

# 捕光天线 LHC II 的荧光光谱特性研究 \*

彭菊芳<sup>1</sup> 王水才<sup>1\*</sup> 贺俊芳<sup>1</sup> 蔡 霞<sup>1,2</sup> 刘 晓<sup>1</sup> 匡廷云<sup>3</sup>

(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 西北大学生命科学学院 , 西安 710069 )

(3 中国科学院植物研究所光合作用中心 北京 100093 )

**摘要** 采用稳态荧光光谱技术在低温 83 K 下用波长为 436 nm 和 507 nm 的连续光激发对 LHC II 进行研究 , 得到两种波长光激发下 LHC II 的荧光光谱 , 并采用高斯组分光谱解析的方法 , 分别解析出四个谱带 , 结合吸收光谱和发射光谱分析 , 认为各自其中两个反映了两种光谱特性 : Chl  $a_{680/681}^{683.6}$  、 Chl  $a_{690.0}^{694.0}$  和 Chl  $a/b_{670.0}^{671.4}$  和 Chl  $a_{680/681}^{683.8}$  其余两个长波长组分可能是 Chl  $a$  分子主发射峰的振动副带 . 另外还将两种波长光激发下得到的荧光光谱特性做了比较 436 nm 光激发下 LHC II 发出的荧光强度要高于 507 nm 光的激发 , 这是由于接收 436 nm 光的 Chl  $a$  分子数目多于接收 507 nm 光的类胡萝卜素分子 , 且 436 nm 下 Chl  $a$  的吸收率也大于 507 nm 下类胡萝卜素的 . 从峰值上看 436 nm 较 507 nm 光激励下的荧光光谱峰值产生红移 , 表明在不同波长光激励下 , 色素分子之间的能量传递途径是不同的 .

**关键词** 捕光天线 LHC II ; Chl  $a$ ; Chl  $b$ ; 类胡萝卜素; 荧光光谱

中图分类号 Q631 文献标识码 A

## 0 引言

在绿色植物中捕光天线 LHC II 结合了叶绿体中近 50% 的叶绿素分子和几乎所有的辅助色素分子<sup>[1,2]</sup> , 它担任着吸收太阳光能 , 并通过内周天线 CP43 和 CP47 把激发能传递到反应中心的主要功能 . LHC II 包括主外周天线 LHC II b , 它是主要的三聚体复合物 , 和辅助外周天线 LHC II a( CP29 ) , LHC II c( CP26 ) , LHC II d( CP24 ) , CP29 、 CP26 、 CP24 则以单体形式存在<sup>[3]</sup> . 目前普遍认为三聚体形式是 LHC II 在叶绿体中的功能组成单位 , 每个单体亚单元中包含有 7 ~ 8 个叶绿素 a( Chl  $a$  )分子 , 5 ~ 6 个叶绿素 b( Chl  $b$  )分子 , 几个类胡萝卜素分子<sup>[4]</sup> . Connolly 等人<sup>[5]</sup> 在室温下以飞秒时间分辨吸收光谱得到三条 Chl  $a$  的吸收谱带 648 、 653 、 656 nm , 三条 Chl  $a$  的吸收谱带 675 、 679 和 683 nm. Hemerik 等人<sup>[6]</sup> 采用 CD 、 LD 和荧光光谱技术在 77 K 下对 LHC II 三聚体进行研究分析 , 得到 6 ~ 9 个光谱成分 , 分别是 640 ~ 645 、 648 ~ 652 、 657 、 662 、 671 ~ 668 、 676 nm , 其中 676 nm 成分包含了约 40 ~ 50% 的 Chl  $a$  光谱带的谐振强度 . Trinkunas 等人<sup>[7]</sup> 对高等植物 LHC II 三聚体吸收光谱分析 , 在 635 ~ 700 nm 光谱范围内得到 12 条叶绿素吸收谱带 . LHC II 的吸收谱带多 , 充分表明它能在宽频谱范围吸收光能 , 有高效吸收

光能和传递光能的特点 .

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

采用由中国科学院植物研究所光合作用研究中心从菠菜中分离纯化的捕光复合物 LHC II , 提纯的样品保存在液氮中备用 . 实验时 , 样品中叶绿素浓度保持在 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  左右 .

