

隐藻藻胆蛋白的结构与能量传递功能

陈敏^{1*}, 王宁¹, 杨多利¹, 李文军²

¹烟台大学生命科学学院, 山东烟台264005; ²中国科学院海岸带研究所, 山东烟台264005

摘要: 藻胆蛋白主要存在于蓝藻、红藻及部分隐藻, 作为主要的捕光复合物担负着吸收和传递光能的作用。同时藻胆蛋白还是具有很高量子产率的荧光蛋白, 因而在光合理论研究及应用方面受到广泛的关注。隐藻藻胆蛋白继承自红藻, 但在其蛋白和色素结构、组成、性质、在叶绿体中的存在状态以及与光合膜上反应中心的接触方式等方面都与红、蓝藻藻胆蛋白不同。目前对于红、蓝藻中的藻胆蛋白以及组装而成的藻胆体等均有相当透彻的研究, 而对于隐藻藻胆蛋白的了解要少得多。隐藻藻胆蛋白在进化上可能属于比较原始的类型, 并且结构上相对于庞大的藻胆体简单得多, 因此对于了解藻胆蛋白基本的结构与捕光功能的关系、探讨隐藻的进化地位以及光合生物进化的亲缘关系等的研究方面, 具有重要意义, 也更为便捷。本文从结构和能量传递功能等方面对目前发现的隐藻藻胆蛋白的研究近况做了综述, 总结了目前研究存在的不明之处, 并对今后的研究思路提出了看法。

关键词: 隐藻; 藻胆蛋白; 结构; 能量传递

The Structure and Energy Transfer of Phycobiliproteins in Cryptophytic Algae

CHEN Min^{1*}, WANG Ning¹, YANG Duo-Li¹, LI Wen-Jun²

¹College of Life Sciences, Yantai University, Yantai, Shandong 264005, China; ²Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, Shandong 264005, China

Abstract: Phycobiliproteins are mainly found in blue-green algae, red algae and some species of cryptophytic algae. They function as major light-harvesting complexes to harvest and transfer sunlight energy. Meanwhile, phycobiliproteins are also fluorescent proteins with high fluorescence quantum yield, and in consequence be widely concerned in both theoretical photosynthesis investigation and application. The cryptophytic phycobiliproteins are inherited from red algae but varied in several ways compared to phycobiliproteins from red algae and blue-green algae, including their protein and phycobilin structure, composition, properties, existential states within chloroplast, as well as the contact forms with reaction centers embedded in photosynthetic membrane, etc. At present, there is a thorough understanding with both phycobiliproteins and phycobilisome assembled by phycobiliproteins in red and blue algae, however, much less understanding about cryptophytic phycobiliproteins. This is considered as the weak point of the study among phycobiliprotein family members. Cryptophytic phycobiliproteins, which are very likely belong to a more primitive type of phycobiliproteins in the view of evolution, and are simpler than that of phycobilisome in terms of structure, therefore, are more important and more convenient in investigating the relation between fundamental structure and light-harvesting function of phycobiliproteins, discussing the evolutionary position of cryptophytic algae and the genetic relationship of photosynthetic organisms etc. In this paper, present research status in the respect of structure, function of energy transfer of cryptophytic phycobiliproteins currently found are reviewed, the current research of the unknown is summarized, and the new ideas for future investigation are also provided.

Key words: cryptophyte; phycobiliprotein; structure; energy transfer

光合放氧生物可被分为红蓝植物、绿色植物和杂色植物三大类群, 除了含有叶绿素(Chl) *a*外, 其中绿色植物和杂色植物通常分别以含有Chl *b*和Chl *c*为特征, 而红蓝植物则以含有藻胆蛋白为特征(曾呈奎和周百成1983)。隐藻(cryptophytes)是一类单细胞的真核藻类, 属于杂色植物。但隐藻的色素成分比较特殊, 除了含有Chl *a*、*c*外, 部分

种属还含有藻胆蛋白。这种特殊的色素组成提示了隐藻作为杂色藻类在进化上可能与含有藻胆蛋白为特征的红、蓝藻类具有特定的联系(Hoef-Em-

收稿 2015-07-17 修定 2015-11-04

资助 国家自然科学基金(40976083)。

* 通讯作者(E-mail: chenmclm@163.com; Tel: 0535-6902638)。

den和Melkonian 2003)。根据内共生理论, 隐藻是由真核红藻与带鞭毛的异养真核宿主经第二次内共生产生的次生真核光合生物(Grzebyk等2003; Kim等2008)。因此, 隐藻尤其是含有藻胆蛋白的隐藻类型, 在进化上具有特殊意义。

对于三大类群的光合生物的光合系统, 其反应中心部分通常是相对保守的, 而差别较大的是各自的捕光复合物。绿色植物和杂色植物中的各种叶绿素以及某些类胡萝卜素可以不同的方式与蛋白组装形成脂溶性的色素蛋白复合物, 牢固结合于类囊体膜内部; 而红蓝植物中的藻胆蛋白则组装形成藻胆体, 结合于叶绿体的类囊体膜的表面。它们均可高效地捕获光能并传递给反应中心用于光合作用(Scholes等2011)。而隐藻则利用其特殊的色素成分, 组装形成了包括处于膜上的脂溶性的Chl *a/c*-蛋白复合物和处于游离状态的水溶性的藻胆蛋白在内的两类捕光系统, 因此在光合系统结构组成和能量传递方式上也显得十分特别(Ingram和Hiller 1983; Green 2003; Scholes等2011)。

尽管隐藻的叶绿体可能源于红藻, 但从红藻中继承的隐藻藻胆蛋白在许多方面都与红藻以及蓝藻藻胆蛋白不同。目前借助各种生物化学、分子生物学、遗传学、光物理和光化学以及量子化学计算等手段对于红、蓝藻中的藻胆蛋白以及组装而成的藻胆体的结构、性质、功能等展开了相当透彻的研究, 相较而言, 对隐藻藻胆蛋白的了解要少得多, 是藻胆蛋白家族成员中研究的薄弱点所在。本文从蛋白和色素的组成、结构以及能量传递途径等方面对目前发现的各种隐藻藻胆蛋白的研究近况做了综述, 在认识和了解的基础上为今后的研究理清思路。

1 隐藻藻胆蛋白的种类及存在状态

红、蓝藻中主要存在有藻红蛋白(phycoerythrin, PE)、藻蓝蛋白(phycocyanin, PC)和别藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC), 在某些没有PE而具有异形胞的蓝藻等藻类中还有藻红蓝蛋白(phycoerythrocyanin, PEC) (Rowan 1989)。它们借助连接多肽连接组装成超分子复合体——藻胆体(phycobilisomes), 包括直径50~60 nm的典型的圆盘状、半圆盘状或扁长的半椭球状PBS, 以及棒状PBS (Watanabe等2014), 并通过锚蛋白固着在类囊体膜的外表面

上。典型的藻胆体通常由一个核心(core)和6~8个棒(rod)两部分构成, 核心含有2、3或5个APC构成的筒状结构, 棒是由数个六聚体PE($\alpha\beta$)₆ [或($\alpha\beta$)₆] 或PEC以及PC($\alpha\beta$)₆组成。可吸收480~660 nm波长的光, 并按照PE/PEC→PC→APC的顺序传递, 最终借助两类APC末端发射体ApcE及AP-B (allophycocyanin B)传递给PSII以及PSI反应中心(Gao等2012; Watanabe和Ikeuchi 2013; Peng等2014; Kuzminov等2014; Chang等2015)。

根据光谱特性不同, 目前已报道的隐藻藻胆蛋白应该有8种, 分别是隐藻藻红蛋白PE545、PE555、PE566, 隐藻藻蓝蛋白PC612、PC630、PC645、PC569 (或PC570) (Guard-Friar等1986), 以及从隐藻*Hemiselmis pacifica*中分离到一种新的蓝紫色的PC577 (Overkamp等2014a)。PC577与PC612相似, 只是吸收主峰在578 nm, 在610 nm附近处只有一个吸收肩峰。

