

温度诱导紫色光合细菌 *Rps. palustris* 外周捕光天线的解聚及动力学

冯 娟 李雪峰 刘 渊

(电子科技大学生命科学与技术学院, 成都 610054. E-mail: fengjuan@uestc.edu.cn)

摘要 运用稳态吸收光谱、圆二色谱及共振拉曼光谱手段研究了 *Rps. palustris* 的外周捕光天线 LH2 复合物的热稳定性, 发现在升温过程中 B800, B850 细菌叶绿素分子逐渐向游离色素 B780 转化; 细菌叶绿素分子及类胡萝卜素分子可见光区域的圆二色信号逐渐消失; 类胡萝卜素分子的 C=C 及 C—C 的伸缩振动频率均向高波数方向移动. 上述现象表明: 在 B800, B850 及各类胡萝卜素分子共存的情况下, 升高温度能够诱导 LH2 环状聚集体结构被破坏. 通过对动力学衰减曲线进行表观指数拟合, 发现 LH2 复合物中色素的解离过程发生在缓慢的时间尺度(分钟).

关键词 温度诱导 解离 动力学

紫色光合细菌的光合系统由外周捕光天线(LH2)、内周捕光天线(LH1)和反应中心(RC)组成. 无论是外周捕光天线的高分辨X射线衍射(如 2.5 Å 分辨率的 *Rps. acidophila* 的 LH2 结构^[1], 2.4 Å 分辨率的 *Rps. molischianum* 的 LH2 结构^[2])或内周捕光天线的低分辨电子密度投影图(如 8.5 Å 分辨率的 *Rb. rubrum* 的 LH1 投影图^[3])均显示出: (1) 两类捕光天线的基本结构单元是由跨膜的 α , β -脱辅基蛋白、细菌叶绿素、类胡萝卜素分子所形成的杂二聚体, 其中各类色素分子主要通过配位键、氢键与跨膜蛋白中特定的氨基酸残基相互作用获得稳定; (2) 功能性的单元是由这些杂二聚体通过疏水相互作用、盐键、氢键等弱相互作用组装而成的高度有序的环状聚集体. 在环状聚集体中, 各类色素分子保持最优化的取向和构型, 发挥捕光及光保护功能^[4,5]. 大量研究表明, 各种削弱这些稳定作用的因素, 如升高温度或增加去垢剂浓度^[6]、改变 pH 值^[7]、盐浓度^[8]、增大压力^[9,10]等均会导致环状聚集体的结构被破坏, 甚至还会直接影响到 α , β -脱辅基蛋白的二级结构. 如在类胡萝卜素缺失的 *Rhodospirillum rubrum* G9 的 LH1 复合物中, 在膜蛋白的预溶解温度以下, 升高温度能诱导 LH1 环状聚集体解聚成四聚体、二聚体、单体等形式, 在此过程中夹在 α , β -脱辅基蛋白之间的细菌叶绿素(BChl)分子的 Q_y带从 873 nm 分别蓝移至 850, 820, 777 nm, 因此

Q_y带可以作为蛋白聚集状态的内部探针^[11].

与 LH1 复合物不同, 在 LH2 复合物中除了通常分布在 α , β -脱辅基蛋白之间的细菌叶绿素 B850 外, 在外圈的 β -脱辅基蛋白之间还存在另一类细菌叶绿素 B800. 此外, 类胡萝卜素(Crt)分子“斜跨”在 α , β -脱辅基蛋白之间, 与 B800, B850 通过范德华作用力获得稳定. 那么在升温过程中, 这种 B800-850 的结构能否像 LH1 那样解聚呢? 解聚过程的动力学参数如何? 这些问题都尚待解决. 在本文中我们选择了多种类胡萝卜素共存的 *Rps. palustris* 的 LH2 复合物作为研究对象, 通过检测不同温度下 *Rps. palustris* 的 LH2 复合物的稳态吸收光谱、圆二色谱、拉曼光谱, 发现升高温度能够诱导 LH2 复合物发生解离, 此过程发生在分钟时间尺度上.

1 材料和方法

(i) *Rps. palustris* 的 LH2 的分离和纯化. *Rps. palustris* 的 LH2 复合物的分离步骤详见参考文献[12,13].

(ii) 稳态吸收光谱、圆二色谱、共振拉曼光谱. 稳态吸收光谱采用 Hitachi U-3310 紫外-可见分光光度计进行检测, 在变温实验中体系温度通过外接循环水浴控制. 稳态圆二色实验是在 CD6 进行的. 检测可见光区域时样品池的厚度为 1 cm, 远紫外区域采用 1 mm 样品池.

