射的时间是 10⁻⁹ s,因此,在荧光发射之前电子早已从较高的振转能态逐级下降到同一电子能级的最低能态(此部分能量以热能的形式散发到周围环境中)。在该能级的最低能态又很快地被以内转换(释放热能的方式而无辐射跃迁到低激发态)、发射荧光、能系间交叉、以及能量传递等各种物理过程所“湮灭”。处在第一激发态的色素分子内转换发生的时间与荧光发生的时间是同一数量级——10⁻⁹ s,两者是相互竞争的。当处在激发态的色素分子把激发能传递给相邻分子,自己回到基态,而相邻分子跃迁到激发态,形成了能量传递。

可以激发能在色素间的传递过程看作一个无辐射过程,它源于激发能供体分子与受体分子之间的库仑相互作用。描述相同分子间电子激发能转移的现代量子理论是 Förster 创立的,而这个理论关于叶绿素方面的内容由 Knox 给出^[14]。当考虑两个叶绿素分子 D (供体) 和 A (受体) 之间的能量耦合过程时,设其初态(D 被激发,而 A 处于基态)和终态(D 回到基态,而 A 被激发)的波函数分别为 Ψ_I 和 Ψ_F

$$\Psi_I = \frac{1}{\sqrt{2}} [\Phi_D^*(1) \Phi_A^0(2) \pm \Phi_D^*(2) \Phi_A^0(1)] \quad (1)$$

$$\Psi_F = \frac{1}{\sqrt{2}} [\Phi_D^0(1) \Phi_A^*(2) \pm \Phi_D^0(2) \Phi_A^*(1)] \quad (2)$$

式中 Φ_D^{*}和 Φ_A^{*}分别表示 D 和 A 在激发态和基态时的波函数;1 和 2 表示参与激发的两个电子。由于两分子之间的库仑相互作用势 V_{DA}是导致电子激发态转移的 Hamilton 量,则 D、A 分子间的能量传递速率 K_{DA}由 U_{DA}=<Ψ_I|V_{DA}|Ψ_F>决定。

考虑在 V_{DA}比单个分子的振动能量小得多的极弱耦合情况下(即两个分子间的距离 R_{DA}相对较远,大于 2 nm 时),由量子力学中与时间相关的一阶含时微扰理论,可推导出能量从供体 D 传递给受体 A 的速率方程为^[8]:

$$K_{DA} = \frac{9\kappa^2(\ln 10)c^4}{128\pi^5 n^4 N \tau_0 R_{DA}^6} \int_0^\infty f_D(v) \epsilon_A(v) \frac{dv}{v^4} \quad (3)$$

其中 τ₀为无受体存在时给体激发态的固有辐射寿命;v 为光子的波数;ε_A(v)为受体分子的吸收系数;f_D(v)为给体发射荧光的光谱分布函数;c 为光速;n 为介质折射率;N 为阿佛加德洛常数;K = cosα - 3cosβ₁conβ₂ 为趋向因子,取决于分子间的相对趋向;α 为两分子跃迁极矩 $\vec{\mu}_A$ 和 $\vec{\mu}_D$ 间的夹角,β₁ 和 β₂ 分别为两分子跃迁极矩与它们中心连线间的夹角。K² 的最大值为 4,最小值为 0,对所有可能的趋向平均得 K²=2/3。若令

$$R_0^6 = \frac{9\kappa^2(\ln 10)c^4}{128\pi^5 n^4 N} \int_0^\infty f_D(v) \epsilon_A(v) \frac{dv}{v^4} \quad (4)$$

为 D 和 A 之间的临界距离,可由荧光光谱与吸收光谱的叠加来确定。将(4)式代入(3)式可得:

$$K_{DA} = \frac{\kappa^2}{\tau_0} \left(\frac{R_0}{R}\right)^6 \quad (5)$$

由(5)式得出,在弱耦合情况下分子间能量传递速率与两分子间距离的 6 次方成反比。当 R = R₀ 时, K_{DA}=1/τ₀, 则能量传递时间 τ_t=τ₀;当 R > R₀ 时, 则 τ_t>τ₀,说明能量的共振传递时间比荧光寿命还长,能量尚未来得及传递,激发态就已经以发射荧光的方式退激发了;当 R < R₀ 时, τ_t<τ₀,则共振传递较快,D、A 之间能量传递占优势。

