

文章编号: 1000-7032(2012)11-1177-04

异质二聚体反应中心的电荷转移过程

杨智勇¹, 王亚峰¹, 张汉壮¹, 王海宇^{2*}

(1. 吉林大学 物理学院, 吉林 长春 130012; 2. 吉林大学 电子科学与工程学院, 吉林 长春 130012)

摘要: 在低温的状态下, 类球红细菌内天然叶绿素的反应中心发生的电荷分离对激发波长有较弱的依赖性, 而这种依赖可能来源于分子内电荷转移态。我们采用表现出更多的电荷转移态性质的突变叶绿素为反应中心, 对这种电荷分离过程中的激发波长依赖和温度依赖的性质做了进一步的研究。研究发现: 突变的异质二聚体存在的两种激发态(定域的激发态与分子内电荷转移态)是相互强耦合的, 在突变的分子异质二聚体中形成的电荷转移态并不是电荷分离的有效途径。随着温度的降低, 异质二聚体的活性降低, 从而电荷分离产率下降。

关键词: 反应中心; 异质二聚体; 电荷转移

中图分类号: O631.3

文献标识码: A

DOI: 10.3788/fgxb20123311.1177

Study of Electron Transfer Process of Heterodimer Reaction Center

YANG Zhi-yong¹, WANG Ya-feng¹, ZHANG Han-zhuang¹, WANG Hai-yu^{2*}

(1. College of Physics, Jilin University, Changchun 130012, China;

2. College of Electronic Science and Engineering, Jilin University, Changchun 130012, China)

* Corresponding Author, E-mail: haiyu_wang@jlu.edu.cn

Abstract: At low temperature, primary charge separation in reaction centers of wild type rhodobacter sphaeroides show weak excitation wavelength dependence. It comes from the existence of the intramolecular charge transfer state. Herein, we find such kind of heterodimer mutant has more intramolecular charge transfer character and its excitation wavelength depend on temperature. The results show the excited state of heterodimer has two states (local and charge transfer) and they are strong coupling; Intramolecular charge transfer state is not favor to charge separation, as temperature decrease it becomes dark and charge separation yield decrease.

Key words: reaction center; heterodimer; electron transfer

1 引 言

光合作用是叶绿素分子吸收光子后, 由激发态的给体分子到邻近的受体分子的电荷转移过程开始的。这些给体和受体位于一种被称作反应中心的膜蛋白复合物结构上。在天然类球红细菌

反应中心(WT)中, 受激发的细菌叶绿素二聚体(BChl: BChl, P^{*}) 在 3 ps 内将电子传递给另一个细菌叶绿素(B_A), 进而传递给细菌脱镁叶绿素(H_A), 生成的电荷转移态(P⁺H_A⁻) 在 200 ps 后其电荷转移给辅酶(Q_A), 实现电荷分离。对这一原初的电荷转移机制的研究是当前国际上的一个热

收稿日期: 2012-07-18; 修订日期: 2012-08-20

基金项目: 国家自然科学基金(20973081)资助项目

作者简介: 杨智勇(1986-), 男, 河南平顶山人, 主要从事超快光谱的研究。

E-mail: jlu.yzy@gmail.com

点。电荷转移的速率主要依赖于分子激发态 P^* 能级与电荷转移态能级之间的差值(即电荷转移驱动力)^[1-4]。近来对电荷转移驱动力强度不同的 14 种反应中心突变体的系统研究,发现引入蛋白质运动的反应扩散模型可以对每种突变体的电荷转移动力学进行定量的拟合。这表明光合作用中原初的电荷转移主要由光致的蛋白质构型的变化决定^[4]。进一步的研究发现^[5],反应中心最初的电荷分离动力学在低温下有微弱的激发波长依赖。这更加证明了蛋白质动力学模型的正确性,这种微弱的依赖性是由给体分子也就是叶绿素二聚体内的电荷转移态引起的。