与红、蓝藻不同的是: 不是所有的隐藻都含有藻胆蛋白, 并且一种隐藻只含有一种隐藻藻胆蛋白, 或PE或PC, 但不含别藻蓝蛋白APC (Rowen 1989; Gantt等1971); 隐藻内的藻胆蛋白不构成藻胆体, 存在位置也不是像红、蓝藻那样附着在叶绿体类囊体膜的外表面, 而是在类囊体膜腔内(Gantt等1971; Spear-Bernstein和Miller 1987), 但存在状态仍有争议。Morisset等(1984)曾报道, PC645在加入去污剂的情况下可得到三角形和斜方对称形2种非同型晶体, 且与以往得到的任何一种红、蓝藻藻胆蛋白结晶均不同, 认为隐藻藻胆蛋白的聚合状态可能是不均一的, 并且自组装形式以及与膜的结合方式也是特异的。但最新的隐藻类囊体膜结构模型认为, PE545可能是均匀地填充于类囊体腔中(图1), 彼此之间以及与膜上叶绿素-蛋白复合物之间没有倾向性的结合关系(van der Weij-De Wit等2006; Doust等2006; Scholes等2011)。只是如此以离散存在的藻胆蛋白如何将吸收的能量传递给位于类囊体膜上的反应中心目前还没有给出合理的解释。

2 隐藻藻胆蛋白的结构

2.1 亚基组成及数量

藻胆蛋白是由 α 和 β 亚基聚合而成的一类寡聚体蛋白, 红、蓝藻藻胆蛋白亚基分子量一般在

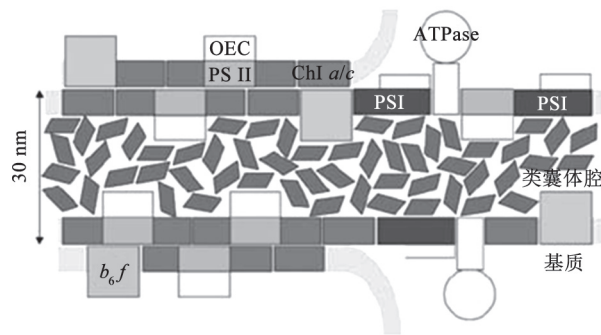


图1 隐藻光合系统结构模型

Fig.1 A model of the photosynthesis systems in cryptophytic algae

参考van der Weij-De Wit等(2006)文献修改。类囊体腔中斜方体为PE545二聚体。

15~20 kDa之间, B-PE、R-PE中存的 γ 亚基分子质量约为30 kDa。藻胆蛋白 α 和 β 亚基最先形成稳定的单体($\alpha\beta$), 再由单体聚合为多聚体($\alpha\beta$)_n。红、蓝藻的藻胆蛋白大多为三聚体($\alpha\beta$)₃或六聚体($\alpha\beta$)₆, 而隐藻则多为二聚体。其 β 亚基分子量与红、蓝藻相近, 为18~20 kDa, 但 α 亚基只有正常亚基的一半, 为8~10 kDa。MacColl和Guard-Friar (1983a)以及Sidler等(1985)等在酸性条件下对PC645和PE545的亚基进行变性拆分后, 均可分离得到2种 α 亚基, 其中 α_1 分子量为10.4 kDa, 而 α_2 只有9.2 kDa。由于高分辨率的PE545晶体结构解析(Wilk等1999; Doust等2004)以及基因序列分析结果(Broughton等2006)也都证实了2种 α 亚基的差异, 因此, 目前大都认为, 隐藻藻胆蛋白的亚基组成为($\alpha_1\beta$) ($\alpha_2\beta$)异二聚体。但2011年Zhang等经温和的分子筛层析法纯化了一种蓝隐藻(*Chroomonas placoidea*) PC645异二聚体, 经二维电泳后观察到一种新的发光亚基, 作者命名其为 β_2 , 与原有的 β_1 (等电点pI=6.0, 分子量20.3 kDa)相比, 分子量更小(15~18 kDa), 等电点更低(pI=5.7)。由于 β_1 亚基再次电泳

后并不产生 β_2 条带; 并且借助尿素拆分后得到的不含 α 亚基的 β 亚基纯化物电泳后也存在 β_1 和 β_2 条带, 因此认为 β_2 亚基不是 β_1 降解的产物, 也非 α 亚基的聚合物。PC645中这一新的 β 亚基的报道, 使人们对隐藻藻胆蛋白的亚基种类和组成有了新的认识。

2.2 色素种类及分布

藻胆蛋白是由脱辅基蛋白和开链四吡咯结构的藻胆素(phyco bilin)色素通过硫醚键共价结合而成。迄今为止, 在隐藻中发现可能存在7种藻胆素(MacColl和Guard-Friar 1983a; MacColl等1990; Wedemayer等1991, 1992, 1996; Wemmer等1993; Hiller和Martin 1987; Hiller等1992; Hoef-Emden 2008; Scholes等2011; Overkamp等2014a), 其中4种也存在于红、蓝藻藻胆蛋白, 分别是藻蓝胆素(phyco cyanobilin, PCB)、藻红胆素(phycoerythrobilin, PEB)、藻尿胆素(phycoourobilin, PUB)和15,16-二氢胆绿素(15,16-dihydrobiliverdin, DBV)。DBV即为隐藻藻胆素cryptoviolin (CV), 在文献中又称隐藻藻紫胆素。它们的最大吸收峰分别为620~650 nm (PCB)、568 nm (DBV)、540~565 nm (PEB)和490 nm (PUB)。此外, 隐藻还有3种红、蓝藻藻胆蛋白所不具备的藻胆素: 一种为中胆绿素(mesobiliverdin, MBV), 因其最大吸收波长长达697 nm, 也被称为697色素; 另一种为最大吸收在618 nm (也有报道在596 nm)色素, 文献称CB618 (或CB596); 还有一种最大吸收在584 nm的色素, 其四吡咯色素的C-环上比PEB的多了一个丙烯酰基, 称为CB584 (Overkamp等2014a)。藻胆素色素可通过1个或2个Cys硫醚键与蛋白结合(单结合和双结合), 目前研究过的隐藻藻胆蛋白中, 每个异二聚体几乎都含有8个色素, α 亚基一般都只结合一个色素, 而 β 亚基则结合3个(1个为双结合, 其余2个为单结合)。将已报道的隐藻藻胆蛋白亚基所结合的藻胆素色素种类、数量及分布情况总结如表1。

表1 隐藻藻胆蛋白亚基中藻胆素的分布

Table 1 Distribution of phycobilins in subunits of cryptomonad phycobilinproteins

	PC645	PC612	PC577	PC569	PE545	PE555	PE566
α 亚基	1×MBV	1×PCB	1×PCB	1×PCB	1×DBV	1×PEB	1×CB618 (CB584)
β 亚基	2×PCB, 1×DBV*	2×PCB, 1×DBV*	1×PCB, 1×MBV (DBV), 1×DBV*	1×PCB, 1×CB584, 1×CB584*	2×PEB, 1×PEB*	2×PEB, 1×DBV*	1×PEB, 1×DBV (CB584), 1×DBV* (CB584)

*: 被报道为双结合的色素。

2.3 亚基蛋白的一级结构

红、蓝藻藻胆蛋白 α 和 β 亚基一般各含有161~164个和161~177个氨基酸, 而 γ 亚基则含有317~319个氨基酸(Sidler 2004)。隐藻的 α_1 和 α_2 亚基一般含有70~73和78~86个氨基酸, PC645的 α_1 和 α_2 亚基各包含70和80个(Sidler等1990)或72和86个氨基酸(Harrop等2014), 每个 α 亚基的Cys-18 (Cys-19)连接有一个绿色的MBV发色团; PC645的 β 亚基含有177个氨基酸残基, 2个蓝色的PCB发色团分别结合在Cys-82和Cys-158上, 1个紫色的DBV发色团通过2个共价键连接于Cys-50和Cys-61上。

PE545的 β 亚基也含有177个氨基酸(Reith和Douglas 1990; Overkamp等2014b), 与PC645的 β 亚基序列高度同源(Hoef-Emden 2008; Overkamp等2014b)。从目前情况来看, PE545、PE555、PE566和PC612所含色基结合位置都与PC645相似, 只是所结合的色基种类不同。 α 亚基上唯一的色基都以单键结合在 α 19 (或 α 20)的Cys处; β 亚基在Cys-82和Cys-158上(分别称 β 82和 β 158)都是单结合色基, Cys-50和Cys-61上为双结合色基(β 50/61), 色基定位与紫球藻(*Porphyridium cruentum*) B-PE完全相同。

