

嗜盐杆菌的光能转化作用

王大珍

印明善

(中国科学院微生物研究所, 北京) (中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州)

当前,在探索新的可利用能源途径的研究中,以微生物为材料利用光能产氢,还原固定 CO_2 和固定 N_2 的研究已成为重要课题。

具有光合能力的微生物有某些细菌和藻类。藻类有两个光吸收系统,即光系统 I 和光系统 II。这两个系统都是由约 200 个分子的叶绿素组成的。光合过程中,以 H_2O 为供氢体,吸收光能后,合成 ATP 贮存能量,用以同化固定 CO_2 ,同时产生游离 O_2 。光合细菌的光吸收系统较藻类简单,只有光系统 I,由菌绿素及类胡萝卜素组成。这类细菌的供氢体不是 H_2O ,而是较简单的有机化合物(如低级脂肪酸),或 H_2S 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 等,它们也在光照后经光化磷酸化作用合成 ATP,贮存能量,用以同化固定 CO_2 ,但不产生游离 O_2 。

嗜盐杆菌和它的光能转化结构

嗜盐杆菌 (*Halobacterium halobium*) 是一种光合细菌。该种菌分布于高盐域,如盐湖及晒盐池等处。按 Bergey 细菌鉴定手册第 8 版,属革兰氏阴性好氧杆菌和球菌部分的嗜盐杆菌科。这类细菌生长的最适盐浓度是 25—30%。与其它嗜盐菌一样,它们细胞内外渗透压差不大。在高离子强度下它们的机能正常,具有特殊的酶结构,即嗜盐性酶。它们的光系统较一般光合细菌更简单,只具有独特的菌视紫素 (bacteriorhodopsin),更易于取得和掌握。菌视紫素在嫌氧条件下吸收光能,具有质子泵的作用,产生一定的电化势。菌体可直接利用这种能量合成 ATP 输送氨基酸、同化固定 CO_2 和排出多余的盐。因此,搞清这类细菌细胞结构及其能量转换关系,对于把光能转化成化学能的研究极有意义。

在限制通气、光照的条件下培养嗜盐杆菌,可获得紫色菌体。菌体细胞膜上约占 50% 的是紫膜片^[1]。紫膜化学成分固定,只含一种蛋白质——视蛋白 (opsin),其含量占紫膜干重的 75%,分子量为 26000^[2]。其中还含有磷脂酰甘油磷酸二酯类物质,约占紫膜干重的 25%^[3]。冷冻后的菌体碎片中,在电子显微镜下可见到质膜与紫膜间的键合。键被打开后,分为富含蛋白质的粒状片和少含蛋白质的平滑片^[4,5]。菌视紫素就是视蛋白与视黄醛以 1:1 相结合的物质。在紫膜中,菌视紫素规则地排列在脂质中^[4]。

视黄醛 (retinal) 与一般光合细菌中所含的蕃茄红素 (lycopene) 结构类似,它们的结构如图 1 所示。菌视紫素中的感光部分的结构如图 2^[6]所示。视黄醛中

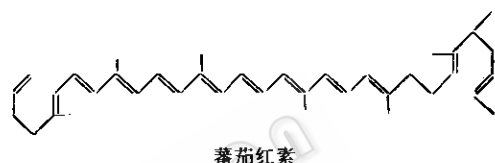
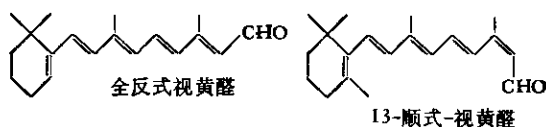