在共振拉曼光谱的实验中,光源为从氩离子激光器输出的488或514.5 nm的单色光,经透镜聚焦到样品上,收集背向散射的拉曼光,再先后经过一个中心带孔的反射镜、凹面镜、透镜聚焦到1200/mm光栅的多色仪上(闪耀波长500 nm).检测系统是由液氮冷却的背照的CCD组成.激光能量控制在10 mW,光谱分辨率为 4 cm^{-1} ,曝光时间为500 ms.光谱数据通过标准物Indene校准.

2 实验结果

2.1 不同温度下 LH2 复合物的稳态吸收光谱

图1(a)给出了不同温度下 *Rps. palustris* 的 LH2 复合物在20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)中的紫外-可见

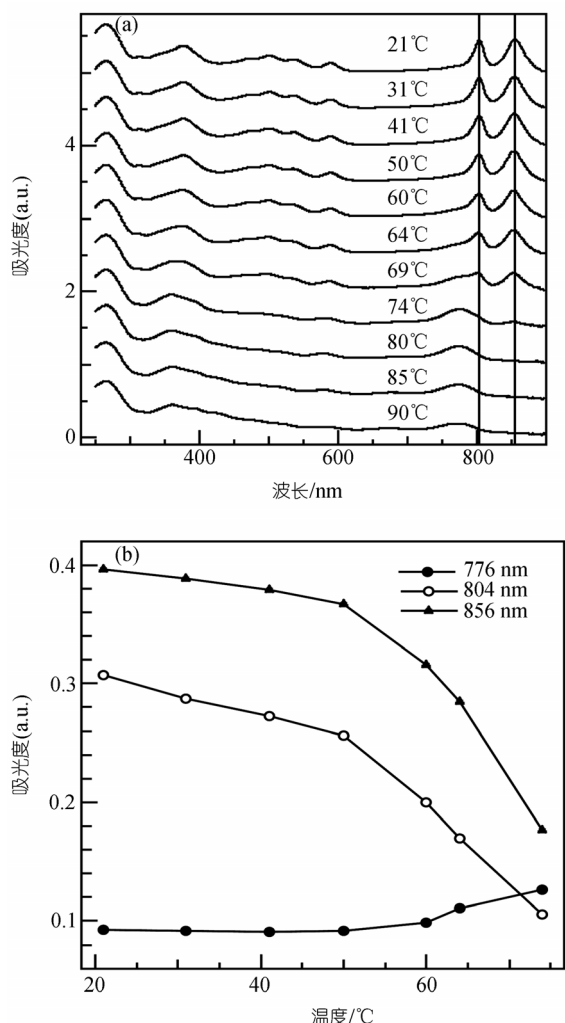


图1 升温过程中 *Rps. palustris* 的 LH2 复合物的紫外-可见及近红外吸收光谱(a)及不同微环境下的细菌叶绿素的 Q_y 带吸光度随温度的变化(b)

及近红外吸收光谱.从图中可知;随着温度升高, B800 及 B850 分子的 Q_y 带均发生了 2~4 nm 的微弱蓝移;在 800, 850 nm 处的吸光度值也随温度升高而显著下降.与此同时,我们在 776 nm 左右观察到一个不明显的肩峰,此吸收峰强度逐渐增加,且增加的趋势与结合色素吸光度降低的趋势基本一致(见图 1(b)).鉴于其位置(776 nm)与游离细菌叶绿素 Q_y 带吸收基本一致^[14],我们推测升温过程中结合色素 B800, B850 不断向游离色素转化.如图 1 所示,类胡萝卜素分子典型的吸收峰位于 538, 502, 472 nm 处,它们分别归属于 S_0 和 S_2 态之间的 $0 \rightarrow 0$, $0 \rightarrow 1$, $0 \rightarrow 2$ 振动能级之间的跃迁.随着温度升高,吸收峰位置没有明显变化;当温度高于 60°C 后,振动精细结构逐渐消失,但仅从此现象并不能准确判断类胡萝卜素分子光谱行为的变化.这一方面是由于在 LH2 复合物中多种类胡萝卜素共存导致 Crt 吸收区域光谱严重重叠;另一方面,随着温度升高,我们观察到吸收光谱的基线在短波方向明显上抬,这也严重干扰了类胡萝卜素的振动精细结构.至于基线漂移的原因,我们推测可能与高温诱导的蛋白变性、析出或游离色素不均匀分散有关.关于类胡萝卜素分子的结构信息尚需借助其他谱学手段,如圆二色谱和共振拉曼光谱.