M202LH 是一种常见的异质二聚体突变体^[6-7],它是由自然的同质二聚体 BChl: BChl(P) 突变为异质二聚体 BChl: BPh_e(D) 形成的,具有很强的分子内电荷转移特性。因此这种异质二聚体反应中心是进一步研究给体分子内电荷转移态与原初电荷转移之间的一种很好的样品。本文对这种突变异质二聚体中的电荷转移进行了温度与激发波长依赖的研究,以期对受激发的分子内电荷转移态有更好的理解。

2 实 验

M202LH 突变体的制备采用文献[6-7]中报道的方法。对于在室温下的测量,M202LH 反应中心分别溶于 15 mmol/L 的 Tris-HCL (pH = 8.0)、0.025% 的 LDAO、1 mmol/L 的 EDTA 和 0.1 mmol/L 的邻二氮菲等溶剂中。室温的样品被装入一个 1.2 mm 光程的旋转样品池,最终其在 802 nm 处在光程 1.2 mm 下的光密度是 1.0。在低温的测试条件下,反应中心分别溶于 15 mmol/L 的 Tris-HCL (pH = 8.0)、0.025% 的 LDAO 和 1 mmol/L 的 EDTA,然后将丙三醇(67%,体积分数)掺到上述溶液中。样品夹在两片透光的玻璃片之间(光程 1.2 mm),其连接的制冷器可以将温度稳定在 10 ~ 300 K。

实验使用的超快瞬态吸收装置是将一束重复频率为 250 Hz 的 800 nm 的飞秒脉冲激光用分束片分为两束,能量较大的一束光进入 OPA(光学参量放大器),产生 860 nm 和 920 nm 的激发光,此激发光经过频率为 125 Hz 的斩波器(Newport Model 75160),频率变为 125 Hz,激发光经过延迟线(Newport M-ILS250CC)延时后聚焦在样品上,

对样品进行激发。能量较小的一束 800 nm 光聚焦在蓝宝石片上,产生超连续白光,再聚焦在样品上作为探测光,使探测光斑比激发光斑略小,保证在样品处探测光斑被激发光斑完全覆盖,透过样品的探测光经透镜聚焦被 AvaSpec 薄型背照式的高紫外灵敏度的 CCD 光纤光谱仪(AvaSpec-2048x14)收集。这里所用的激发光强均小于 500 nJ/pulse(除了 920 nm 激发用的 2 μ J/pulse 的能量),激发光的光斑直径小于 0.5 mm。

3 结果与讨论

图 1 是 M202LH 的稳态吸收光谱,对比天然的反应中心的细菌叶绿素二聚体,860 nm 处激发态 P 的吸收已不明显,取而代之的是范围宽广的 820 ~ 970 nm 较宽的吸收带。在低温的条件下,这个近红外区的吸收更加强。Boxer 研究组通过测试 M202LH 的斯塔克光谱证实这个突变体中的异质二聚体存在着很强的电荷转移态的特性^[8],光谱的展宽主要由于突变体的定域激发态与分子内电荷转移态存在着一定程度的耦合作用。在低温的条件下,定域激发态的峰位有一定程度的红移,更接近电荷转移态的能级,因而两者产生了更强的耦合,致使吸收进一步展宽。

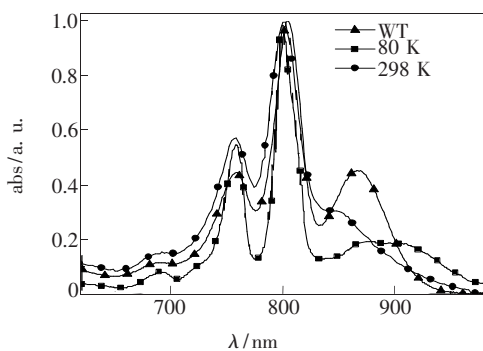


图 1 天然和 M202LH 反应中心的稳态吸收光谱
Fig. 1 Steady state absorption spectra of wild type and M202LH reaction centers

为了进一步研究样品的电荷转移特性,我们采用飞秒瞬态吸收的方法,激发异质二聚体,通过测量其激发态动力学进行研究,980 nm 位置的受激发射信号表征激发态的寿命,830 nm 处的基态漂白信号代表基态的恢复过程。图 2 给出了不同温度下 M202LH 反应中心在 860 nm 激发下的 830 nm 处的基态漂白动力学,表征着基态粒子数