### 1.2 实验方法

本实验采用英国 FLS920 激光稳态 / 瞬态荧光光谱仪装置 . 激励光源为 Xe900 氙灯 , 发出白光经 M 300 单色仪分别选择输出波长为 436 nm 和 507 nm 的连续光 , 进入密闭的 UC920 样品室 , 打在 LHC II 样品上 , 通过 ITC601 温度控制仪在其周围加入液氮来控制温度 . 考虑到 LHC II 为生物样品 , 持续较强光作用其上 , 有可能造成局部温度上升过高 , 致使样品漂白 , 蛋白变性 , 为保持其生物活性 , 将环境温度设为 83 K. 发出的荧光通过 M300 单色仪色散后由 R3809U-50MCP-PMT 探测器接收不同波长下的原始荧光信号 , 经超高频放大器放大后输送到信息处理器中 , 进行数据处理 . 测量过程由计算机操纵 . 单色仪的光谱步长为 1 nm , 荧光光谱测量范围为 640 ~ 780 nm. 并将得到的荧光光谱采用高斯解析方法分解得出光谱组分 , 见图 1 和图 2.

\* 国家重点基础研究发展( G1998010100 )资助项目

\*\* Tel 029-8484245 Email wangshucai@163.com

收稿日期 2003-03-04

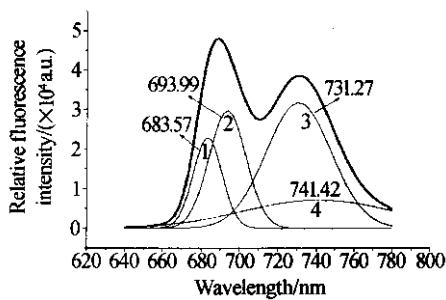


图 1 436 nm 波长光激发下的 LHC II 荧光光谱

Fig. 1 The fluorescence spectrum of LHC II excited at 436 nm

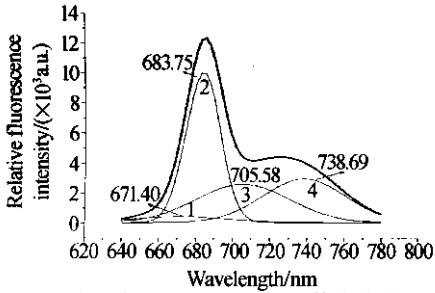


图 2 507 nm 波长光激发下的 LHC II 荧光光谱

Fig. 2 The fluorescence spectrum of LHC II excited at 507 nm

## 2 结果与讨论

### 2.1 436 nm 光激发下 LHC II 的荧光光谱特性

在高等植物中,光系统Ⅱ的捕光色素蛋白复合物LHCⅡ是一种非常重要的天线复合物,光系统Ⅱ进行水裂解释放氧的能量全部来自于LHCⅡ所吸收的太阳光能。而且,在捕光天线LHCⅡ里,色素蛋白的含量最为丰富,大约结合了230~250个色素分子<sup>[8]</sup>,有Chl a、Chl b以及类胡萝卜素等分子,如此众多的色素分子显示了LHCⅡ捕获光能和将激发能通过内周天线传递到反应中心的强大功能。不同的色素分子吸收光能的主要波段不同,其内部进行的能量传递途径也很复杂,这也就是LHCⅡ的分子吸收谱带多产生的主要原因。

本文通过比较色素吸收谱带,选择了436 nm 和507 nm 两个波长的连续光,作为激励光。图1为436 nm 光激发下得到的LHCⅡ的荧光积分谱及其高斯解析组分谱。由图中可以看出,在688.5 nm 和731.3 nm 处有两个峰值。在该积分光谱内,用高斯解析法解析出4个光谱组分,其详细参量见表1。

表 1 436 nm 光激发下 LHC II 的组分谱参量

序号	峰值波长/nm	半高全宽/nm	积分面积	相对强度/%
1'	683.6	14.975	4.317E5	25.12
2'	694.0	19.364	7.213E5	32.46
3'	731.3	34.304	1.364E6	34.64
4'	741.4	77.814	6.955E5	7.79

Holger Dau<sup>[9]</sup>等人认为在LHCⅡ中Chl分子具有吸收谱648、660、669、678、684及695 nm,4.2 K<sup>[10]</sup>的吸收光谱显示出四个谱带676.1、671.3、661.4、

