

## 一种重要的光合膜蛋白

## ——菠菜主要捕光复合物的晶体结构\*

柳振峰 常文瑞

(生物物理研究所 北京 100101)

**摘要** 由生物物理研究所主持,植物研究所参加完成的“菠菜主要捕光复合物的晶体结构”研究成果以 Article 的方式发表在 2004 年 3 月 18 日出版的 *Nature* 上,该晶体结构图被选作本期杂志的封面图案。本文介绍了该项成果的研究背景、意义、主要创新点及方法。

**关键词** 膜蛋白,光合作用,捕光复合物,晶体结构

光合作用是地球上最为重要的化学反应之一。绿色植物,藻类和蓝细菌通过光合作用利用太阳能,将水和二氧化碳转变为有机化合物并放出氧气。光合作用的产物是地球上几乎所有生命体赖以生存和繁衍的基础,也是能源利用和开发的一个重要方向。光合作用过程中的光反应是通过光合膜上的一系列色素-蛋白复合体之间的相互分工协作完成的。其中参与光能吸收、传递和俘获的两类最基本的色素-蛋白复合体是:反应中心和捕光天线复合物,由光诱导的电荷分离引起的能量转换在反应中心发生;捕光天线复合物的功能是吸收太阳能并将其传递给反应中心。捕光天线复合物的三维结构是植物“高光效”(高效利用光能)研究的结构基础,对能源的利用和新能源的开发均具有重要意义。

捕光是光合作用中最原初的过程,它包含了光能的吸收以及激发能向引起电荷分离的反应中心传递的过程。在绿色植物中,捕捉太阳能的功能是由位于类囊体膜上的一系列捕光天线复合物来实现的。结合在高等植物光系统 II 外周的主要捕光复合物(light-harvesting complex II, LHC-II)是叶绿体中含量最丰富的本体膜蛋白,结合了参与植物光合作用的天线叶绿素总量的一半。LHC-II 是由三个高度同源的基因 *Lhcb1*, *Lhcb2* 和 *Lhcb3* 编码产物组成的均质或异质三聚体。每个单体 LHC-II 包含一条约 232 氨基酸残基的多肽链以及 13—15 个叶绿素

分子<sup>[1]</sup>, 3—4 个类胡萝卜素分子<sup>[2]</sup>和一个紧密结合的磷脂分子<sup>[3]</sup>,是一个复杂的分子体系。

除了捕光功能之外,LHC-II 还被认为可在高光条件下通过对多余激发能的非辐射耗散而参与植物的光保护机制<sup>[4,5]</sup>。通过非辐射耗散的调节作用,LHC-II 可大大减少三线态叶绿素的生成,进而减少致命的单线态氧的产生。在光强变得逐渐饱和时,LHC-II 可以由高效捕光转变为有效地进行激发能的耗散,使得过多光能所造成的破坏效应降低到最小。此外,LHC-II 还参与光系统 II 和 I 之间激发能分配的调节。

LHC-II 是一个重要的膜蛋白。膜蛋白的重要性表现在:膜蛋白占细胞中所有蛋白总数的约 30%,这些膜蛋白在各种各样重要生物学的基本过程中起着关键的作用,如光合作用,呼吸作用,神经信号传导,免疫反应和营养物质的吸收等。人们对于膜蛋白所承担的重要生物学功能的深入理解还有赖于高分辨率膜蛋白三维结构的解析,有了三维结构后就可以通过探讨其结构与功能的关系揭示这些生物学过程的分子机理。

目前用于生物大分子三维结构测定的方法主要有三种:X-射线晶体学方法,电子晶体学方法以及核磁共振方法。其中 X-射线晶体学方法的应用最为广泛,也是进行高分辨率膜蛋白三维结构测定的主要方法之一。采用 X-射线晶体衍射方法测定蛋白