当两个色素分子在空间上靠得足够近(距离小于 2 nm)时,它们的电子云重叠,两分子之间的相互作用势 V_{DA}比单个分子中电子跃迁的作用强,此时两分子构成一个双分子二聚体。一旦其中一个分子被激发,这种强耦合无法区分处于激发态的电子是属于哪个分子的,形成一个瞬间定域的相干激子。需用激子传递理论解释相同分子间的光能传递,激发态被想象成为一个谐振子在 D 和 A 之间来回振

荡,其谐振频率为 $2cU_{DA}^C$,但永远不属于某一个分子。在这种情况下,表征能量传递速率的方程^[15]为:

$$K_{DA}=4cU_{DA}^C=4c\times 5.04\frac{|\vec{\mu}_A|\times |\vec{\mu}_D|}{R_{DA}^3}K\tag{6}$$

在这个双分子构成的双聚体中,D 和 A 之间激发态的转移反比于两分子间距离的 3 次方。如对于 Chl b 和 Chl a,假定它们之间距离为 1.2 nm,应用 Förster 及 Knox 理论,可以算出激发能在此期间传递的时间小于 200 fs;如果 Chl a 670 与 Chl a 680 分子间的距离为 3 nm,可算得它们之间的能量传递时间为 21 ps。

如果对于由多个分子强相互作用构成的多聚体,当其中一个分子的电子被激发后,该激发电子在这个多聚体中是非定域的,亦形成一个无定域激子。那么,能量传递可以被看作这个被激发了的激子态在由叶绿素聚体组成的天线阵列的晶格点阵中随机跳跃而形成“激子迁移”,即激发能先在其所在的分子聚体中非局域化传递,然后很快失去相干性,与另一个色素分子构成的分子聚体(两分子聚体间属于 Förster 弱耦联)发生 Förster 随机跳跃。

假设在由叶绿素分子多聚构成的天线阵列的晶格点阵中,第 P_i 色素分子处于激发态成为激子的几率 ρ_i 可由 Knox 加以推广的 Förster 主方程^[14]描述:

$$\frac{d\rho_i}{dt}=-\sum_j^N(k_{ij}^*\rho_i-k_{ji}^*\rho_j)-\frac{1}{\tau_i}\rho_i\tag{7}$$

其中 $k_{ij}^*\rho_i$, $k_{ji}^*\rho_j$ 是色素分子 P_i , P_j 之间的 Förster 正向传递速率和反向传递速率; τ_i 为发生相互作用时激发态的弛豫时间; N 为反应中心周围的天线色素分子数。求解主方程,可以得到与波长相关的多指数解。设能量向相邻分子迁移的时间为 τ_{mig} ,反应中心捕获能量和电荷分离的时间为 τ_{RC} ,则激子的寿命(即总激发能捕获的时间)为 $\tau=\tau_{mig}+\tau_{RC}$ 。对于一个二维规范晶格,晶格的结构功能因子用 f_P 表示, τ_{hop} 表示由式(3)、(6)给出的能量单步跳跃时间。则能量迁移的时间^[16]:

$$\tau_{mig}=\frac{1}{2}Nf_P(N)\tau_{hop}\tag{8}$$

设 $N\approx 100$, $f_P(N)\approx 0.5$, $\tau_{hop}\approx 500$ fs,可算得 $\tau_{mig}\approx 12.5$ ps。