649.5 nm,在641 nm处还有一个很微弱的小峰。Giuseppe Zucchelli<sup>[11]</sup>等人认为LHCⅡ中Chl分子吸收和发射谱带有这样的关系:Chl<sup>652.9</sup>、Chl<sup>663.0</sup>、Chl<sup>671.6</sup>、Chl<sup>680.2</sup>、Chl<sup>686.8</sup>、Chl<sup>697.3</sup>(Chl<sup>a</sup>,a代表吸收峰,e代表发射峰)。王水才<sup>[3]</sup>等人利用ICCD飞秒扫描成像和飞秒时间分辨光谱研究认为,在LHCⅡ三聚体中至少存在7种Chl分子光谱特性,分别是Chl<sup>b68.7</sup>、Chl<sup>b65.2</sup>、Chl<sup>a/b671.1</sup>、Chl<sup>a677.1</sup>、Chl<sup>b682.9</sup>、Chl<sup>a689.1</sup>和Chl<sup>a695.6</sup>。根据发射光谱与吸收光谱之间的镜像对称关系,通过分析比较,我们认为本实验这四个光谱组分前两个表现出两种Chl<sup>a</sup>分子的光谱特征,它们是Chl<sup>a683.6</sup>和Chl<sup>a694.0</sup>。在436 nm 波长的光激励下,LHCⅡ中首先受到激发的色素主要是短波长的Chl<sup>a</sup>分子,它们从接收光能到形成激发态仅需1 fs 多时间,根本来不及发射荧光和进行无辐射跃迁,马上把激发能传递给波长较长的Chl<sup>a</sup>或Chl<sup>b</sup>分子,然后按能量梯度激发能在Chl分子之间进行传递。由于LHCⅡ是一个被分离纯化出来的超分子体系,没有内周天线CP43、CP47接收能量输送到反应中心,它无法完成将能量传递下去的任务,最后只能辐射更长波长的荧光消耗能量返回基态。本实验后两个解析光谱组分中心波长比较长,731.3 和 741.2 nm,可能是Chl<sup>a</sup>分子主发射峰的振动副带造成。从图中还可看出,在小于680 nm 的光谱范围内,发射荧光强度较弱,而在大于680 nm 的光谱范围内,荧光损失较大,这说明在传递到吸收谱带为680 nm 的Chl<sup>a</sup>分子之前,色素分子之间的能量传递效率很高,传能速率很快,能量损失很少,但是由于LHCⅡ本身没有能量捕获中心,Chl分子基态和激发态都有振动能级,在光能传递中,产生Stokes位移,最后以热量辐射或荧光发射损失掉能量。

### 2.2 507 nm 光激发下 LHC II 的荧光光谱特性

图2为507 nm 光激发下得到的LHCⅡ的荧光积分谱及其高斯解析组分谱。从图中可以看到有两个发射峰值684 和 726.9 nm。在该积分谱内,用高斯解析法得到4个光谱组分,其详细参量见表2。

表 2 507 nm 光激发下 LHC II 的组分谱参量

序号	峰值波长/nm	半高全宽/nm	积分面积	相对强度/%
1'	671.4	50.507	25814	2.58
2'	683.8	18.718	2.359E5	63.01
3'	705.6	50.594	1.63E5	16.1
4'	738.7	44.992	1.647E5	18.3

在507 nm 光激励下,LHCⅡ中最先受到激发的色素是类胡萝卜素分子。根据Kühlbrandt等人<sup>[2]</sup>的研究,与类胡萝卜素分子紧邻的色素分子是Chl<sup>a</sup>,

那么受激发的类胡萝卜素分子最先就将能量传递给相邻的类胡萝卜素分子或 Chl *a* 分子, 然后能量按能级梯度在 Chl 分子之间进行传递, 最终由于没有能量捕获中心而以荧光辐射或热量耗散损失掉能量回到基态。色素分子的这种排列方式还使得三线态的 Chl 分子能迅速将激发能转移到类胡萝卜素分子, 以减少分子内自由基和单线态的氧的存在, 从而保护 LHC II 免受强光对其造成的不可逆损伤。

507 nm 激发下得到的四个光谱组分前两个可推定为 Chl *a/b*<sub>670.0</sub><sup>671.4</sup> 和 Chl *a*<sub>680/681</sub><sup>683.8</sup>, 后两个峰值波长较长的组分可能是 Chl *a* 分子主发射峰的振动副带。