随时间的变化。可以看到突变体在不同温度下的基态漂白恢复是比较一致的,用双指数拟合,拟合的平均寿命是 28 ps 左右,这与之前报道的激发态受激发射的寿命是比较符合的。基态漂白恢复时间和 980 nm 的受激发射衰减时间一致,说明没有复杂的多步过程发生,仅仅是部分电荷传递和部分电子回到基态而引起的漂白恢复过程。需要指出的是,双指数过程和天然的反应中心的电子传递过程一样是由于蛋白质的构型调整引起的,而非不同的弛豫路径引起,同样可以用反应扩散模型描述,弱的温度依赖效应也反应了这一物理本质。

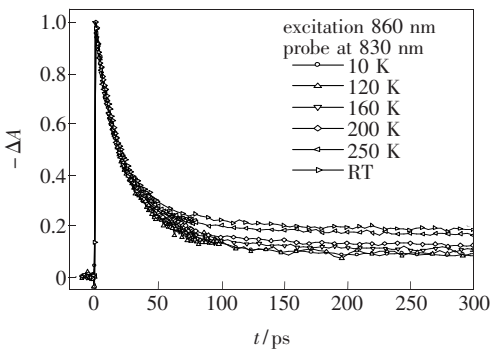


图 2 不同温度下 M202LH 反应中心的电荷转移动力学
Fig. 2 Temperature dependent electron transfer dynamics of M202LH reaction center

天然的反应中心的电荷转移效率为 100%,基态完全被漂白而不恢复。这里采用的 M202LH 突变体,其电荷转移过程慢得多且效率很低,因而最终大部分漂白信号都恢复了,最终剩余的漂白信号比例代表电荷转移的效率。表 1 给出了不同温度下电荷转移的产率,我们注意到,在室温的情况下,产率大约为 20%;在低温条件下,产率大约在 10%。因此,突变体 M202LH 的激发态电子大部分通过无辐射跃迁回到基态,电荷转移效率很

表 1 不同温度下反应中心电荷转移的产率

Table 1 Temperature dependent electron transfer yield of reaction center M202LH

温度/K	室温	250	200	160	120	10
产率/%	18.9	16.6	12.6	10.4	9.2	9.0

低。这说明异质二聚体的电荷转移态对光合作用的电荷分离是不利的,随着温度的降低,异质二聚体的电荷转移态特性进一步增强,使得光合作用最初的电荷分离的产率也进一步降低。

图 3 是在低温 10 K 时,由不同波长激发下 M202LH 反应中心的基态恢复动力学。然而实验结果是无论用蓝边 860 nm 激发(主要激发局域的激发态)或者红边 920 nm(主要激发分子内电荷转移态)激发,其基态恢复的动力学是基本一致的,最后的电荷转移的产率也是几乎没有区别。这一结果说明异质二聚体的分子内的电荷转移态与局域激发态存在强耦合,两个态实际上结合为一个具有分子内电荷转移特性的新态,所以无论激发其吸收的任何位置,反应过程完全一致。这与天然的反应中心不同,同质二聚体的激发态特性包含了局域和分子内电荷转移态的共同行为,波长依赖取决于激发两态的权重^[5]。

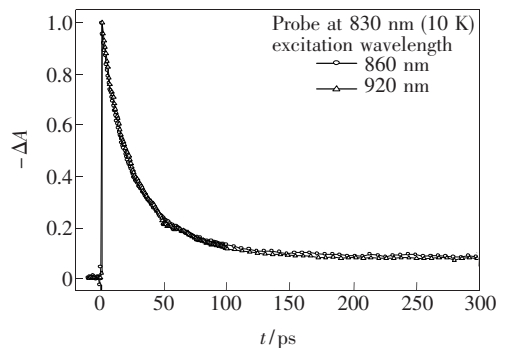


图 3 10 K 时不同激发波长下 M202LH 的电荷转移动力学比较

Fig. 3 Comparison of electron transfer dynamics of M202LH at different excitation wavelength at 10 K

4 结 论

通过对 M202LH 突变体的超快光谱研究,发现突变的异质二聚体存在两种激发态:定域的激发态与分子内电荷转移态是相互强耦合的。和天然的反应中心相比,突变的分子异质二聚体中形成的电荷转移态并不是电荷分离的有效途径。异质二聚体随着温度的降低,而活性降低,导致电荷分离产率进一步下降。

参 考 文 献:

- [1] McDowell L M, Gaul D, Kirmaier C, *et al.* Investigation into the source of electron transfer asymmetry in bacterial reaction centers [J]. *Biochemistry*, 1991, 30(24):8315-8322.