2 方法和结果

2.1 实验方法

Ar⁺激光器全线工作,垂直偏振泵浦 Ti:Al₂O₃

锁模激光器。输出波长 800 nm,在色散补偿锁模状态下,输出脉宽一般情况下为 100 fs。重复频率为 82 MHz,相邻脉冲间隔为 12.2 ns。采用 BBO 晶体二倍频,输出光经三棱镜分光。其中 800 nm 基频光分为两束,一束经 PIN 转换接到示波器上监视锁模状况,另一束转换后用于触发 Boxcar。倍频激光(400 nm)经小孔限束,滤波片滤掉残余基频激光后聚焦于 LHC II 样品上激发样品荧光。荧光由准直镜收集,经单色仪色散后再由光电倍增管接收不同波长下的原始荧光信号,经放大器放大后输送到 Boxcar 信号平均处理器,由 Boxcar 记录不同波长下荧光强度随时间变化的实测数据。

2.2 实验材料

从菠菜(*Spinacia oleracea* L.)叶绿体中分离的 LHC II 样品是由中国科学院植物研究所提供,样品溶液保存于 30 mmol/L Mes, 400 mmol/L sucrose, 10 mmol/L NaCl, 5 mmol/L CaCl₂, pH 6.0 的 Mes-NaOH 缓冲液中,存于液氮中备用。实验时,叶绿素浓度取为 10 μg/mL。实验在黑暗中进行,测量时样品用冰水混合物循环冷却。

2.3 测量结果

测量过程中,单色仪的光谱步长定为 5 nm,荧光波长测量范围为 640~720 nm。图 1 给出由 Boxcar 采集的,在探测波长为 675 nm 下,LHC II 的荧光信号通过解卷积得到的真实荧光信号;图 2 给出与图 1 相对应各探测波长点下强度随波长变化的荧光光谱曲线。

2.4 数据处理

在对超短脉冲激光激发下的荧光发射系统产生

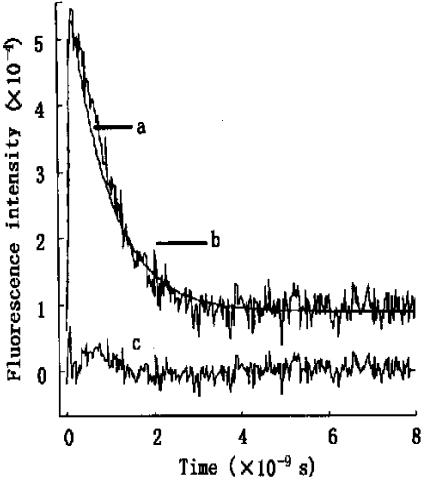


图 1. LHC II 样品荧光曲线。
Fig.1. LHC II fluorescence intensity-time curve.
a, multi-exponential fitting curve; b, real fluorescence curve obtained by deconvolution; c, fitting residual curve.

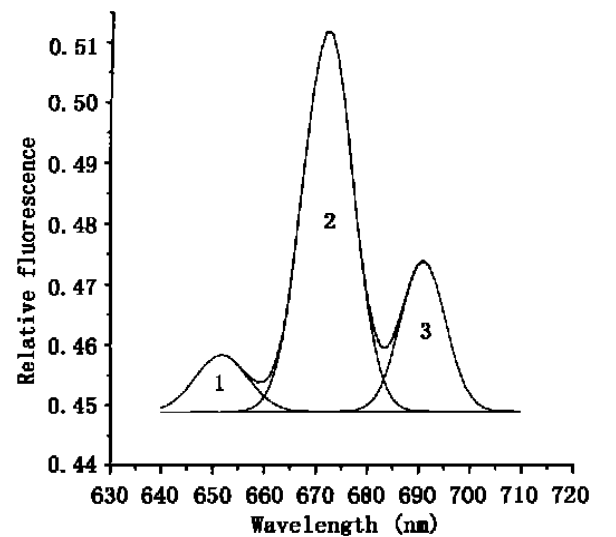


图 2. LHC II 样品的荧光强度随波长变化曲线。
Fig. 2. Fluorescence intensity-wavelength curves of LHC II .
Curves 1, 2 and 3 are the Gauss-three-pick-fitting waves of the fluo-
rescence .