### 2.3 436 nm 和 507 nm 光激发下 LHC II 的荧光光谱特性比较

图 3 为 436 和 507 nm 光激发下 LHC II 的荧光光谱。从图 3 中可以看到, 在 436 nm、507 nm 激励下的荧光谱处于长波长方向, 因此它们主要是由低能态的色素分子所发射。首先由短波长高能态的色素分子接收太阳光能, 再按能级“隧道”向长波长低能态的色素分子传递, 根据吸收谱和发射谱的镜像关系对称性, 荧光不可能是由类胡萝卜素分子发出的, 只能是叶绿素分子。图 3 还显示 436 nm 和 507 nm

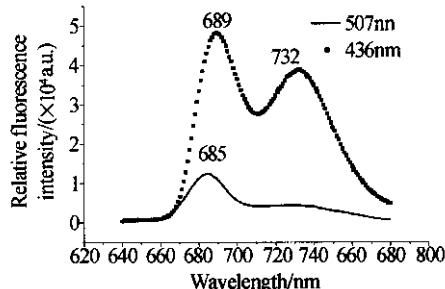


图 3 436 nm、507 nm 波长光激发下的 LHC II 荧光光谱

Fig. 3 The fluorescence spectrum of LHC II excited at 436 and 507 nm

光激励下, LHC II 的荧光发射谱的波谱范围没有发生变化, 但是 436 nm 光激发下 LHC II 发出的荧光强度远远高于 507 nm 光的激发。这主要是由于 436 nm 波长正是 Chl *a* 吸收光谱的高峰, 507 nm 光则主要是被类胡萝卜素吸收, 在 LHC II 里, Chl *a* 的含量最高, 每个单体中有 7~8 个 Chl *a* 分子, 而类胡萝卜素分子只有两个; 从光吸收率上看, 436 nm 光激发下 Chl *a* 吸收系数也较 507 nm 下类胡萝卜素的大, 因此在此波长下接收的能量多, 发射荧光也要强。从峰值上看, 436 nm 较 507 nm 光激励下的荧光光谱峰值产生红移, 这就表明了在这两种光激励下, 色素分子之间的能量传递效率不一样, 能量传递途径也是不同的。436 nm 光激励下, 首先受到激发的是 Chl *a* 分子, 它把激发能又通过库仑相互作用 Foster 共振转移<sup>[12]</sup>、激子传递等方式传递给了其它 Chl 分

子, 在 507 nm 光激励下, 最先受到激发的是类胡萝卜素分子, 由于 LHC II 的结构关系, 激发态的类胡萝卜素分子就把能量通过 Dexter 电子交换等方式传递给了相邻的 Chl *a* 分子。能量传递不仅与生物分子结构功能关系密切相关, 还受到其他种种条件如环境温度、光照强度等等的影响, 一点细微的变化就可引起传能途径的改变, 因此能量传递途径是多样的。

本文还将 436 nm 和 507 nm 光激发下的荧光光谱对荧光强度做了归一化, 显示 436 nm 光激发的荧光光谱的长波峰所占积分面积比 507 nm 的长波峰大, 这两个峰可能都是由 Chl *a* 主发射峰的振动副带产生的, 而 507 nm 的长波峰所占积分面积小, 推测是因为在此波长下吸收的能量较少, 而且类胡萝卜素分子向 Chl 分子传能的效率也小于 Chl 分子间的传能效率, 能量传递由于没有最终受体, 最后以强荧光辐射形式散失能量回到基态, 507 nm 激发产生的长波峰的积分面积必定小于 436 nm 激发下的。

### 3 结论

在低温 83 K 下用两种波长为 436 nm 和 507 nm 的连续光激发对 LHC II 的稳态光谱进行探测分析, 得到两个 LHC II 的荧光光谱, 采用高斯组分光谱解析的方法, 将 436 nm 光激发下的荧光光谱解析, 得到四个谱带, 认为其中两个反映了两种光谱特性: Chl *a/b*<sub>683.6</sub><sup>683.8</sup> 和 Chl *a*<sub>690.0</sub><sup>694.0</sup>, 另外两个长波长组分可能是 Chl *a* 分子主发射峰的振动副带; 对 507 nm 光激发下 LHC II 的荧光光谱, 也做了高斯解析, 得到四个谱带, 认为其中两个反映了光谱特性: Chl *a/b*<sub>670.0</sub><sup>671.4</sup> 和 Chl *a*<sub>680/681</sub><sup>683.8</sup>, 后两个峰值波长较长的组分同样推测可能是 Chl *a* 分子主发射峰的振动副带。另外, 对两种波长激发下得到的荧光光谱特性做比较, 发现 436 nm 光激发下 LHC II 发出的荧光强度要高于 507 nm 光的激发, 从峰值上看, 436 nm 较 507 nm 光激励下的荧光光谱峰值产生红移。我们的实验结果与理论是一致的。