据报道, 隐藻藻胆蛋白 β 亚基由叶绿体基因编码, 而 α 亚基则是由一组小的核基因家族编码(Glazer和Wedemayer 1995; Maier等2000; Overkamp等2014b)。隐藻PC645的 β 亚基序列与红藻紫球藻(*P. cruentum*)的B-PE的 β 亚基具有73%氨基酸相同, 与蓝藻(*Calothrix* sp.)的C-PE也有63%的序列相似性, 反而与藻蓝蛋白 β 亚基同源序列较少(Sidler等1986; Overkamp等2014b)。因此推测PC645的 β 亚基可能与红、蓝藻藻胆蛋白的 β 亚基同源。但是PC645 α 亚基与已知的红、蓝藻藻胆蛋白各种亚基的序列与红、蓝藻的连接多肽或者亚基多肽相比, 仅有15%~20%的相同氨基酸残基。即使在隐藻藻胆蛋白之间, 除了色基周围的保守区外, 一级序列同源性也不高, 2个 α 亚基与 β 亚基的同源性也只有16%和11%。这表明隐藻藻胆蛋白的 α 亚基很可能属于一类特殊的、不同于其他天线多肽的藻胆蛋白类型(Glazer和Wedemayer 1995; Reith和Douglas 1990; Bolte等2008)。

2.4 空间结构

目前关于隐藻藻胆蛋白的三维结构信息, 最

详细的资料来源于*Rhodomonas* CS24的PE545晶体结构解析, 在高达1.63 Å甚至0.97 Å分辨率下, 蛋白的空间结构以及色基微环境及其相互作用都做了精确定位和测定(图2) (Wilk等1999; Doust等2004)。PE545异二聚体($\alpha_1\alpha_2\beta\beta$)形成一个近似船型的分子(75 Å×60 Å×40 Å), 尽管其 β 链结构除了N末端外与其他已知藻胆蛋白的 α 、 β 链相似, 但PE545的总体结构颇有奇特之处: (1)存在 β 折叠结构: 每个 α 亚基都有一个特异的延伸折叠结构, 由一个反向的 β 折叠及随后紧跟的 α 螺旋构成(图2-A), 并与 β 链N末端的 β 折叠相互作用, 形成三链 β 折叠。而红、蓝藻藻胆蛋白除了连接多肽之外, 通常缺少 β 折叠结构(Wilk等1999; Watanabe和Ikeuchi 2013)。(2)异二聚体中的2个($\alpha\beta$)单体之间存在一个异乎寻常的亲水裂缝(图2-B): 此亲水空腔的作用至今还是推测, 可能是其他多肽的停泊部位, 或者是与PE相互作用的中等尺寸分子的结合位点, PE545有可能借助这一裂缝与一个受体多肽结合, 并借此将吸收的能量传递给反应中心。(3)四级结构特殊: 在PE545异二聚体的2个($\alpha\beta$)单体之间, 几乎所有的蛋白质接触都来自 α 亚基, 而2个 β 亚基之间唯一的接触就是各自的 β 50/61上双结合着的PEB色基, 两者间凭借范德华力彼此作用成为色基对(色基排布及立体结构见图2-D)。该色基对不仅稳定着二聚体的结构, 还因为激子耦合而导致的激子裂分(exciton splitting), 使自身的吸收范围拓展, 从而与其能量传递序列的上下游色基间的吸收谱更好的重叠, 便于激发能在单体之间快速传递, 被认为是亚基蛋白结构和功能进化的一个策略, 也是单体二聚化最大的优势(MacColl和Eisele 1996; MacColl等1998)。

Doust等(2006)曾提到PC645解析度为1.4 Å的结果, 认为PC645与PE545在空间结构上非常相似, 只是亚基结合的色基差异对空间构象造成影响。PC645因 β 50/61处所连接的色基是DBV色基, 与PE545不同, 因而在形成二聚体时与PE545的空间构象亦有不同, 在圆二色谱(CD谱)中有所体现(MacColl和Eisele 1996; MacColl等1996, 1998; Novoderezhkin等2010)。近年来, Harrop等(2014)和Arpin等(2015)又给出了包括PC645 (1.35 Å)、PC630、PC612 (1.7Å)、PC577以及PE555 (1.8Å)

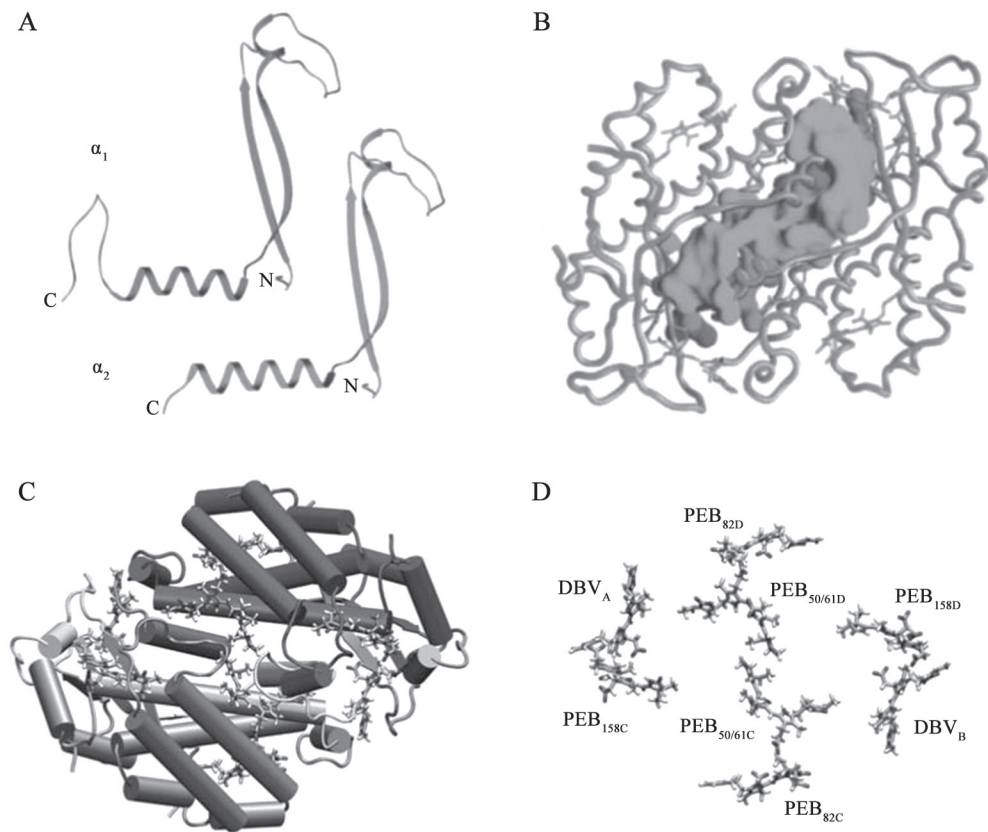


图2 PE545晶体结构

Fig.2 The crystal structure of PE545

参考Wilk等(1999)和Novoderezhkin等(2010)文献修改。A: α 亚基的二级结构; B: PE545两个单体之间的亲水裂缝; C: PE545异二聚体空间结构; D: 色基的立体排布图。

在内的5种隐藻藻胆蛋白的晶体结构, 分析结果显示其亚基的空间结构相似, 但因一级序列差异而呈现开放状态(PC645、PC630、PE545)和闭合状态(PC612、PC577、PE555)两类不同的四级结构状态(图3)。PC612以及PE555的 α 亚基不仅序列较短, 而且在相对保守序列区内的 α 18处额外插入了一个Asp, 使结合色基的Cys的序号从19位退后到了20位。正是缘于这一个氨基酸的插入而导致的空间立体效应, 可使异二聚体呈现所谓开放的状态, 此状态中的2个 $\alpha\beta$ 单体相对于闭合状态的PC645和PC630旋转了约 73° 。这一结构变化不仅使单体之间的接触面减少到闭合状态时的一半, 成为一种不够稳定的结构, 同时强烈干扰到在闭合状态时2个原本处于电子耦联状态的中央色基对之间的相互作用, 表现为激子耦合作用明显减弱。

隐藻藻胆蛋白的二聚体状态是稳定的四级结构形式, 即使是呈现不稳定的开放型四级结构的PC612和PC577, 通常也不解离为游离单体。PE545、PC612以及PC645必须在酸性(pH 4)或存在大于 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaSCN的非生理条件下才解聚为($\alpha\beta$)单体形式, 但后者结构相对独立, 虽然光谱特性有所变化, 但蛋白构象依然可维持与二聚体时相似(MacColl等1995, 1998; Wilbanks等1989)。

3 隐藻藻胆蛋白与能量传递

藻胆蛋白作为特定藻类主要的捕光复合物, 如何收集光能并依照何种方式和途径在多种色基之间传递能量, 最终传递给反应中心用于光合作用的问题, 是了解藻胆蛋白结构与功能的核心问题。