的荧光进行测量时,由于荧光信号要受到激发光脉冲持续时间和仪器响应特性的影响,实际测得的荧光曲线并不是真实的荧光曲线,而是激发光波型、测量系统的响应函数与真实荧光曲线三者卷积的结果^[17]。因此必须在用数学模型拟合前通过解卷积运算将真实荧光曲线解析出来。

设激光脉冲为 $L(t)$, 系统响应为 $R(t, \lambda)$, 真实的荧光信号为 $S(t, \lambda)$, 实验测得的荧光信号为 $F(t, \lambda)$, 则:

$$F(t, \lambda) = R(t, \lambda) \times L(t, \lambda) \times S(t, \lambda) \quad (9)$$

令 $M(t, \lambda) = R(t, \lambda) \times L(t)$ 为系统对激光脉冲的冲击响应函数, 有

$$F(t, \lambda) = M(t, \lambda) \times S(t, \lambda) \quad (10)$$

所以真实信号 $S(t, \lambda)$ 可由实测荧光信号 $F(t, \lambda)$ 与系统对激光的响应信号 $M(t, \lambda)$ 解卷积而获得。解卷积求得真实荧光曲线如图 1 中曲线 b 所示。设真实信号的多指数拟合函数为 S' ,

$$S' = \sum_{j=1}^N C_j \times \text{Exp}(-t/\tau_j) \quad (11)$$

($j=1, 2, 3 \dots N$ 代表拟合项数, C_j 代表 j 时的幅度), 采用非线性最小二乘法运算

$$s^2 = \sum_i^{17} W_i [F_i - M_i \times S'_i]^2 \quad (12)$$

($i=1, 2, 3 \dots 17$ 代表实验测量的 17 个波长点, M_i 、 S'_i 和 F_i 分别代表第 i 个波长点下的 S' 、 $M(t, \lambda)$ 及 $F(t, \lambda)$) 其中 W_i 为权重因子, 在荧光衰减曲线中, 常用拟合最佳值 $M_i \times S'_i$ 的倒数确定, 一般用 F_i 的倒数近似代替。用 Nelder-Mead simplex 方法优化搜索, 可确定当 s^2 为最小时 S' 中的 C_j 及 τ_j 值。由上

述方法解得拟合曲线如图 1 中曲线 a 所示, 曲线 c 给出了拟合残差。图 2 给出与图 1 相对应的荧光光谱曲线的高斯三峰解叠结果。拟合结果见表 1。

表 1 LHC II 样品荧光时间常数拟合数据
Table 1 Fitting time constant of LHC II fluorescence

Components 1		Components 2		Components 3	
Time	Ratio	Time	Ratio	Time	Ratio
322.1 fs	3.4%	3.95 ps	50.0%	19.96 ps	46.6%

从表 1 中可以看出能量在 LHC II 中的传递时间常数为 322.1 fs、3.95 ps 和 19.96 ps, 相对应的各组荧光占总荧光的百分比分别为 3.4%、50.0% 和 46.6%。

2.5 结果分析

表 1 给出的时间常数以及图 1 给出的拟合曲线与进行测量的 17 个波长点无关, 说明荧光的时间特性仅与样品本身的微观结构及性质有关, 而与荧光波长无关。图 2 中荧光光谱的 3 个肩峰, 可由高斯多峰解叠解成 3 个高斯函数, 其峰值波长分别为 652 nm、672 nm 和 691 nm (插图中 x_i 的值, $i=1, 2, 3$), 半高全宽 (荧光光谱宽度) 分别为 10.2 nm、9.7 nm 和 8.7 nm (插图中 w_i 的值)。