### 参考文献

- Du M, Xie X L, Mets L, et al. Direct observation of ultrafast energy-transfer processes in light harvesting complex II. *J Phys Chem*, 1994, **98**( 17 ) 4736~4741
- Kühlbrandt W, Wang D N, Fujiyoshi Y. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature*, 1994, **367**( 2 ) 614~621
- 王水才, 贺俊芳, 蔡霞, 等. 光系统 II chl 分子能量传递超快光谱动力学. 光子学报, 2002, **31**( 4 ) 389~393  
Wang S C, He J F, Cai X, et al. *Acta Photonica Sinica*, 2002, **31**( 4 ) 389~393

- 4 Kleima F J ,Grakinaru C C ,Calkoen F ,et al. Energy transfer in LHC II monomers at 77K studied by sub-picosecond transient absorption spectroscopy. *Biochemistry* ,1997 ,**36** ( 49 ) :15262 ~ 15268
- 5 Connelly J P ,Muller M G ,Hucke M ,et al. Ultrafast spectroscopy of trimeric light-harvesting complex II from higher plants. *J Phys Chem( B )* ,1997 ,**101** :1902 ~ 1909
- 6 Hemelrijk P W ,Kwa S L S ,Grondelle R V ,et al. Spectroscopic properties of LHC-II , the main light-harvesting chlorophyll a/b protein complex from chloplast membranes. *Biochim Biophys Acta* ,1992 ,**1098**( 1 ):159 ~ 166
- 7 Trinkunas G ,Connelly J P ,Miiller M G ,et al. Model for the excitation dynamics in the light-harvesting complex II from high plants. *J Phys Chem B* ,1997 ,**101**( 37 ):7313 ~ 7320
- 8 Melis A. Dynamics of photosynthetic membrane composition and function. *Biochim Biophys Acta* ,1991 ,**1058** :87 ~ 106
- 9 Dau H ,Sauer K. Exciton equilibration and photosystem II excitation dynamics- $\alpha$  fluorescence study on photosystem II membrane particles of spinach. *Biophys Acta* ,1996 ,**1273** ( 1 ):175 ~ 190
- 10 Reddy N R S ,van Amerongen H ,Kwa S L S ,et al. Low-energy exciton level structure and dynamics in light harvesting complex II trimers from the Chl a/b antenna complex of photosystem II . *J Phys Chem* ,1994 ,**98** ( 7 ):4729 ~ 4735
- 11 Zucchelli G ,Jennings R C ,Garlaschi F M. Independent fluorescence emission of chlorophyll spectral forms in higher plant photosystem II . *Biochimica et Biophysica Acta* ,1992 ,**1099**( 1 ):163 ~ 169
- 12 王水才 ,蔡霞 ,贺俊芳 ,等. 从捕光天线到反应中心分子能量传递研究. 光子学报 2003 ,**32**( 6 ):641 ~ 645  
Wang S C ,Cai X ,He J F ,et al. *Acta Photonica Sinica* ,2003 ,**32**( 6 ):641 ~ 645

## Study of the Fluorescence Spectral Properties of the Light-harvesting Complex II

Peng Jufang<sup>1</sup> ,Wang Shuicai<sup>1</sup> ,He Junfang<sup>1</sup> ,Cai Xia<sup>1,2</sup> ,Liu Xiao<sup>1</sup> ,Kuang Tingyun<sup>3</sup>

1 State Key Laboratory of Transient Optics and Technology Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics , Chinese Academy of Sciences P. O. Box 80 Xi'an China 710068

2 Institute of Life Science in Northwest University Xi'an China 710069

3 Photosynthesis Research Center Institute of Botany ,Chinese Academy of Sciences Beijing ,China 100093

Received date 2003-03-04

**Abstract** Stable fluorescence spectrum technology has been carried out to study the fluorescence spectral properties of the light-harvesting complex II of photosystem II prepared from spinach excited at 436 nm and 507 nm at 83 K . Exciting on LHC II from 640 nm to 780 nm four spectral components have been obtained at the both wavelength excitation respectively. The components at 436 nm are 683.6 ,694.0 ,731.3 and 741.4 nm ,and the components at 507nm are 671.4 ,683.8 ,705.6 and 738.6 nm. They all comes from the emission of chlorophyll ,not carotenoid. In addition ,the properties of the two spectra obtained at the two wavelengths have been compared. The spectral indensity at 436 nm is much higher than that at 507nm ,and the result is consistent with the theory.