3.1 藻胆蛋白内部的能量传递途径

目前有关隐藻藻胆蛋白内部能量传递的报道, 最多的是来自Alexander B. Doust和Robert MacColl

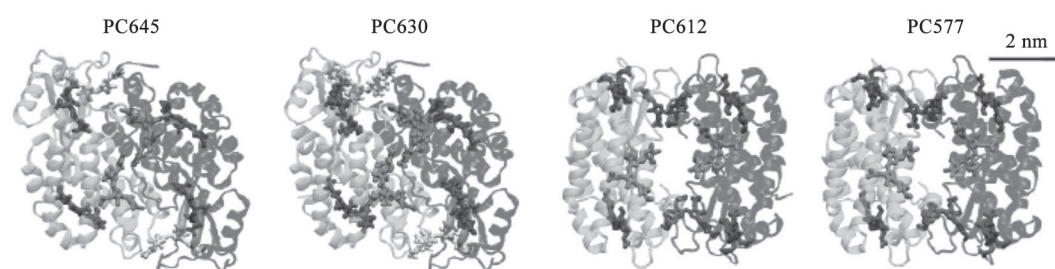


图3 隐藻PC645、PC630、PC612和PC577晶体结构

Fig.3 The crystal structure of PC645, PC630, PC612, and PC577

参考Arpin等(2015)文献修改。PC645和PC630为闭合状态; PC612和PC577为开放状态。

所在的2个研究团队。MacColl研究团队的研究涉及PE545、PE566、PC645、PC612、PC630等多种隐藻藻胆蛋白,在CD谱、荧光偏振谱以及时间分辨光谱的解析结果基础上给出大量的能量传递有关的信息:(1)隐藻PE545、PC645及PC612单体和二聚体的构象基本相同,但二聚体形成对内部能量传递至关重要(MacColl等1995, 1998, 1999a; Hill和Rowan 1989)。(2)红、蓝藻藻胆蛋白分子内通常不存在激子耦合的(exciton-coupled)色素对;而PE545、PC645及PC612二聚体所结合的8个色素,在PE545和PC645中形成3对激子耦合的色素对,2对在($\alpha\beta$)单体内,1对在单体之间的表面上($\beta 50/61$ 色素);而PC612则只有2对色素对,且都在单体内部,单体间不形成色素对;单体间的激子耦合色素对是由能级最高的色素形成(在PE545是PEB,在PC645是DBV);而单体内部的激子耦合色素对的2个成员则有不明确,可能分别存在于 α 亚基和 β 亚基上,也可能在 β 亚基内部(MacColl等1994, 1996, 1999b)。(3)提出了PC612(*H. virescens*)的能量传递初步模型(MacColl和Guard-Friar 1983b; Csatorday等1987; Guard-Friar等1985),认为PC612中最先被激发的是能级最高的CV色素(DBV),随后激发能以Förster共振方式传递给另一个DBV或者一个非激子耦合的PCB,最终以同样机制传递给一个单体内部处于激子耦合状态的PCB色素对,传递路径为:DBV→PCB₅₇₆→PCB色素对→末端发射。(4)在PC645中,从 α 亚基中分离而得的发色团(最大吸收峰位于697 nm的MBV),对应于天然状态下PC645的612 nm处吸收肩峰,而 β 亚基的2个PCB发色团分别对应于PC645的643和584 nm处吸收峰, β 亚基的CV色素(DBV)则对应于

PC645的550~553 nm处吸收峰;根据色素的能级高低,预测PC645内部色素相互之间能量传递的方向为DBV→PCB₅₈₄→MBV→PCB₆₄₃(MacColl等1994, 1995; Guard-Friar等1985)。

Doust的研究团队主要针对PE545和PC645两种藻胆蛋白。2004年Doust等以fs超快光谱测定了色素能量激发和传递的路径,并于综述中提出了这两种隐藻藻胆蛋白初步的能量传递模型(Doust等2006; Doust 2009)。与MacColl的预测不同的是,Doust认为PC645吸收光谱中585、625和645 nm三个吸收峰分别源于DBV ($\beta 50/\beta 61$)、PCB ($\beta 82$ 、 $\beta 158$)和MBV ($\alpha 19$),因而能量传递方向为:DBV→PCB→MBV,由位于 α 亚基上的长波吸收色素MBV产生660~662 nm的末端发射。近年来经过多次补充和修正,分别于2010年和2011年给出了PE545(Novoderezhkin等2010)和PC645(Martin等2011)激发动力学测定的最新结果。

修正后的PE545最新模型(图4)显示,隐藻PE545二聚体中的2个单体的能量传递是不对称的(图4-E),其将PE545的2个单体和亚基重新进行编号为($\alpha\beta\beta C$)₁, ($\alpha A\beta D$)₂, 8个色素中最先激发的是中心二聚体色素对中的1个PEB ($\beta 50/61D$) (图4-A);随后偶联色素对产生的内部转换(internal conversion)使激发能以最快的速度传给C亚基上的PEB ($\beta 50/61C$) (图4-B),即2号单体所吸收的能量会优先传给1号单体;当能量在1号单体内传递至最终能量受体C亚基的PEB ($\beta 82$)后,2号单体D亚基的PEB ($\beta 50/61$)所吸收的能量才传递给D亚基的PEB ($\beta 82$) (图4-E),而后再传递给A亚基的2个DBV,使4个周边色素全部激发;在5 ps时(图4-D),除了以前认为的最终能量受体 α 亚基的DBV色素外,PEB

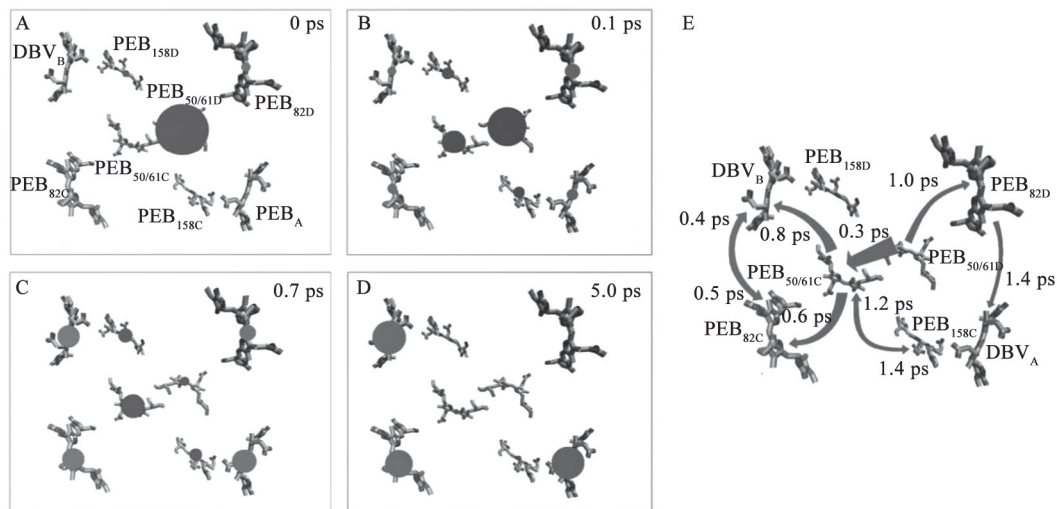


图4 PE545异二聚体内部能量传递

Fig.4 Energy transfer within PE545 heterodimer

参考Novoderezhkin等(2010)文献修改。A~D: 在0、0.1、0.7和5.0 ps四个衰减时间时激发能波及范围(圆点); E: 色基之间能量传递时间参数。

(β 82C)仍处于激发状态,说明该色基的能级接近于DBV而不同于它3个PEB。最终由一个DVB产生580 nm末端发射。虽然能量在1号单体内的传递与MacColl所给出的模型较为相似,能量在2号单体内的特殊传递路径却不好解释。

图5显示的是蓝隐藻(*Chroomonas* CCMP270)的PC645的能量传递动力学研究的最新结果:PC645的能量传递在单体间同样是不对称的(图5-B),在582 nm光照射下,2号单体中DBV(β 50/61C)所吸收的能量依然优先传给偶联的1号单体的DBV(<100 fs),随后经过0.63 ps使2个PCB₁₅₈和PCB(β 82D)激发;在5.5 ps内2个PCB(β 82)平衡;此外 α 亚基的MBV可同时被582 nm光激发,并在0.82 ps传能至最终受体PCB(β 82);经过约46 ps,2号单体内所吸收的能量经PCB(β 82D)至最终受体PCB(β 82C)是能量传递的最终信号。该模型与该研究团队以往报道以及其他实验室研究结果不同处有两点,一是认为DBV \rightarrow MBV的能量传递几乎可以忽略,而这一过程在其他文献中却有报道(Holzwarth等1983; Collini等2010);二是MBV只将能量传递给PCB(β 82),而不给PCB(β 158),这在以往的结果中未有提及。此外在PC645吸收峰对应色基方面与MacColl仍有不同,结合稳态和fs时间分辨的光谱结果(Doust等2005; Mirkovic等