Chl a 及 Chl b 分子在可见光区都有两个光谱吸收区^[5,7,8,18]: $S_0 \rightarrow S_1$ 跃迁的 Q 吸收带波长在 620~700 nm, 它们的吸收峰为 Chl a 660、Chl a 669、Chl a 678、Chl a 684、Chl a 695; Chl b 640、Chl b 648 nm; $S_0 \rightarrow S_2$ 跃迁的 B 吸收带波长在 380~470 nm, 吸收峰为 Chl a 425、Chl b 435。类胡萝卜素的吸收带波长在 380~500 nm。在我们实验中所测的荧光, 是由 400 nm 激光激发样品使样品中 Chl a、Chl b 分子在吸收光能后被激发 (时间大约在 fs 量级), 从 S_0 态 (基态) 跃迁到 S_2 态 (第二单线态), 然后以 $10^{12} \sim 10^{14} \text{ s}^{-1}$ 的速率无辐射退激发到 S_1 态 (第一单线态), 再从 S_1 态的 Q 吸收带辐射跃迁到基态 S_0 而发出荧光。因为荧光的 Stokes 红移, 其发射荧光光谱的峰值要比在 S_1 吸收带吸收光谱的峰值波长短。根据前文所述叶绿素在 Q 带的吸收光谱, 我们试图作如下分析: 实验测得的荧光峰值 652 nm 可看作为 Chl b 吸收 400 nm 的光子后无辐射跃迁到 Q 吸收带的 640、650 而发出的; 672 nm 荧光峰值可看作为 Chl a 吸收 400 nm 的光子后无辐射跃迁到 Q 吸收带的 Chl a 660、670, 以及由 Chl b 将激发能传递给 Chl a 660, Chl a 660 将激发能传递给 Chl a 670 而发出的; 691 nm 荧光峰值可看作为 Chl a 685 或 Chl a 690 吸收由

另一个 Chl a 670 或 680 等传递的激发能而发出的。

由前述 Förster 及 Knox 理论,能量传递速率不仅与色素分子间荧光发射峰与吸收峰的重叠程度有关,还与色素分子之间的距离有关。因为 Chl b 分子与 Chl a 紧密相连,同一膜平面和不同膜平面中,叶绿素分子之间最短中心距离分别是 9~14 Å 和 13~14 Å,呈现一种紧密的色素堆积结构^[2]。这正是色素分子之间强激子耦合的结构基础。并且 Chl a 分子的吸收光谱与 Chl b 的发射光谱重叠得非常好,使得 Chl b→Chl a 存在迅速的激发能量传递^[18],具有高达 90% 以上的能量传递效率^[19]。Kleima 等^[9]报道了在 77 K 的低温下,采用泵浦探测技术研究了 LHC II 中的能量传递过程,测得 Chl b→Chl a 有两个明显的时间组分:~200 fs 和 3 ps, Chl a 分子之间有一个明晰的能量传递过程即 18 ps。证明在单体和三聚体中均存在从 Chl b→Chl a 的快速传递(200 fs)。在三聚体中,部分 Chl b→Chl a 的传递发生在 600 fs。而且从 Chl b→Chl a 的传递只发生在单体的亚单元内部,不可能发生在不同的亚单元之间。Gradinaru 等^[19]采用亚皮秒脉冲激励 640 nm、650 nm 多波长探测技术对 Chl b/a 分子的能量传递进行研究,认为吸收 640 nm 的 Chl b 到 Chl a 的时间常数(350±100) fs,吸收 650 nm 的 Chl b 到 Chl a 的时间常数(2.2±0.5) ps。根据 LHC II 生理结构及能量传递机理,在一个单体中能量传递按强耦合的激子理论分析,在单体间和三聚体间能量传递按弱耦合理论分析;结合我们实验所得的结果,我们可设