图 1 视黄醛和蕃茄红素的结构

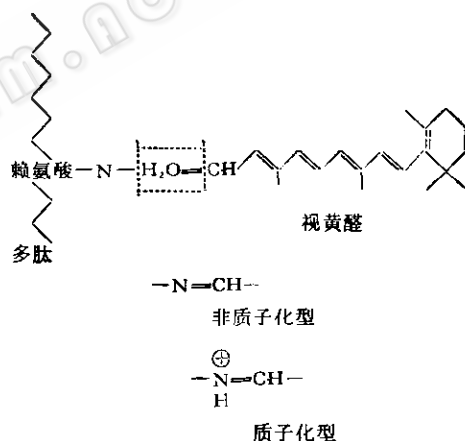


图 2 菌视紫素的感光部分

的醛基与视蛋白中赖氨酸的 δ -氨基缩合,形成 $-\text{N}=\text{CH}-$ 键合的复合物。其中 $-\text{N}=\text{CH}-$ 与 H^+ 络合, H^+ 随视黄醛的光异构化而呈络合或游离状态。多次试验证实,视黄醛在光化反应前的紫外光吸收峰为 412 毫微米,与视蛋白结合之视黄醛在反应前为 13-顺式结构,吸收峰为 560 毫微米,光照后为全反式结构,吸收峰为 570 毫微米。由 412 毫微米到 570 毫微米之间的变化,反映了菌视紫素获取和释放 H^+ 的过程。经电子显微镜观察得知,紫膜中的菌视紫素具同一方向性。随着光照而发生光化学反应循环、菌体从膜内细胞质中获取 H^+ ,从膜上向膜外(菌体外)移动,形成细胞内外的 H^+ 梯度,于是将光能转化为电能^[7-10]。人工制备的方

向一致的紫膜,经光照后,测得膜两侧的电位差为 100 毫伏。pH 差 0.6—0.8^[11]。

嗜盐杆菌光系统的功能

一、合成 ATP

在嫌氧条件下,饥饿状态的嗜盐杆菌的紫膜经光照后,驱动质子泵,在膜上形成质子梯度。菌体利用这种电化势能合成 ATP,即进行光化磷酸化反应。ATP 分解是膜上的 ATP 酶催化的。它的逆反应是 ADP 与无机磷水合成 ATP,所需能量在这类菌中来自质子泵。当生成 ATP 时,游离出的水分子解离为 H^+ 和 OH^- ,这种 H^+ 受膜内侧较多的 OH^- 离子吸引;而由水解离出的 OH^- 又受膜外侧较多的 H^+ 吸引,因此反应趋向于 ATP 的生成。

在好氧无光照条件下,嗜盐杆菌也能进行氧化磷酸化作用合成 ATP,见图 3^[12]。

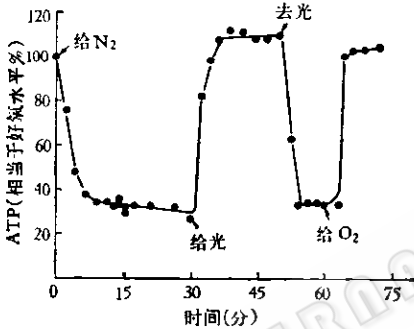


图 3 嗜盐杆菌的光化磷酸化作用与氧化磷酸化作用

二、转运氨基酸

物质通过活细胞膜时,一般需要能量。这种能量通常由 ATP 的分解供给。嗜盐杆菌在转运氨基酸时,所需能量与 ATP 的分解无关,而是直接由光照驱动质子泵形成的电化势能供给^[13-15]。

三、排放 Na^+ 离子

嗜盐杆菌体内的 Na^+ 离子浓度为 0.5—2.0M,较培养基中的 4M 浓度小,而其体内 K^+ 浓度为 4M,则较细胞外 5mM 大得多^[16]。因此设想这类细菌很可能存在排放 Na^+ 获取 K^+ 的机制。

提取嗜盐杆菌含紫膜的细胞膜,人工制成膜囊,在其内外充以 4M NaCl,光照后则发生 Na^+ 的排放和 K^+ 的获取。据推测,其中有 H^+ 梯度和 Na^+ 梯度互换的可能,设想其中可能含有 H^+/Na^+ 抗子 (antipoter),其模式图如图 4^[17] 所示: 菌视紫素利用光能产生质子梯度,形成初级能量转换, H^+ 经过 H^+/Na^+ 抗子再循环。而 Na^+ 又经特殊的氨基酸转运系统循环,增加了氨基酸的积累。当外部 K^+ 浓度低时, Na^+ 随 Cl^- 一起向外排放,膜囊呈现收缩状态。

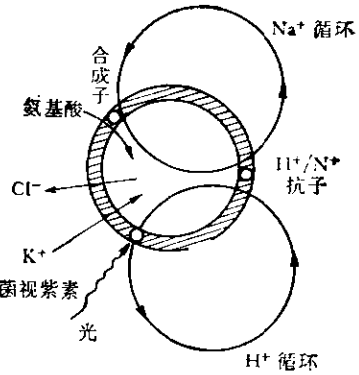


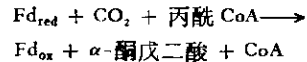
图 4 H^+ 梯度和 Na^+ 梯度互换模式图

用缺菌视紫素及既缺菌视紫素又缺初级 Na^+ 泵的嗜盐杆菌变异株及典型株 R_1 试验证实,嗜盐杆菌中最主要的光能排 Na^+ 作用既与菌视紫素及质子运动力相关连;又被 Na^+/H^+ 抗子所促进^[18]。