2007),认为PC645色基与吸收光谱的对应关系为:585 nm \leftrightarrow DBV,610~622 nm \leftrightarrow MBV,630~640 nm \leftrightarrow PCB(图5-A),其中位于 β 亚基上的PCB(β 82)为660~662 nm末端发射的最低能级色基,吸收在651 nm。因而PC645内部色基能量传递的路径可描述为:

MBV

↓

DBV \rightarrow PCB(β 158) \rightarrow PCB(β 82) \rightarrow Chl

近年来的二维光子反射光谱(two-dimensional photon echo spectroscopy)研究结果给出了一些新的藻胆蛋白结构和内部能量传递信息,提出隐藻藻胆蛋白内部色基的能量传递可能处于一种量子相关性连结起来的网络状态,因而具有高效的能量传递效率的观点(Collini等2010; Scholes等2011)。但同时也认为,尽管具有闭合四级状态的PC630和PC645的色基之间较之PC577和PC612呈现更强的电子耦合作用(McClure等2014; Arpin等2015),但两类四级结构不同的隐藻藻胆蛋白的光能传递都是成功的体系。提出光能捕获的有效途径可以是多样化的,隐藻在进化过程中形成了一种由一个氨基酸插入来控制的结构开关,用于影响单体之间激子对的相互作用,并进而改变藻胆蛋白的捕光和能量传递功能(Harrop等2014)。

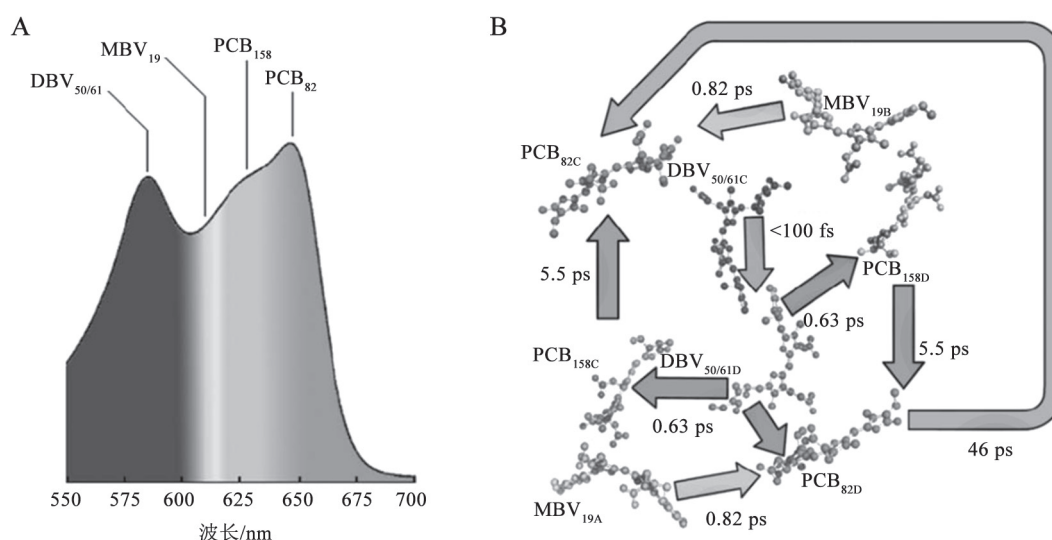


图5 PC645异二聚体内部能量传递

Fig.5 Energy transfer within PC645 heterodimer

参考Martin等(2011)文献修改。A: 色基在吸收光谱中的对应波长位置; B: 色基之间能量传递时间参数。

3.2 藻胆蛋白与叶绿素蛋白复合物及光系统之间的能量传递

隐藻捕光系统除了藻胆蛋白之外, 还有位于光合膜上的Chl *a/c*₂-蛋白复合物, 它们彼此之间以及与同样处于膜上的光合反应中心之间如何进行能量传递, 是一个复杂的问题, 目前的研究结果多有相互矛盾之处。

早期采用荧光光谱法对隐藻活细胞内激发能分配的研究显示, 隐藻藻胆蛋白只能将吸收的能量传递给光合系统II (PSII), 并且没有典型的光诱导的状态转变过程(Lichtlé等1980; Bruce等1986; Synder和Biggins 1987), 可能与隐藻类囊体膜没有基粒结构有关(Gantt等1971)。只有Cheregi等(2015)报道隐藻*Guillardia theta*在对数生长期时可表现出类似状态转变的现象。1998年Mimuro等结合时间分辨光谱对含有PE566的隐藻完整细胞研究显示, 隐藻光合系统能量传递是多路径的: Chl *c*₂主要将吸收的能量传递给吸收波长为663 nm的Chl *a*₆₆₃, 而PE566则将激发能传递给Chl *a*₆₈₂, 2种Chl *a*都位于PSII的捕光复合物LHCII (light-harvesting complex of PSII)中, LHCII可将收集自2套捕光体系的能量传递给PSII核心。Lichtlé等(1987)曾经采用超离心方法从隐藻*C. rufescens*中分离到一种活性的PE-xanthophyll (叶黄素)-PSII复合物组分, 并

且对该组分进行负染色, 可观察到与类囊体膜结合着的规则的PE小颗粒; Chen等(2007)则采用等电聚焦电泳法从蓝隐藻*C. placodea*中分离到一种特殊的PC-Chl *a/c*₂-蛋白复合物, 该复合物中PC吸收的能量可直接传递给Chl *a*。上述结果直接说明, 隐藻藻胆蛋白在结构上应该是与膜上的PSII或者Chl *a/c*-蛋白复合物直接相连的, 并且在功能上存在能量传递关系。但2004年Doust等根据含有PE545的*Rhodomonas* CS24细胞的超快光谱研究数据以及Mimuro等(1998)的测定结果, 采用量子化学方法计算后提出一种新颖的传能模式, 认为: (1) PE545末端发射基团(1个DBV色基)因处于异二聚体蛋白的周边, 与膜上Chl *a*受体间距大约只有50 Å的距离, 采用Förster共振方式传递能量时, 只要存在大量的Chl *a*受体, PE545既不需要定向排布, 甚至也无须与膜结合, 就可实现向PSII的能量传递。(2)游离于类囊体腔中的PE545吸收的能量, 利用DBV色基发射波长(580 nm)和吸收波长(567 nm)之间的高度叠加, 先经异二聚体彼此之间高效穿梭、迁移, 最终才传递到膜上受体。该模型似乎提示了隐藻藻胆蛋白在类囊体腔中是以二聚体为单元游离存在, 并且不需要与膜接触。但矛盾的是, 借助该模型进行的能量传递速率较之活体状态慢得多, 因此Doust等在2006年的综述中认为, 对

分离出来的藻胆蛋白的光谱实验,无法预测出活体状态下能量传递的准确情况。

此外,2008年该团队的van der Weij-De Wit等对*Chroomonas* CCMP270完整细胞能量转移动力学研究打破了以往的认知,来自于PC645的激发能基本平均的分配给PSI和PSII,其中PSI占55%,而PSII占45%。由于PSII系统在膜腔侧存在大量的无色蛋白(例如放氧复合物OEC),使隐藻藻胆蛋白与PSII核心接触困难,而PSI在膜腔一侧的蛋白组成相对简单,因此认为Chl *a/c*₂复合物可能调节着PE545向PSII的能量传递,传递路径为PE545→Chl *a/c*₂→PSII(与Mimuro模式相同);但PSI则是直接敏化的。相关的报道证实,隐藻PSI与高等植物以及绿藻相似,周围也结合着属于自身的Chl *a/c*-蛋白捕光复合物LHCI(张允允和陈敏2011; Jansson和Rhiel 2008; Kereiche等2008),但至今还没有直接分离到藻胆蛋白与PSI或者LHCI相连的活性组分的报道,因此隐藻藻胆蛋白与膜上PSI的接触方式还有待探讨。

4 隐藻藻胆蛋白结构与功能研究有待解决的问题

隐藻藻胆蛋白的研究始于上世纪50年代,到80年代开始被更多地关注,目前是藻胆蛋白家族中比较特殊而又了解不很透彻的一组成员,有关其结构、组成、在叶绿体中的存在状态和定位及功能执行等方面,都存在不少有待进一步了解的问题。

4.1 亚基组成

目前发现的隐藻藻胆蛋白至少有8种,除了PE545、PC645等研究探讨较多之外,其余的虽然都有涉及,但研究仍不透彻,对PE566、PE569的了解则十分有限。不仅有些色素不完全确定,作为隐藻藻蓝蛋白代表的PC645还报道可能存在未发现的新的β亚基类型(Zhang等2011)。因此各种隐藻藻胆蛋白亚基的结构、组成的问题还有待于更详尽的比对、确定,亚基蛋白的氨基酸序列分析或者基因序列分析将有助于问题的阐明。