2.2 不同温度下 LH2 复合物的 CD 谱

如图 2 所示,在升温过程中,可见光区域色素分子的 CD 信号发生了明显变化.(1) 细菌叶绿素 Q_x 带对应的 CD 信号为正值,位置在 590 nm 左右.与细菌叶绿素分子 Soret 带相关的 CD 信号分布在 300~420 nm 范围内,它的显著特征是在 386 nm 呈现正的最大值,而在 314 nm 处出现负的最大值.此外,在主峰 386 nm 的短波方向还观察到两个肩峰,分别位于 370 和 347 nm 左右.以上各 CD 信号的强度均随温度升高而逐渐减弱,此变化趋势与吸收光谱的基本一致.(2) 类胡萝卜素的 CD 信号位于 543, 512, 487, 462 nm 处,它们分别是 $0 \rightarrow 0$, $0 \rightarrow 1$, $0 \rightarrow 2$, $0 \rightarrow 3$ 吸收峰产生的 CD 信号叠加的结果^[15],其相应的符号依次为+, +, -, -.与细菌叶绿素类似, Crt 的 CD 信号在升温过程中强度不断减弱;同时,各峰强度比值也不断变化,如在 27°C 时上述相应最大波长处的 CD 信号强度比为 $1.5:1.0:-0.4:-0.9$;而当温度升至 60°C 时,比值变为 $1.4:1.0:-0.66:-1.3$.上述现象的产生一方面是由于升高温度促使色素所处微环境的介电常数增加,削

弱了色素-蛋白、色素-色素之间的相互作用,从而导致圆二色信号强度减弱^[15];另一方面,由吸收光谱的变化可知:在升温过程中,结合色素不断向游离色素转化,这使得结合色素对应的 CD 信号强度减弱。当色素分子完全从蛋白上脱落下来后,CD 信号几乎完全消失。

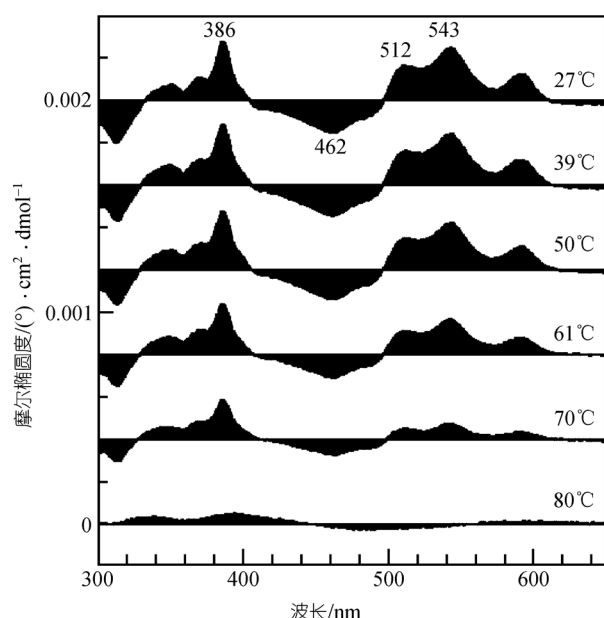


图 2 *Rps. palustris* LH2 复合物在可见光区域内的圆二色谱随温度的变化

至于蛋白二级结构是否发生变化,可以通过检测远紫外区域的 CD 信号来反映。在实验中,我们观察到 220 nm 处存在一个负峰,它来源于 α -螺旋结构。随着温度升高,此峰的强度逐渐减弱,这表明升高温度诱导 α -螺旋含量减少(图未显示)。

2.3 不同温度下 LH2 复合物的共振 Raman 光谱

本文采用氩离子激光器输出的 514, 488 nm 激光脉冲激发类胡萝卜素分子,检测了一系列不同温度下 Crt 的共振拉曼光谱(图 3(a)和(b))。首先,我们比较了室温下的共振 Raman 光谱,发现无论用 514 或 488 nm 的波长激发,在 1503.9, 1145.4 cm^{-1} 左右均能观察到两个较强的拉曼信号,它们分别归属于 C=C 及 C—C 的伸缩振动。在 960.2 cm^{-1} 左右也能清晰观察到 C—H 面外弯曲振动峰,此峰的存在表明在 LH2 复合物中的类胡萝卜素构型处于扭曲状态^[16,17]。不同激发波长下 C—C 与 C=C 的相对强度不同。当激发波长为 488 nm 时,前者的信号明显强于后者;而