\* 收稿日期:2004 年 4 月 28 日



质等生物大分子三维结构的学科被称为蛋白质晶体学,它是本项研究中采用的主要技术手段和理论基础。蛋白质晶体学是一门交叉学科,是生物学、物理学、计算数学以及结构化学多学科交叉的结果,也是当今结构生物学得以迅猛发展的基石。采用这一方法来测定生物大分子三维结构的前提条件是要培养出大尺度的有序堆积的单晶样品。由于膜蛋白的膜内区域具有广泛的疏水表面,从而能够适应生物膜上的非极性环境,也正是这一特点使得膜蛋白从膜上解离下来后在极性的水溶液中难以稳定存在,会发生沉淀甚至变性,也就难以使其结晶。采用X-射线晶体学方法测定膜蛋白三维结构的主要瓶颈在于难以获得大尺度的高度有序堆积的膜蛋白三维单晶,这就造成了在现有的蛋白质数据银行(PDB)中属于膜蛋白的结构数据仅占有存入的数据的0.6%,只有屈指可数的80个。近年来,每一个新的膜蛋白三维结构的测定都引起了众多领域科学家们的广泛关注,1988年和2003年诺贝尔化学奖授予的就是有关膜蛋白三维结构的测定工作<sup>[6-8]</sup>。测定象LHC-II这样的膜蛋白复合体晶体结构,是国际公认的高难课题,也是一个国家结构生物学研究水平的重要标志。

1994年,德国科学家发表了3.4Å分辨率的豌豆LHC-II的电子晶体学结构模型,展示了绿色植物捕光体系的一些结构特征<sup>[9]</sup>,从那以后,人们迫切期待一个更高分辨率的三维结构,以便观察到更多细微的结构。10年之后,由中国科学家成功测定了菠菜主要捕光复合物2.72Å分辨率的X-射线晶体学结构<sup>[10]</sup>,这一结果将人们关于光合作用中所涉及的光能收集和能量转移过程的知识全面提升到原子数据水平。该项研究在膜蛋白结构生物学领域以及光合作用捕光机制和光保护机制研究领域均获得了创新性的成果:

(1)发现了膜蛋白结晶的第三种方式。膜蛋白LHC-II在晶体中先组装形成一个20面体形状的空心球体,再以此为基本单位在晶体中周期排列。这种堆积方式完全不同于以往所报道的I型和II型的膜蛋白晶体,是迄今为止所发现的膜蛋白结晶的

一种全新方式。这一发现是膜蛋白结构生物学研究领域的一个创新点。

(2)首次报道了20面体状的膜蛋白——脂质体复合物的空心球体的结构。由60个LHC-II单体组成一个具有典型正20面体对称特征的空心球体,其球壳结构提供了一个包括膜蛋白、色素分子和脂分子在内的一个类似光合膜的完整结构模型。对于在分子水平上研究光合膜内蛋白和蛋白、蛋白和色素分子以及蛋白和脂分子之间的相互作用具有重要的学术意义。

(3)首次揭示了色素分子在LHC-II复合物中的排布规律。对每一个复合物单体中的14个叶绿素分子和4个类胡萝卜素分子的具体归属进行了准确的确认。每个色素分子在三维空间的取向和位置得到了精确的测定。在此基础上发现了独特的色素排布特征,解释了为什么LHC-II能够高效地进行光能的吸收和传递。

(4)在2.72Å分辨率上提供了包括蛋白质分子、色素分子、脂分子和水分子在内的近3万个独立原子的高精度三维坐标数据。这套数据目前已存入国际蛋白质数据银行(PDB)。根据这一结构数据,首次完整地建立了该复合体内的能量传递网络,并对高等植物在强光照条件下的光保护机理进行了讨论,提出了一个基于结构的光保护分子机理的模型,并解释了植物如何在高光强条件下通过LHC-II的调节作用对多余的光能进行耗散以实现自我保护。这对于培育具有高光效和强抗逆性的作物具有潜在的指导意义。

在研究方法方面,该项研究只用一个重原子衍生物,在无反常散射的情况下,以单对同晶相角为起点,利用非晶体学对称性的制约和电子密度修饰进行实空间和倒易空间反复迭代的方法,将初始的单对同晶置换相角从5Å逐步精化并扩展到2.72Å分辨率,对于解析具有巨大晶胞的以20面体组装的膜蛋白的三维结构(类似20面体病毒)也是一种创新性的尝试并获得了成功。