4.2 异二聚体的空间结构及与功能的关系

八种隐藻藻胆蛋白中PC569和PC566还没有得到结晶的报道。而研究最多的PE545,其异二聚体中2个α亚基的结构和性质不同,在维持亚基结构和能量传递功能时也是不相同的,其结构和功

能之间的对应关系还不确定;此外PE545异二聚体中2个单体界面之间明显的亲水裂缝的功能不明,是否与红、蓝藻藻胆蛋白六聚体中央空洞那样是连接多肽结合位置,或者是与膜组分(例如LHCII)结合时的接触部位,目前还在探讨。由于PE545的末端发射基团是位于α亚基上的DBV色素,而PC645承担这一功能的很可能是β亚基的PCB,显然,对于隐藻藻胆蛋白的空间结构与功能的关系,还有待于更深入、细致的探讨。

4.3 隐藻藻胆蛋白与类囊体膜的接触问题

隐藻类囊体腔很宽,跨度100~500 Å不等,平均200~300 Å(Gantt等1971)。在如此宽的区域中游离于膜腔中藻胆蛋白如何向类囊体膜上的光合系统传递能量是一个很让人好奇的问题。尽管Doust等(2006)提出游离PE545能量传递方式来解释其最新的隐藻光合系统结构模型(图1),但更多的实验结果表明,隐藻藻胆蛋白至少有一部分是与膜成分结合的(Lichtlé等1980, 1987, 1992; Ludwig和Gibbs 1989; Mikovic等2007),甚至有报道认为,PE545可能的膜结合状态或者聚集状态使其在膜腔内的扩散受到抑制(Mikovic等2009)。此外,曾有活体细胞的荧光动力学研究显示,在PSI和PSII过度激发时,可导致藻胆蛋白向PSII能量传递减少,认为这是PSII的一种光保护机制(Mimuro等1998)。Cheregi等(2015)报道,对数生长期的隐藻*G. theta*呈现状态转变的现象只能由被Chl *a/c*蛋白复合物吸收的蓝光诱导,而用PE吸收的绿光诱导时无效,但可产生特殊的F576荧光,而F589末端发射明显减少。因而认为强光条件下,膜腔中PE可能发生了某种结构重排,减少了与光合系统的偶联程度,并以发射多余荧光的形式耗散激发能,从而减少对反应中心的能量传递。而在弱光条件下,PE则与光合系统结合。再联系分离出来PC645可以形成不同的2种晶型的事实,我们推测:藻胆蛋白在类囊体腔中与膜的结合状态有可能是动态的,具有膜结合型和游离型2种,与膜结合与否可能与其所处的环境和功能状态有关(徐伟等2015),这一推测是否正确还有待验证。至于与膜的结合是否需要借助相应的连接多肽,目前实验证据有限。

4.4 能量传递途径

虽然关于藻胆蛋白PC645和PE545的内部能

量传递的研究互为补充、日趋完善, 但就PC645而言, 内部色基种类至多也不超过3种色基(PCB、DBV和MBV), 但是这些色基在蛋白内部的构象、能量状态、能量传递途径, 尤其色基与吸收光谱的对应关系一直充满争议, 未能完全统一。至于其他隐藻藻胆蛋白类型, 其能量传递问题多数停留于推测状态。由于目前在结构上对隐藻藻胆蛋白在类囊体腔中的存在状态, 以及与膜的接触机制不能完全确定, 因而对其与膜上叶绿素蛋白复合物之间的能量传递研究也还有待广泛深入。近年来引进的二维光子反射光谱技术, 可在室温下对跨度达5 nm的蛋白分子(复合物)进行测定, 并应用于含有4 000个色素分子的光合细菌捕光系统研究(Collini等2010; Turner等2012; Huh等2014; Arpin等2015; Chenu和Scholes 2015), 相信对于深入认识和了解隐藻藻胆蛋白内部以及与膜上光合系统之间的能量传递关系问题, 将提供一个新的方法和研究视角。

4.5 隐藻藻胆蛋白进化与亲缘关系

目前认为PC645的 β 亚基可能与红、蓝藻PE的 β 亚基同源(Sidler等1986), 此外, 隐藻*G. theta*的基因组全系列分析, 也证实它与红藻具有相同的祖先(Douglas和Penny 1999; Broughtona等2006; Hoef-Emden 2008), 但是 α 亚基与已知的红、蓝藻藻胆蛋白各种亚基的序列并没有明显的相似性, 很可能属于一类进化上独立的特殊藻胆蛋白类型。认为隐藻藻胆蛋白捕光系统是比较原始的, 甚至早于原核的蓝藻, 其中编码隐藻 β 亚基的基因是编码红、蓝藻 α 和 β 亚基的基因家族的祖先。但 α 亚基的起源和进化轨迹却有待进一步探讨, 这方面的研究有赖于更多的分子生物学和遗传学研究的开展, 广泛的从基因水平上做进一步的分析和比对。

尽管在隐藻的一些种属中不存在藻胆蛋白, 但在含有藻胆蛋白的隐藻中, 其藻胆蛋白含量常常很高, 是其主要的捕光复合物, 并且光能传递效率不亚于红、蓝藻中的藻胆体。结合隐藻藻胆蛋白亚基的起源来看, 隐藻藻胆蛋白不应是隐藻进化的遗迹, 很可能是一类原始而独立的进化分支。隐藻藻胆蛋白作为藻胆蛋白家族的重要成员, 其结构相对于庞大的藻胆体来说要简单得多。因

此, 对隐藻藻胆蛋白的深入研究, 对于了解藻胆蛋白基本的结构与捕光功能的关系、研究藻胆蛋白的进化等将更为便捷, 同时对探讨隐藻的进化地位以及光合生物进化的亲缘关系等也将具有重要意义。

参考文献

- 徐伟, 梁源, 陈敏, 王宁(2015). 隐藻藻蓝蛋白与类囊体膜的动态结合模型. 海洋科学, 39 (4): 21~29
- 曾呈奎, 周百成(1983). 光合生物的进化. 见: 进化论选集(纪念达尔文逝世一百周年学术讨论会会议论文选编). 北京: 科学出版社, 34-43
- 张允允, 陈敏(2011). 蓝隐藻藻蓝蛋白的分离、纯化及性质研究. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 24 (4): 281~286
- Arpin PC, Turner DB, McClure SD, Jumper CC, Mirkovic T, Challa JR, Lee J, Teng CY, Green BR, Wilk KE et al (2015). Spectroscopic studies of cryptophyte light harvesting proteins: vibrations and coherent oscillations. J Phys Chem B, 119 (31): 10025~10034
- Bolte K, Kawach O, Precht J, Gruenheit N, Nyalwidhe J, Maier UG (2008). Complementation of a phycocyanin-bilin lyase from *Synechocystis* sp. PCC 6803 with a nucleomorph-encoded open reading frame from the cryptophyte *Guillardia theta*. BMC Plant Biol, 8: 56
- Broughtona MJ, Howeb CJ, Hiller RG (2006). Distinctive organization of genes for light-harvesting proteins in the cryptophyte alga *Rhodomonas*. Gene, 369: 72~79
- Bruce D, Biggins J, Steiner T, Thewalt M (1986). Excitation energy transfer in the cryptophytes. Fluorescence excitation spectra and picosecond time-resolved emission spectra of intact algae at 77 K. Photochem Photobiol, 44 (4): 425~554
- Chang LF, Liu XW, Li YB, Liu CC, Yang F, Zhao JD, Sui SF (2015). Structural organization of an intact phycobilisome and its association with photosystem II. Cell Res, 25: 726~737
- Chen M, Li SH, Sun L (2007). A novel phycocyanin-Chla/c₂-protein complex isolated from chloroplasts of *Chroomonas placodeia*. Chin Chem Let, 18: 1374~1378
- Chenu A, Scholes GD (2015). Coherence in energy transfer and photosynthesis. Annu Rev Phys Chem, 66: 69~96
- Cheregi O, Kotabová E, Prášil O, Schröder WP, Kaňa R, Funk C (2015). Presence of state transitions in the cryptophyte alga *Guillardia theta*. J Exp Bot, 66 (20): 6461~6470
- Collini E, Wong CY, Wilk KE, Curmi PMG, Brumer P, Scholes GD (2010). Coherently wired light-harvesting in photosynthetic marine algae at ambient temperature. Nature, 463: 644~647
- Csatorday K, MacColl R, Guard-Friar D, Hanzlik CA (1987). Excitation energy transfer between sensitizing chromophores of phycocyanin 612. Photochem Photobiol, 45 (6): 845~848
- Douglas SE, Penny SL (1999). The plastid genome of the cryptophyte alga, *Guillardia theta*: complete sequence and conserved synteny groups confirm its common ancestry with red algae. J Mol Evol, 48 (2): 236~244