当激发波长移至 514 nm 时,却观察到相反的现象。上述强度的差异主要是由于在 *Rps. palustris* 的 LH2 复合物中,不同激发波长选择性地激发了不同种类的胡萝卜素所致。

其次,通过研究不同温度下的共振 Raman 光谱,我们发现:当激发波长为 514 nm 时,随着温度从 22°C 升高至 89.5°C, C=C 和 C—C 的伸缩振动频率分别从 1503.9 和 1145.0 cm^{-1} 移动至 1514.3 和 1151.8 cm^{-1} 。用 488 nm 激发时也观察到了类似现象。随温度的升高, C=C 与 C—C 伸缩振动峰的相对强度比值发生了变化。在 514 nm 激发的情况下,两者的比值从 1.4 下降至 1.0(图 3(c));而当激发波长为 488 nm 时,比值从 0.6 增加至 1.4 左右(图 3(d))。上述两种情况下比值均在 60~70°C 范围内发生突变。如何解释上述现象?根据相关文献可知:顺式异构体比全反式具有更高的振动频率^[18]。此外,随着类胡萝卜素分子中共轭双键数目的减少, ν_1 带也会向高波数方向移动^[16,17]。当然,伴随着温度的升高,类胡萝卜素分子与蛋白上特定氨基酸残基或与细菌叶绿素分子中吡咯环间的相互作用会被削弱,这也可能导致上述变化。在升温过程中, ν_4 区域的 Raman 信号也发生了一些变化。当激发波长为 488 nm 时, 960.2 cm^{-1} 处的信号强度逐渐减弱,这表明类胡萝卜素分子的构型扭曲程度下降,这可能是由于色素从 LH2 复合物中解离下来所致。当激发波长为 514 nm 时, ν_4 区域的振动峰先减弱,后增强。减弱的原因同上,至于信号的增强,可能与类胡萝卜素的热致顺反异构化有关。HPLC 的实验结果也证实了顺式异构体的存在(未显示)。无论类胡萝卜素分子经历解离或顺反异构化过程,其 C=C 及 C—C 的伸缩振动峰会向高波数方向移动,这与 ν_1 , ν_2 区域的变化基本一致。

2.4 在固定温度下 LH2 复合物解聚动力学研究

为了研究 LH2 复合物的解聚动力学,探寻不同环境中的色素分子解聚动力学是否存在差异,我们将温度恒定在 60°C,记录了不同时刻的稳态吸收光谱,并对 300~900 nm 范围内的动力学衰减进行了单指数拟合,获得的表观衰减时间常数及拟合曲线分别列于表 1 和图 4。从表 1 数据可知:在实验误差范围内, B850 与各种类胡萝卜素分子的热稳定性基本一致,其解聚时间常数约为 150~180 min;而 B800 寿命的延长可能与游离色素对 800 nm 处的吸收存在干扰有关。