想:(1) 322.1 fs 的时间组分属于一个单体内 Chl b 吸收 400 nm 的激发光子无辐射跃迁到 640 nm 而发射 652 nm 荧光到同一膜平面中吸收 660 nm 而发射 672 nm 荧光的 Chl a 的能量传递时间,可表示为 $\text{Chl b}_{400-650}^{652} \rightarrow \text{Chl a}_{660}^{672}$, 该项的荧光份额仅占总荧光的 3.4%,表明了能量在 Chl b→Chl a 的高效传输;(2) 3.95 ps 的时间组分属于同一单体中不同膜平面间 $\text{Chl b}_{400-650}^{652} \rightarrow \text{Chl a}_{660}^{672}$ 和 $\text{Chl a}_{400-660}^{672} \rightarrow \text{Chl a}_{670}^{691}$, 或 $\text{Chl a}_{400-670}^{672} \rightarrow \text{Chl a}_{685}^{691}$ 的能量传递时间,该项的荧光份额占总荧光的 50.0%;(3) 19.96 ps 的时间组分属于三聚体中不同单体之间,不同三聚体之间 $\text{Chl a}_{400-660}^{672} \rightarrow \text{Chl a}_{670}^{691}$, $\text{Chl a}_{400-670}^{672} \rightarrow \text{Chl a}_{685}^{691}$ 的能量传递时间,荧光份额占总荧光的 46.6%。

3 结论

对从菠菜中提纯的 LHC II 样品,采用时间分辨荧光光谱技术研究了其荧光的时间特性和光谱特性。经过数据处理,解得了能量在 LHC II 中传递的 3 个组分的时间常数,分别为:322.1 fs、3.95 ps、19.96 ps。相对应的各组分占总荧光的百分比分别为:3.4%、50.0%、46.6%。并且发现拟合的时间常数及荧光比与所测的荧光波长无关;在低浓度范围内,与样品的浓度无关。根据 LHC II 空间结构、激发能在天线阵列中的传递机理以及所测的荧光光谱,分析了能量在其中传递的超快过程,并就我们的实验结果,试给出激发能在 LHC II 中传递的能级关系示意图(图 3)。

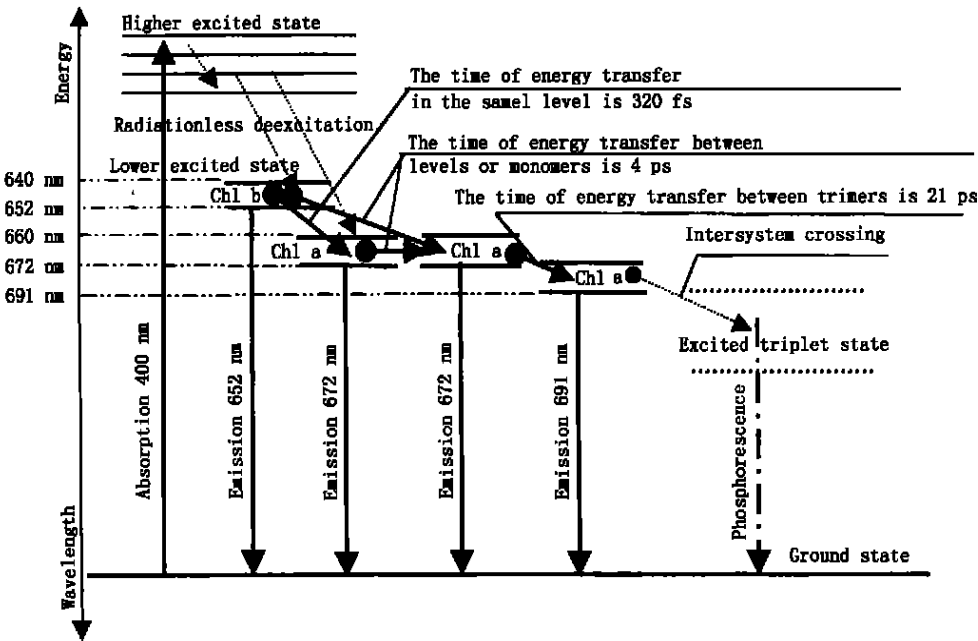


图 3. 激发能在 LHC II 中传递的能级关系示意图。
Fig.3. Diagrammatic representation of energy transfer in LHC II .