- Doust A (2009). The Role of Phycobilins in Cryptophyte Photosynthesis: A Structural, Photophysical and Quantum Mechanical Study. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing, 232
- Doust AB, Marai CNJ, Harrop SJ, Wilk KE, Curmi PMG, Scholes GD (2004). Developing a structure-function model for the cryptophyte phycoerythrin 545 using ultrahigh resolution crystallography and ultrafast laser spectroscopy. *J Mol Biol*, 344: 135~153
- Doust AB, Stokkum IHM, Larsen DS, Wilk KE, Curmi PMG, Grondelle R, Scholes GD (2005). Mediation of ultrafast light-harvesting by a central dimer in phycoerythrin 545 studied by transient absorption and global analysis. *J Phys Chem B*, 109 (29): 14219~14226
- Doust AB, Wilk KE, Curmi PMG, Scholes GD (2006). The photophysics of cryptophyte light-harvesting. *J Photochem Photobiol A: Chem*, 184 (1-2): 1~17
- Gantt E, Edwards MR, Provasoli L (1971). Chloroplast structure of the cryptophyceae. Evidence for phycobiliproteins within intrathylakoidal spaces. *J Cell Biol*, 48: 280~290
- Gao X, Wei TD, Zhang N, Xie BB, Su HN, Zhang XY, Chen XL, Zhou BC, Wang ZX, Wu JW, Zhang YZ (2012). Molecular insights into the terminal energy acceptor in cyanobacterial phycobilisome. *Mol Microbiol*, 85 (5): 907~915
- Glazer AN, Wedemayer GJ (1995). Cryptomonad biliproteins—an evolutionary perspective. *Photosynth Res*, 46 (1-2): 93~105
- Green BR (2003). The evolution of light-harvesting antennas. In: Green BR, Parson WW (eds). *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 129~168
- Grzebyk D, Schofield O, Vetriani C, Falkowski PG (2003). The mesozoic radiation of eukaryotic algae: the portable plastid hypothesis. *J Phycol*, 39: 259~267
- Guard-Friar D, Eisenberg BL, Edwards MR, MacColl R (1986). Immunochemistry on cryptomonad biliproteins. *Plant Physiol*, 80 (1): 38~42
- Guard-Friar, MacColl R, Berns DS, Wittmershaus B, Knox RS (1985). Picosecond fluorescence of cryptomonad biliproteins. Effects of excitation intensity and the fluorescence decay times of phycocyanin 612, phycocyanin 645, and phycoerythrin 545. *Biophys J*, 47 (6): 787~793
- Harrop SJ, Wilk KE, Dinshaw R, Collini E, Mirkovic T, Teng CY, Oblinsky DG, Green BR, Hoef-Emden K, Hiller RG et al (2014). Single-residue insertion switches the quaternary structure and exciton states of cryptophyte light-harvesting proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111 (26): 2666~2675
- Hill DRA, Rowan KS (1989). The biliproteins of the cryptophyceae. *Phycologia*, 28 (4): 455~463
- Hiller RG, Martin CD (1987). Multiple forms of type I phycoerythrin from a *Chroomonas* sp. (Cryptophyceae) varying in subunit composition. *Biochim Biophys Acta*, 923: 98~102
- Hiller RG, Scaramuzzi CD, Breton J (1992). The organisation of photosynthetic pigments in a cryptophyte alga: a linear dichroism study. *Biochim Biophys Acta*, 1102 (3): 360~364
- Hoef-Emden K (2008). Molecular phylogeny of phycocyanin-containing cryptophytes: evolution of biliproteins and geographical distribution. *J Phycol*, 44 (4): 985~993
- Hoef-Emden K, Melkonian M (2003). Revision of the genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae): a combination of molecular phylogeny and morphology provides insights into a long-hidden dimorphism. *Protist*, 154 (3-4): 371~409
- Holzwarth AR, Wendler J, Wehrmeyer W (1983). Studies on chromophore coupling in isolated phycobiliproteins. I. Picosecond fluorescence kinetics of energy transfer in phycocyanin 645 from *Chroomonas* sp. *Biochim Biophys Acta*, 724 (3): 388~395
- Huh J, Saikin SK, Brookes JC, Valleau S, Fujita T, Aspuru-Guzik A (2014). Atomistic study of energy funneling in the light-harvesting complex of green sulfur bacteria. *J Am Chem Soc*, 136 (5): 2048~2057
- Ingram K, Hiller RG (1983). Isolation and characterization of a major chlorophyll *a/c*₂ light-harvesting protein from a *Chroomonas* species (Cryptophyceae). *Biochim Biophys Acta*, 722 (2): 310~319
- Jansson J, Rhiel E (2008). Evidence of monomeric photosystem I complexes and phosphorylation of Chlorophyll *a/c*-binding polypeptides in *Chroomonas* sp. strain LT (Cryptophyceae). *Int Microbiol*, 11: 171~178
- Kerešič S, Kouřil R, Oostergetel GT, Fusetti F, Boekema EJ, Doust AB, van der Weij-de Wit CD, Dekker JP (2008) Association of chlorophyll *a/c*₂ complexes to photosystem I and photosystem II in the cryptophyte *Rhodomonas* CS24. *Biochim Biophys Acta*, 1777 (9): 1122~1128
- Kim E, Lane CE, Curtis BA, Kozera C, Bowman S, Archibald JM (2008). Complete sequence and analysis of the mitochondrial genome of *Hemiselmis andersenii* CCMP644 (Cryptophyceae). *BMC Genomics*, 9: 215
- Kuzminov FI, Bolychevtseva YV, Elanskaya IV, Karapetyan NV (20s14). Effect of APCD and APCF subunits depletion on phycobilisome fluorescence of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *J Photochem Photobiol B Biol*, 133: 153~160
- Lichtlé C, Duval JC, Lemoine Y (1987). Comparative biochemical, functional and ultrastructural studies of photosystem particles from a Cryptophyceae: *Cryptomonas rufescens*; isolation of an active phycoerythrin particle. *Biochim Biophys Acta*, 894 (1): 76~90
- Lichtlé C, Jupin H, Duval JC (1980). Energy transfers from photosystem II to photosystem I in *Cryptomonas rufescens* (Cryptophyceae). *Biochim Biophys Acta*, 591: 104~112
- Lichtlé C, McKay RML, Gibbs SP (1992). Immunogold localization of photosystem I and photosystem II light-harvesting complexes in cryptomonad thylakoids. *Biol Cell*, 74: 187~194
- Ludwig M, Gibbs SP (1989). Localization of phycoerythrin at the luminal surface of the thylakoid membrane in *Rhodomonas lens*. *J Cell Biol*, 108 (3): 875~884
- MacColl R, Eisele L (1996). R-phycoerythrins having two conformations for the same aggregate. *Biophys Chem*, 61 (2-3): 161~167
- MacColl R, Eisele L, Dhar M, Ecuyer JP, Hopkins S, Marrone J, Barnard R, Malak H, Lewitus AJ (1999a). Bilin organization in cryptomonad biliproteins. *Biochemistry*, 38 (13): 4097~4105
- MacColl R, Eisele L, Marrone J (1999b). Fluorescence polarization studies on four biliproteins and a bilin model for phycoerythrin