- [2] Jordanides X J, Scholes G D, Fleming G R. The mechanism of energy transfer in the bacterial photosynthetic reaction center [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105(8):1652-1669.
- [3] Wang H Y, Lin S, Allen J P, *et al.* Protein dynamics control the kinetics of initial electron transfer in photosynthesis [J]. *Science*, 2007, 316(5825):747-750.
- [4] Wang H Y, Lin S, Katilius E, *et al.* Unusual temperature dependence of photosynthetic electron transfer due to protein dynamics [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2009, 113(3):818-824.
- [5] Wang H Y, Lin S, Woodbury N W. Excitation wavelength dependence of primary charge separation in reaction centers from rhodospirillum rubrum [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2008, 112(45):14296-14301.
- [6] Roberts J A, Holtzen D, Kirmaier C. Primary events in photosynthetic reaction centers with multiple mutations near the photoactive electron carriers [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2001, 105(23):5575-5584.
- [7] Kirmaier C, Holtzen D, Bylina E J, *et al.* Electron transfer in a genetically modified bacterial reaction center containing a heterodimer [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85(20):7562-7566.
- [8] Hammes S L, Mazzola L, Boxer S G. Stark spectroscopy of the rhodospirillum rubrum reaction center heterodimer mutant [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87(15):5682-5686.

《发 光 学 报》

——EI 核心期刊 (物理学类; 无线电电子学、电信技术类)

《发光学报》是中国物理学会发光分会与中国科学院长春光学精密机械与物理研究所共同主办的中国物理学会发光分会的学术会刊。该刊是以发光学、凝聚态物质中的激发过程为专业方向的综合性学术刊物。

《发光学报》于 1980 年创刊, 曾于 1992 年, 1996 年, 2000 年和 2004 年连续四次被《中文核心期刊要目总览》评为“物理学类核心期刊”, 并于 2000 年同时被评为“无线电电子学、电信技术类核心期刊”。2000 年获中国科学院优秀期刊二等奖。现已被《中国学术期刊(光盘版)》、《中国期刊网》和“万方数据资源系统”等列为源期刊。英国《科学文摘》(SA)自 1999 年; 美国《化学文摘》(CA)和俄罗斯《文摘杂志》(AJ)自 2000 年; 美国《剑桥科学文摘社网站》自 2002 年; 日本《科技文献速报》(CBST, JICST)自 2003 年已定期收录检索该刊论文; 2008 年被荷兰“Elsevier Bibliographic Databases”确定为源期刊; 2010 年被美国“EI”确定为源期刊。2001 年在国家科技部组织的“中国期刊方阵”的评定中, 《发光学报》被评为“双效期刊”。2002 年获中国科学院 2001~2002 年度科学出版基金“择重”资助。2004 年被选入《中国知识资源总库·中国科技精品库》。本刊内容丰富、信息量大, 主要反映本学科专业领域的科研和技术成就, 及时报道国内外的学术动态, 开展学术讨论和交流, 为提高我国该学科的学术水平服务。

《发光学报》自 2011 年改为月刊, A4 开本, 144 页, 国内外公开发行。国内定价: 40 元, 全年 480 元, 全国各地邮局均可订阅。《发光学报》欢迎广大作者、读者广为利用, 踊跃投稿。

地 址: 长春市东南湖大路 3888 号

《发光学报》编辑部

邮 编: 130033

电 话: (0431)86176862, 84613407

E-mail: fgxbt@126.com

国内统一刊号: CN 22-1116/04

国际标准刊号: ISSN 1000-7032

国内邮发代号: 12-312

国外发行代号: 4863BM

http://www.fgxb.org