参考文献:

- [1] Vemmas W. Molecular-biological approaches to analyze photosystem II structure and function. *Annu Rev Physiol Plant Mol Biol*, 1993, **44**:457—481.
- [2] Kühlbrandt W, Wang D N, Fujiyoshi Y. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature*, 1994, **376**:614—621.
- [3] Horton P, Ruban A V, Walters R G. Regulation of light harvesting in green plant. *Annu Rev Physiol Plant Mol Biol*, 1996, **47**:655—684.
- [4] Stefan J. The light-harvesting chlorophyll a/b binding proteins. *Biochim Biophys Acta*, 1994, **1184**:1—19.
- [5] Hemelrijk P W, Kwa S L S, Grondelle R-V, Dekker J P. Spectroscopic properties of LHC II, the main light-harvesting chlorophyll a/b protein complex from chloroplast. *Biochim Biophys Acta*, 1992, **1098**:156—166.
- [6] Kwa S L S, Grondelle F G, Ameronger H-V, Lin S, Struve W S. Steady-state and time-resolved polarize light spectroscopy of the green plant light-harvesting complex II. *Biochim Biophys Acta*, 1992, **1101**:143—146.
- [7] Dau H, Saure K. Exciton equilibration and photosystem II exciton dynamics—a fluorescence study on photosystem II membrane particles of spinach. *Biochim Biophys Acta*, 1996, **1273**:175—190.
- [8] Grondelle R-V, Dekker J P, Gillbro T, Sundstrom V. Energy transfer and trapping in photosynthesis. *Biochim Biophys Acta*, 1994, **1187**:1—65.
- [9] Kleima F J, Gradinaru C C, Calkoen F, Stokkum I H M-V, Grondelle R-V, Amerongen H-V. Energy transfer in LHC II monomers at 77 K study by sub-picosecond transient absorption spectroscopy. *Biochemistry*, 1997, **36**:15262—15268.
- [10] Savikhin S, Amerongan H-V, Kwa S L S, Grondelle R-V, Struve W S. Low-temperature energy transfer in LHC-II trimers from the Chl a/b light-harvesting antenna of photosystem II. *Biophys J*, 1994, **66**:1597—1603.
- [11] Kwa S L S, Amerongen H-V, Lin S, Struve W S. Ultrafast energy transfer in LHC-II trimers from the Chl a/b light-harvesting antenna of photosystem II. *Biochim Biophys Acta*, 1992, **1102**:202—212.
- [12] Du M, Xie X-L, Mets L, Fleming G R. Direct observation of ultrafast energy transfer processes in light-harvesting complex II. *J Phys Chem*, 1994, **98**:437—474.
- [13] Yu S-W (余叔文), Tang Z-C (汤章城). Plant Physiology and Molecular Biology. Beijing: Science Press, 1998. 171—187, 188—187. (in Chinese)
- [14] Knox R. Photosynthetic efficiency and exciton transfer and trapping. Barbar J. Primary Processes of Photosynthesis. Amsterdam: Elsevier/North-holland Biomedical Press, 1977. 55—97.
- [15] Pearleitein R M. Energy conversion by plant and bacteria. Govindjee. Photosynthesis. New York: Academic Press, 1982. 293—329.
- [16] Somen O J G, Mourik F V, Rienk V G, Valkunas L. Energy migration in a spectrally and spatially inhomogeneous light-harvesting antenna. *Biophys J*, 1994, **66**:1680—1696.
- [17] Wild U P, Holzwarth A R, Cood H P. Measurement and analysis of fluorescence decay curves. *Rev Sci Instrum*, 1977, **48**:1621—1627.
- [18] Yan G-G (严国光), Zhou P-Z (周佩珍), Guo C (郭础), Dai Y-L (戴云玲). Primary Process of Photosynthesis. Beijing: Science Press, 1987. 83—86, 42—55. (in Chinese)
- [19] Gradinaru C C, Pascal A A, Mourik F V, Robter B, Horton P. Ultrafast evolution of the excited states in the chlorophyll a/b complex CP29 from green plants studied by energy-selective pump-probe spectroscopy. *Biochemistry*, 1998, **37**:1143—1149.

(责任编辑: 崔金钟)