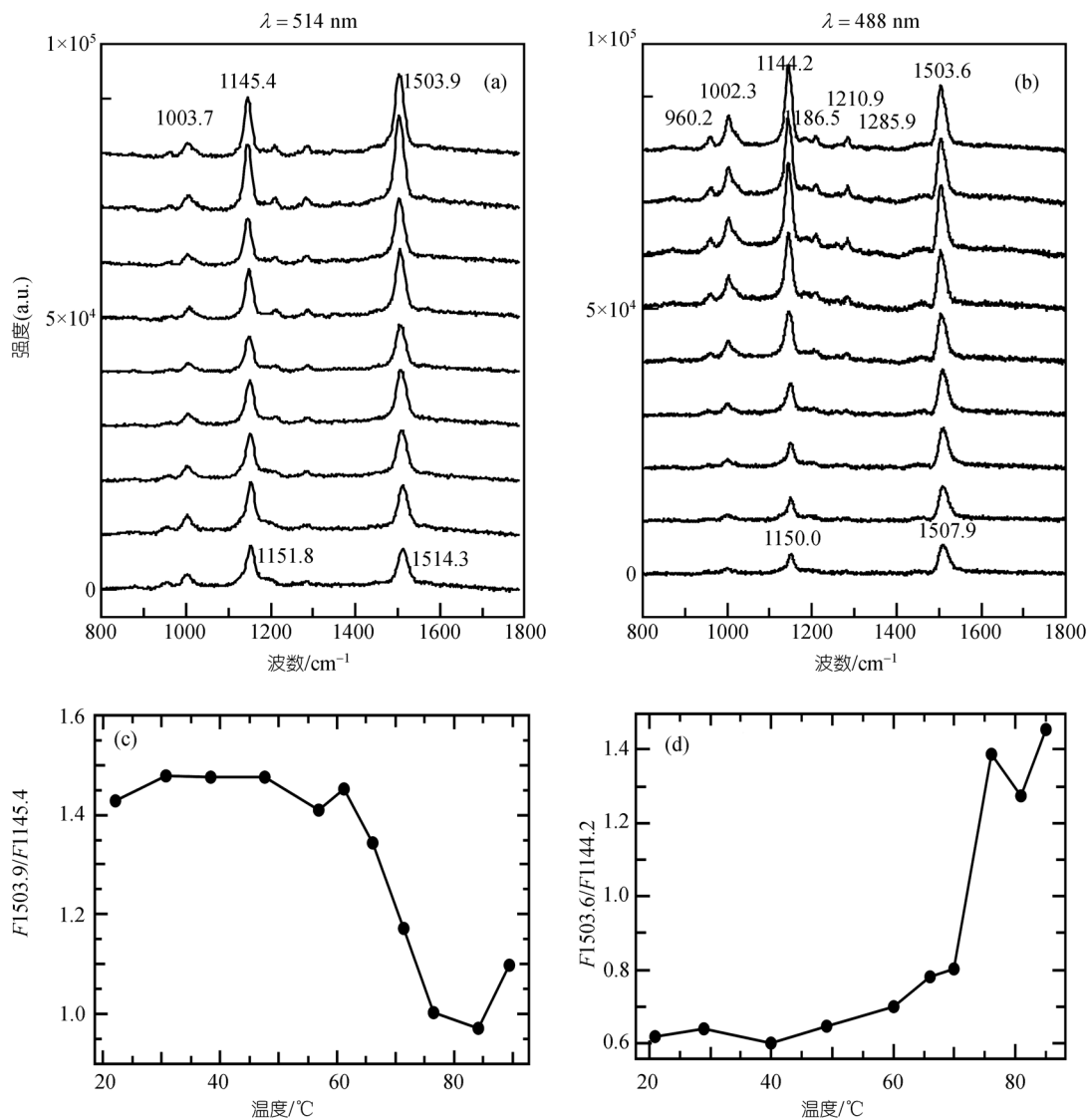


图3 *Rps. palustris* LH2 复合物在不同激发波长、不同温度下的共振拉曼光谱(a, b)及其中 C=C 键与 C—C 伸缩振动强度比值随温度的变化(c, d)

(c)和(d)中激发波长分别为 514 nm 和 488 nm

表1 60°C下 LH2 复合物中色素分子解离反应的时间常数

波长/nm	853	804	772	526	496	468	424
寿命/min	169	214	—	156	184	185	—

3 讨论

通过分析细菌叶绿素在近红外区域 Q_y 带及可见区域圆二色信号的变化, 我们发现: 升高温度能够诱导 LH2 复合物中的 B800 和 B850 不断向游离色素 B780 转化. 伴随着结合色素的解离, 800, 850 nm 两处的吸光度逐渐减小, 相应的可见区域圆二色信号

也逐渐减弱. 同时, 游离色素含量的提高可以通过 780 nm 对应的吸光度逐渐增加来体现. 在可见光区域没有观察到游离色素的圆二色信号, 这是由于色素脱离了蛋白的手性环境所致.