545. *Biochim Biophys Acta*, 1412 (3): 230~239
- MacColl R, Guard-Friar D (1983a). Phycocyanin 645. The chromophore assay of phycocyanin 645 from the cryptomonad protozoa *Chroomonas* species. *J Biol Chem*, 258 (23): 14327~14329
- MacColl R, Guard-Friar D (1983b). Phycocyanin 612: a biochemical and photophysical study. *Biochemistry*, 22 (24): 5568~5572
- MacColl R, Guard-Friar D, Ryan TJ (1990). Biliprotein light-harvesting strategies, phycoerythrin 566. *Biochemistry*, 29 (2): 430~435
- MacColl R, Kapoor S, Montellese DR, Kukadia S, Eisele LE (1996). Bilin chromophores as reporters of unique protein conformations of phycocyanin 645. *Biochemistry*, 35 (48): 15436~15439
- MacColl R, Malak H, Cipollo J, Label B, Ricci G, MacColl D, Eisele LE (1995). Studies on the dissociation of cryptomonad biliproteins. *J Biol Chem*, 270 (46): 27555~27561
- MacColl R, Malak H, Gryczynski I, Eisele L, Mizejewski GJ, Franklin E, Sheikh H, Montellese D, Hopkins S, MacColl LC (1998). Phycoerythrin 545: monomers, energy migration, bilin topography, and monomer/dimer equilibrium. *Biochemistry*, 37 (1): 417~423
- MacColl R, Williams EC, Eisele LE, McNaughton P (1994). Chromophore topography and exciton splitting in phycocyanin 645. *Biochemistry*, 33 (21): 6418~6423
- Maier UG, Douglas SE, Cavalier-Smith T (2000). The nucleomorph genomes of cryptophytes and chlorarachniophytes. *Protist*, 151: 103~109
- Marin A, Doust AB, Scholes GD, Wilk KE, Curmi PM, van Stokkum IH, van Grondelle R (2011). Flow of excitation energy in the cryptophyte light-harvesting antenna phycocyanin 645. *Biophys J*, 101 (4): 1004~1013
- McClure SD, Turner DB, Arpin PC, Mirkovic T, Scholes GD (2014). Coherent oscillations in the PC577 cryptophyte antenna occur in the excited electronic state. *J Phys Chem B*, 118 (5): 1296~1308
- Mimuro M, Tamai N, Murakami A, Watanabe M, Erata M, Watanabe MM, Tokutomi M, Yamazaki I (1998). Multiple pathways of excitation energy flow in the photosynthetic pigment system of a cryptophyte, *Cryptomonas* sp. (CR-1). *Phycol Res*, 46 (3): 155~164
- Mirkovic T, Doust AB, Kim J, Wilk KE, Curutchet C, Mennucci B, Cammi R, Curmi PMG, Scholes GD (2007). Ultrafast light harvesting dynamics in the cryptophyte phycocyanin 645. *Photochem Photobiol Sci*, 6 (9): 964~975
- Mirkovic T, Wilk KE, Curmi PMG, Scholes GD (2009). Phycobiliprotein diffusion in chloroplasts of cryptophyte *Rhodomonas* CS24. *Photosynth Res*, 100 (1): 7~17
- Morisset W, Wehrmeyer W, Schirmer T, Bode W (1984). Crystallization and preliminary x-ray diffraction data of the cryptomonad biliprotein phycocyanin-645 from a *Chroomonas* spec. *Arch Microbiol*, 140: 202~205
- Novoderezhkin VI, Doust AB, Curutchet C, Scholes GD, van Grondelle R (2010). Excitation dynamics in phycoerythrin 545: modeling of steady-state spectra and transient absorption with modified redfield theory. *Biophys J*, 99 (2): 344~352
- Overkamp KE, Langklotz S, Aras M, Helling S, Marcus K, Bandow JE, Hoef-Emden K, Frankenberg-Dinkel N (2014a). Chromophore composition of the phycobiliprotein Cr-PC577 from the cryptophyte *Hemiselmis pacifica*. *Photosynth Res*, 122 (3): 293~304
- Overkamp KE, Gasper R, Kock K, Herrmann C, Hofmann E, Frankenberg-Dinkel N (2014b). Insights into the biosynthesis and assembly of cryptophycean phycobiliprotein. *J Biol Chem*, 289: 26691~26707
- Peng PP, Dong LL, Sun YF, Zeng XI, Ding WL, Scheer H, Yang XJ, Zhao KH (2014). The structure of allophycocyanin B from *Synechocystis* PCC 6803 reveals the structural basis for the extreme redshift of the terminal emitter in phycobilisomes. *Acta Crystallogr Section D*, 70 (10): 2558~2569
- Reith M, Douglas S (1990). Localization of β -phycoerythrin to the thylakoid lumen of *Cryptomonas* Φ does not involve a signal peptide. *Plant Mol Biol*, 15 (4): 585~592
- Rowan KS (1989). *Photosynthetic Pigments of Algae*. New York: Cambridge University Press, 166~211
- Scholes GD, Fleming GR, Olaya-Castro A, van Grondelle R (2011). Lessons from nature about solar light harvesting. *Nat Chem*, 3: 763~774
- Sidler W, Kumpf B, Rudiger W, Zuber H (1986). The complete amino-acid sequence of C-phycoerythrin from the cyanobacterium *Fremyella diplosiphon*. *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 367: 627~642
- Sidler W, Kumpf B, Suter F, Morisset W, Wehrmeyer W, Zuber H (1985). Structural studies on cryptomonad biliprotein subunits. Two different α -subunits in *Chroomonas* phycocyanin-645 and *Cryptomonas* phycoerythrin-545. *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 366 (3): 233~244
- Sidler W, Nutt H, Kumpf B, Frank G, Suter F, Brebzel A, Wehmeyer W, Zuber H (1990). The complete amino-acid sequence and the phylogenetic origin of phycocyanin-645 from the cryptophyten alga *Chroomonas* sp. *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 371 (7): 537~547
- Sidler WA (2004). Phycobilisome and phycobiliprotein structures. In: Bryant DA (ed). *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 139~216
- Spear-Bernstein L, Miller KR (1987). Immunogold localization of the phycobiliprotein of a cryptophyte alga to the intrathylakoidal space. In: Biggins J (ed). *Progress in Photosynthesis Research*. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishing, 309~312
- Synder UK, Biggins J (1987). Excitation-energy redistribution in the cryptomonad alga *Cryptomonas ovate*. *Biochim Biophys Acta*, 892: 48~55
- Turner DB, Dinshaw R, Lee KK, Belsley MS, Wilk KE, Curmi PMG, Scholes GD (2012). Quantitative investigations of quantum coherence for a light-harvesting protein at conditions simulating photosynthesis. *Phys Chem Chem Phys*, 14 (14): 4857~4874
- van der Weij-De Wit CD, Doust AB, Stokkum HM, Dekker JP, Wilk KE, Curmi PMG, Scholes GD, van Grondelle R (2006). How energy funnels from the phycoerythrin antenna complex to photosystem I and photosystem II in cryptophyte *Rhodomonas* CS24 cells. *J Phys Chem B*, 110: 25066~25073
- van der Weij-De Wit CD, Doust AB, van Stokkum IHM, Dekker JP, Wilk KE, Curmi PMG, van Grondelle R (2008). Phycocyanin sensitizes both photosystem I and photosystem II in cryptophyte

- Chroomonas* CCMP270 cells. *Biophys J*, 94: 2423~2433
- Watanabe M, Ikeuchi M (2013). Phycobilisome: architecture of a light-harvesting supercomplex. *Photosynth Res*, 116 (2-3): 265~276
- Watanabe M, Semchonok AD, Webber-Birungic MT, Ehirad S, Kondoa K, Narikawaa R, Ohmorid M, Boekemac EJ, Ikeuchia M (2014). Attachment of phycobilisomes in an antenna-photosystem I supercomplex of cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111 (7): 2512~2517
- Wedemayer GJ, Kidd DG, Glazer AN (1996). Cryptomonad biliproteins: bilin types and locations. *Photosynth Res*, 48: 163~170
- Wedemayer GJ, Kidd DG, Wemmer DE, Glazer AN (1992). Phycobilins of cryptophycean algae. Occurrence of dihydrobiliverdin and mesobiliverdin in cryptomonad biliproteins. *J Biol Chem*, 267 (11): 7315~7331
- Wedemayer GJ, Wemmer DE, Glazer AN (1991). Phycobilins of cryptophycean algae. Structures of novel bilins with acryloyl substituents from phycoerythrin 566. *J Biol Chem*, 266: 4731~4741
- Wemmer DE, Wedemayer GJ, Glazer AN (1993). Phycobilins of cryptophycean algae. Novel linkage of dihydrobiliverdin in a phycoerythrin 555 and a phycocyanin 645. *J Biol Chem*, 268 (3): 1658~1669
- Wilbanks SM, Wedemayer GJ, Glazer AN (1989). Posttranslational modifications of the β subunit of a cryptomonad phycoerythrin. Sites of bilin attachment and asparagine methylation. *J Biol Chem*, 264 (30): 17860~17867
- Wilk KE, Harrop SJ, Jankova L, Edler D, Keenan G, Sharples FP, Hiller RG, Curmi PMG (1999). Evolution of a light-harvesting protein by addition of new subunits and rearrangement of conserved elements: crystal structure of a cryptophyte phycoerythrin at 1.63 Å resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 8901~8906
- Zhang YY, Chen M, Cui H (2011). Isolation and characterization of a new subunit of phycocyanin from *Chroomonas placoidea*. *Chin Chem Lett*, 22 (10): 1229~1232