**致谢** 感谢梁栋材院士和已故汤佩松院士为本课题的创建所做出的贡献,北京大学顾孝诚教授的



有益讨论,日本筑波光子工厂的 N. Sakabe 教授和 K. Sakabe 博士以及中科院高能物理研究所同步辐射实验室给予的支持。该研究得到中国科学院知识创新工程、国家“973”项目、国家自然科学基金委项目和国家“863”项目的资助和支持。

#### 主要参考文献

- 1 Peter G F, Thornber J P. Biochemical composition and organization of higher plant photosystem II light-harvesting pigment-proteins. *J.Biol.Chem.*,1991, 266: 16 745-16 754.
- 2 Ruban A V, Lee P J, Wentworth M *et al.* Determination of the stoichiometry and strength of binding of xanthophylls to the photosystem II light harvesting complexes. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274: 10 458-10 465.
- 3 Nußberger S, Dörr K, Wang D N, *et al.* Lipid-protein interactions in crystals of plant light-harvesting complex. *J. Mol. Biol.*, 1993, 234: 347-356.
- 4 Horton P, Ruban A V, Walters R G. Regulation of light harvesting in green plants. *Annu.Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*,1996, 47: 655-684.
- 5 Elrad D, Niyogi K K, Grossman A R. A major light-harvesting polypeptide of photosystem II functions in thermal dissipation. *Plant Cell*, 2002, 14: 1 801-1 816.
- 6 Huber R. A structural basis of light energy and electron transfer in biology. *EMBO J.*, 1989, 8: 2 125-2 147.
- 7 Deisenhofer J, Michel H. The photosynthetic reaction centre from the purple bacterium *Rhodospseudomonas viridis*. *EMBO J*, 1989, 8: 2 149-2 170.
- 8 Abbott A. Membrane proteins: channel voyager makes waves. *Nature*,2003, 426: 755.
- 9 Kühlbrandt W, Wang D N, Fujiyoshi Y. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature*,1994, 367: 614-621.
- 10 Liu Z F, Yan H C, Wang K B *et al.* Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72 Å resolution. *Nature*, 2004, 428: 287-292.

## Crystal Structure of an Important Photosynthetic Membrane Protein: Spinach Major Light-harvesting Complex

Zhenfeng Liu and Wenrui Chang

(Institute of Biophysics, CAS, 100101 Beijing)

The 18th of March issue of the *Nature* journal published an article entitled "Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72 Å resolution". This research work was presided over by the Institute of Biophysics in collaboration with the Institute of Botany. A color figure of the crystal structure was selected as the cover picture of this issue of *Nature*. Here we present a brief introduction concerning the scientific background, significance, methods and also the main creative results of this research.

**Keywords** membrane protein, photosynthesis, light-harvesting complex, crystal structure.

**常文瑞** 男,生物物理研究所研究员,博士生导师。“高等植物主要捕光复合物——LHC-II 的结构与功能研究”课题组负责人,*Nature* 论文通讯作者。中国晶体学会副理事长,中国生物物理学会常务理事。在国内先后参加和主持包括胰岛素,藻类捕光天线蛋白复合物,蚯蚓纤溶酶,一氧化氮结合蛋白,高等植物光合膜蛋白等重要蛋白质的三维结构与功能研究等,曾获国家自然科学基金二等奖 2 项以及中国科学院科技进步奖一等奖、二等奖和北京市科学技术进步奖一等奖等。

**柳振峰** 男,“高等植物主要捕光复合物——LHC-II 的结构与功能研究”课题组主要研究人员,*Nature* 论文的第一作者。1998 年毕业于厦门大学生物学系,于同年作为生物物理研究所博士研究生接受并成为该课题研究的主要研究人员,参加了该课题从样品的再纯化、结晶、衍射数据的收集、相位解析、电子密度的解释和结构模型的构建以及结构与功能关系讨论的全过程,为该课题的最终突破和完成做出了非常重要的贡献。