四、同化固定 CO_2

一般光合细菌固定 CO_2 是由二磷酸核酮糖羧化酶催化,经磷酸甘油酸反应完成。过程中含有一连串必要 $NADPH_2$ 和 ATP 的反应。也可以经三羧酸循环的逆反应还原固定 CO_2 。这些菌的菌体中含有的还原态铁氧还素 (Fd_{red}) 是通过菌绿素得到能量形成的^[19]。

嗜盐杆菌中具有大量 $Fd^{[20]}$,已观察到下列固定 CO_2 的反应:



它与一般光合细菌一样, Fd 具有还原力。但其利用光能的结构是菌视紫素,而不是菌绿素,这方面的问题有待进一步研究。

关于嗜盐杆菌的质子移动模式图见图 5^[21]。

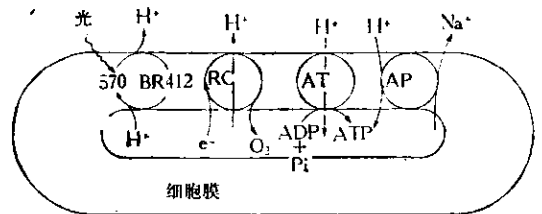


图 5 嗜盐杆菌质子移动模式图

BR: 菌视紫素; RC: 呼吸链; AT: ATP 酶; AP: H^+/Na^+ 抗子

嗜盐杆菌的光化学反应机构比一般光合细菌简单得多,是没有叶绿素参与作用的光合作用。将这种结构取出来,经过加工有可能制成太阳能电池,用于合成 ATP 或淡化海水等。航天飞行中,由于处于无氧高辐射的无机环境,这类细菌的光化学反应可能更易进行。因此,这类细菌的结构及其与能量转换的关系,已列入

宇航研究计划中。

我国有着丰富的嗜盐细菌资源,但有关研究工作尚未开展,应引起我们的重视。

参 考 文 献

- [1] Oesterhel, D. and W. Stoeckenius: *Methods in Enzymology* vol. 31 (ed. by Colowick, S. P. and N. O. Kaplan), Academic Press, New York, 1974, p. 667.
- [2] Oesterhel, D. and W. Stoeckenius: *Nature*, **233**: 149—152, 1971.
- [3] Kushwaha, S. C. and M. Kates: *Biochem. Biophys. Acta*, **316**: 235—243, 1973.
- [4] Blaurock, A. E., and Stoeckenius, W.: *Nature*, **233**: 152—155, 1971.
- [5] Fisher, K. A. and W. Stoeckenius: *Science*, **197**: 72—74, 1977.
- [6] Gottschalk, G.: *Bacterium Metabolism*, Springer-Verlag New York Inc., 1979, pp. 246—249.
- [7] Backer, R. and W. Stoeckenius: *J. Biol. Chem.*, **249**: 662, 1974.
- [8] Lozier, R. H., B. A. Begomolni and W. Stoeckenius: *Biophys. J.*, **15**: 955, 1975.
- [9] Bogomolni, R. A. R. A. Baker, R. H. Lozier et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, **440**: 68, 1976.
- [10] Mielck and D. Oesterhel: *FEBS Letters*, **65**: 175, 1976.
- [11] Bakker, E. P., H. Rottenberg and S. R. Caplan: *Biochim. Biophys. Acta*, **440**: 557, 1976.
- [12] Stoeckenius, W.: *Scientific American*, **234**(6): 38—46, 1976.
- [13] MecDenaa, R. E. and J. K. Danyi: *Biochem.*, **14**: 2882, 1975.
- [14] Hubbard, J. S., C. A. Rinehart and R. A. Baker: *J. Bacteriol.*, **125**: 181, 1976.
- [15] Lanyi, J. K., D. Y. Yearwood and R. E. MacDonald: *Biochem.*, **15**: 1595, 1976.
- [16] Christian, J. H. B. and J. A. Waltho: *Biochim. Biophys. Acta*, **65**: 506, 1962.
- [17] Lanyi, J. K.: *Microbiol. Rev.*, **42**: 682—706, 1978.
- [18] Luisi, B. F., J. K. Lanyi and H. J. Weber: *FEBS Letters*, **117**(1): 334—338, 1980.
- [19] Buchanan, B. B.: Ferredoxin-linked Carboxylation Reaction, *The Enzymes*, Vol. VI (ed. by Boyer, P. D.) Academic Press, 1972, p. 193.
- [20] Kersher, L., D. Oesterhel, R. Cammack et al.: *Eur. J. Biochem.*, **71**: 101, 1976.
- [21] 川崎重彦、外村健三: 発酵と工業, **36**: 118—126, 1978.