**Keywords** Light-harvesting complex II ;Chl a ;Chl b ;Carotenoid ;Fluorescence spectrum

**Peng Jufang** was born in 1976. She graduated from biology department of Shanxi Normal University in 1998. She got M. S. degree in Northwest University in 2001 ,and now is candidate for Ph. D in Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics Chinese Academy of Sciences. Her research interests are the fields of ultrafast photobiology and photosynthesis mechanism.



## 如何学习天线设计

天线设计理论晦涩高深，让许多工程师望而却步，然而实际工程或实际工作中在设计天线时却很少用到这些高深晦涩的理论。实际上，我们只需要懂得最基本的天线和射频基础知识，借助于 HFSS、CST 软件或者测试仪器就可以设计出工作性能良好的各类天线。

易迪拓培训([www.edatop.com](http://www.edatop.com))专注于微波射频和天线设计人才的培养，推出了一系列天线设计培训视频课程。我们的视频培训课程，化繁为简，直观易学，可以帮助您快速学习掌握天线设计的真谛，让天线设计不再难…

---



### HFSS 天线设计培训课程套装

套装包含 6 门视频课程和 1 本图书，课程从基础讲起，内容由浅入深，理论介绍和实际操作讲解相结合，全面系统的讲解了 HFSS 天线设计的全过程。是国内最全面、最专业的 HFSS 天线设计课程，可以帮助你快速学习掌握如何使用 HFSS 软件进行天线设计，让天线设计不再难…

课程网址: <http://www.edatop.com/peixun/hfss/122.html>

---

### CST 天线设计视频培训课程套装

套装包含 5 门视频培训课程，由经验丰富的专家授课，旨在帮助您从零开始，全面系统地学习掌握 CST 微波工作室的功能应用和使用 CST 微波工作室进行天线设计实际过程和具体操作。视频课程，边操作边讲解，直观易学；购买套装同时赠送 3 个月在线答疑，帮您解答学习中遇到的问题，让您学习无忧。

详情浏览: <http://www.edatop.com/peixun/cst/127.html>

---



### 13.56MHz NFC/RFID 线圈天线设计培训课程套装

套装包含 4 门视频培训课程，培训将 13.56MHz 线圈天线设计原理和仿真设计实践相结合，全面系统地讲解了 13.56MHz 线圈天线的工作原理、设计方法、设计考量以及使用 HFSS 和 CST 仿真分析线圈天线的具体操作，同时还介绍了 13.56MHz 线圈天线匹配电路的设计和调试。通过该套课程的学习，可以帮助您快速学习掌握 13.56MHz 线圈天线及其匹配电路的原理、设计和调试…

详情浏览: <http://www.edatop.com/peixun/antenna/116.html>



## 关于易迪拓培训:

易迪拓培训([www.edatop.com](http://www.edatop.com))由数名来自于研发第一线的资深工程师发起成立，一直致力于专注于微波、射频、天线设计研发人才的培养；后于 2006 年整合合并微波 EDA 网([www.mweda.com](http://www.mweda.com))，现已发展成为国内最大的微波射频和天线设计人才培养基地，成功推出多套微波射频以及天线设计经典培训课程和 ADS、HFSS 等专业软件使用培训课程，广受客户好评；并先后与人民邮电出版社、电子工业出版社合作出版了多本专业图书，帮助数万名工程师提升了专业技术能力。客户遍布中兴通讯、研通高频、埃威航电、国人通信等多家国内知名公司，以及台湾工业技术研究院、永业科技、全一电子等多家台湾地区企业。

## 我们的课程优势:

- ※ 成立于 2004 年，10 多年丰富的行业经验
- ※ 一直专注于微波射频和天线设计工程师的培养，更了解该行业对人才的要求
- ※ 视频课程、既能达到了现场培训的效果，又能免除您舟车劳顿的辛苦，学习工作两不误
- ※ 经验丰富的一线资深工程师主讲，结合实际工程案例，直观、实用、易学

## 联系我们:

- ※ 易迪拓培训官网: <http://www.edatop.com>
- ※ 微波 EDA 网: <http://www.mweda.com>
- ※ 官方淘宝店: <http://shop36920890.taobao.com>