与细菌叶绿素类似, 温度升高也导致类胡萝卜素分子发生了解离. 解离最直接的证据是共振拉曼光谱. 众所周知, 类胡萝卜素分子是非常有效的拉曼散

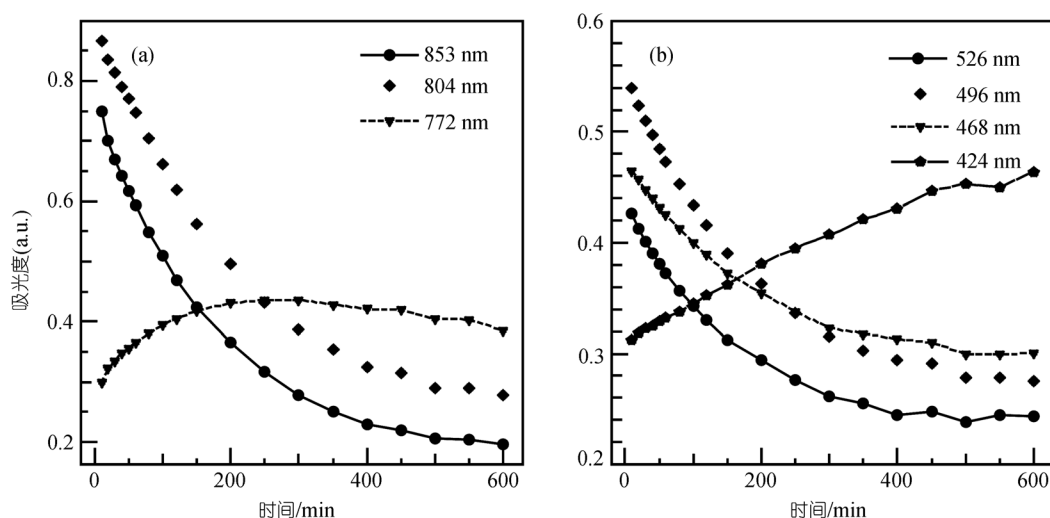


图 4 *Rps. palustris* LH2 复合物在 60°C 下不同检测波长下的吸光度随时间变化的衰减曲线
(a) 对应近红外区域; (b) 对应可见光谱区域

射物质, 呈现出 4 个非常强的共振拉曼信号, 分别是 C=C 伸缩振动(ν_1), C—C 伸缩振动耦合 C—H 弯曲振动(ν_2), 主链 C 与侧链甲基之间的—C—CH₃ 伸缩振动(ν_3), —C—H 面外弯曲振动模式(ν_4). 对于全反式, C—H 面外模式是共振禁阻的, 所以 ν_4 带区域的信号通常很弱; 但当 Crt 结合到天线复合物中时, 伴随着 Crt 分子与跨膜蛋白中的疏水螺旋的紧密结合, 提供了足够的能量促使 Crt 发生构型重排或分子扭曲, ν_4 带变成对称允许的, 所以信号明显增强. 因此 ν_4 带可以作为色素-蛋白相互作用及环境干扰的一个标记. 通过共振拉曼光谱的研究发现: 当激发波长为 488 nm 时, 在 960.2 cm⁻¹ 处观察到显著的 ν_4 带吸收峰, 随着温度升高, 此峰强度逐渐减弱, 暗示出原来结合到色素-蛋白复合物中的类胡萝卜素分子发生了解离; 而当激发波长为 514 nm 时, 在升温过程中 ν_4 带强度先减小, 后增大, 减小的原因同上, 即处于结合状态的类胡萝卜素分子从蛋白上脱落下来, 构型扭曲程度下降; 而随后的增大可能是由于分散在缓冲体系中的反式类胡萝卜素分子发生了热致异构化所致. 伴随着类胡萝卜素的解离, 结合色素对应的圆二色信号逐渐减弱, 这与图 2 中的实验结果相符. 虽然从圆二色谱上观察不到游离色素的信号(色素脱离了蛋白手性环境), 但理论上应该能够通过吸收光谱检测到游离色素的吸收. 然而鉴于以下三方面的原因: (1) 多种类胡萝卜素共存干扰了游离色素的吸收; (2) 游

离色素的吸收区域部分被细菌叶绿素 Soret 带的强吸收所掩盖; (3) 随着温度升高, 短波方向的散射严重干扰了游离的类胡萝卜素的吸收, 我们仅能从吸收光谱上获得非常有限的信息.

通过上述色素分子光谱行为的变化, 我们推断在类胡萝卜素分子, B800 及 B850 细菌叶绿素分子共存的情况下, 升高温度诱导 LH2 的环状聚集体发生了解聚. 此现象与 *Rhodospirillum rubrum* G9 的 LH1 复合物的解聚过程类似, 但两个体系也存在一些差异, 概括如下:

(1) 解聚过程中关于中间体的研究对于揭示反应机理非常重要. 通过吸收光谱、电泳、拉曼等手段的研究发现: 在类胡萝卜素缺失的 *Rhodospirillum rubrum* G9 的 LH1 复合物中, 环状聚集体(B875)的解聚经历了四聚体(B850)、二聚体(B820)、单体(B777)等形式^[11]; 而在本实验中我们首先在近红外区域观察到当温度低于 64°C 时, 升温过程中存在一个等吸收点, 这表明体系在变化过程中仅涉及两个组分. 假设此两个组分为 B800 和 B780, 它们之间存在热力学平衡 $B800 \rightleftharpoons B780$. 经过相关推导可知: 若以 $1/T$ 对 $\ln(A_{780}/A_{800})$ 作图, 应得到一条直线, 其斜率为 $-\Delta H/R$. 拟合结果与预期相符(图 5(a)), 由此计算出 ΔH 约为 4390 J/mol. 至于 B850 转变成游离色素的过程 ($B800 \rightleftharpoons 2B780$), 根据相似推导可知: 若以 $1/T$ 对 $\ln(A_{780}^2/A_{850})$ 作图, 应得到一条直线, 其斜率为 $-\Delta H/R$,

而拟合结果并非直线(图 5(b)). 由此可以初步推测 B850 的解聚过程较复杂, 可能出现了中间体.

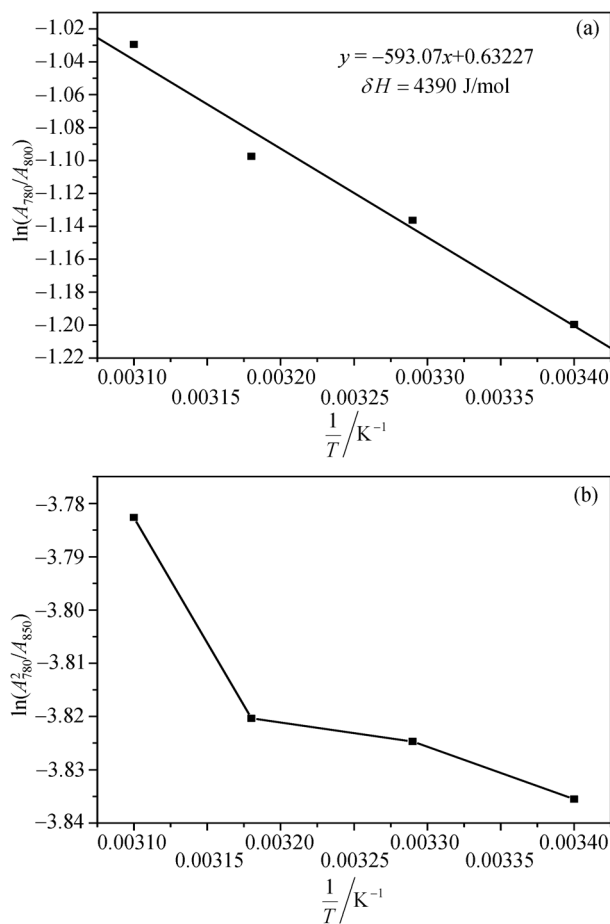


图 5 $\ln(A_{780}/A_{800})$ 及 $\ln(A_{780}^2/A_{850})$ 随 $1/T$ 的变化规律

(2) 通过温度阶跃的实验, Grondelle等人检测到 *Rhodospirillum rubrum* G9 的 LH1 复合物在 0.7% OG 存在下, 从 B873→B820 的解聚过程发生在毫秒尺度, 而 B820→B777 的转化发生在 500 μs 的时间尺度上^[19], 而目前我们通过跟踪吸收光谱的变化, 检测到 LH2 的解聚过程发生在分钟的时间尺度上. 上述动力学的差异与诸多因素有关, 但从本质上来讲化学反应的速率取决于活化能, 而活化能的高低与反应物的结构密切相关. 在 *Rhodospirillum rubrum* G9 的 LH1 复合物中, 只含有一种细菌叶绿素 B875, 不含类胡萝卜素, 细菌叶绿素分子主要依靠相互之间的耦合及与蛋白上特定氨基酸残基之间的氢键或配位键获得稳定, 而在 LH2 复合物中 B800, B850 及 Crt 之间,

以及色素与蛋白之间均存在相互作用. 显然在后一种情况下, LH2 复合物需要从环境吸收更多的能量来破坏上述弱相互作用, 即需要克服更高的能垒, 所以反应速率更慢.

(3) 通过拉曼光谱、ATR-FTIR 等研究发现在 LH1 解聚过程中跨膜蛋白的二级结构未发生显著变化^[20]. 而在 LH2 复合物中, 根据 220 nm 对应的圆二色信号的减弱, 我们初步推测蛋白的二级结构遭到了破坏, 由此导致整个环状聚集体发生解聚. 此外, 升高温度也可能诱导了去垢剂的相转化, 从而导致原来包围在去垢剂中的色素-蛋白复合物析出、变性. 详细的机理尚有待于进一步研究.

4 结论

本文通过研究 *Rps. palustris* 的 LH2 复合物在不同温度下的吸收光谱, CD 和 Raman 光谱, 发现在多种类胡萝卜素分子, B800, B850 共存的情况下, 升高温度能够诱导 LH2 复合物的环状结构发生解聚反应. 在此过程中某些类胡萝卜素分子发生了热致异构化反应. 动力学研究表明: 解聚过程发生在缓慢的分钟时间尺度. 至于更快时间尺度上发生的解聚过程, 需要借助温度阶跃等实验手段研究.

致谢 感谢中国科学院化学研究所张建平、艾希成研究员提供光谱方面的测试及指导, 感谢王雪飞博士、张友昕同学给予的帮助, 感谢中国科学院生物物理研究所黄有国、张旭家研究员在制备样品方面提供的大力协助.

参 考 文 献

- Papiz M Z, Prince S M, Howard R J, et al. The structure and thermal motion of the B800-850 LH2 complex from *Rps. acidophila* at 2.0 Å resolution and 100K: New structural features and functionally relevant motions. *J Mol Biol*, 2003, 326(5): 1523—1538^[DOI]
- Koepke J, Hu X C, Muenke C, et al. The crystal structure of the light-harvesting complex II (B800-850) from *Rhodospirillum rubrum*. *Structure*, 1996, 4(5): 581—597^[DOI]
- Karrasch S, Bullough P, Ghosh R. The 8.5 Å projection map of the light-harvesting complex I from *Rhodospirillum rubrum* reveals a ring composed of 16 subunits. *EMBO*, 1995, 14(4): 631—638
- van Grondelle R, Novoderezhkin V. Dynamics of excitation energy transfer in the LH1 and LH2 light-harvesting complexes of photosynthetic bacteria. *Biochemistry*, 2001, 40(50): 15057—15068^[DOI]
- Frank H A, Cogdell R J. The photochemistry and function of Carotenoids in photosynthesis. In: Young A, Britton G, eds. *Carotenoids*

- in Photosynthesis. London: Chapman and Hall, 1993. 252—321
- 6 Miller J F, Hinchigeri S B, Parkes-Loach P S, et al. Isolation and characterization of a subunit form of the light-harvesting complex of *Rhodospirillum rubrum*. *Biochemistry*, 1987, 26(16): 5055—5062[DOI]
- 7 Buche A, Ramirez J M, Picorel R. Effects of acid pH and urea on the spectral properties of the LHII antenna complex from the photosynthetic bacterium *Ectothiorhodospira* sp. *Eur J Biochem*, 2000, 267(11): 3235—3243[DOI]
- 8 Ortiz de Z, Picorel R. Spectral changes of the B800-850 antenna complex from *Ectothiorhodospira* sp. induced by detergent and salt treatment. *Photosynth Res*, 1994, 41(1): 339—347 [DOI]
- 9 Sturgis J N, Gall A, Ellervee A, et al. The effect of pressure on the bacteriochlorophyll a binding sites of the core antenna complex from *Rhodospirillum rubrum*. *Biochemistry*, 1998, 37(42): 14875—14880[DOI]
- 10 Gall A, Ellervee A, Sturgis J N, et al. Membrane protein stability: High pressure effects on the structure and chromophore-binding properties of the light-harvesting complex LH. *Biochemistry*, 2003, 42(44): 13019—13026[DOI]
- 11 Pandit A, Visschers R W, van Stokkum I M, et al. Oligomerization of light-harvesting I antenna peptides of *Rhodospirillum rubrum*. *Biochemistry*, 2001, 40(43): 12913—12924[DOI]
- 12 Feng Juan, Wang Qian, Zhang Xujia, et al. Triplet Excitation Transfer between carotenoids in the LH2 Complex from Photosynthetic Bacterium *Rhodopseudomonas palustris*. *Photosynthetic Res*, 2004, 82(1): 83—94[DOI]
- 13 冯娟, 王千, 张旭加, 等. 光合细菌 *Rhodopseudomonas palustris* 捕光天线 LH2 中类胡萝卜素分子间三重态能量传递的光谱学证据. *中国科学 B 辑: 化学*, 2003, 33(5): 385—396
- 14 Gall A, Fowler G J, Hunter C N, et al. Influence of the protein binding site on the absorption properties of the monomeric bacteriochlorophyll in *Rhodobacter sphaeroides* LH2 complex. *Biochemistry*, 1997, 36(51): 16282—16287[DOI]
- 15 Georgakopoulou S, van Grondelle R, van der Zwan G. Circular Dichroism of carotenoids in bacterial light-harvesting complexes: experiments and modeling. *Biophysical J*, 2004, 87(5): 3010—3022[DOI]
- 16 Koyama Y. Resonance Raman spectroscopy. In: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H, eds. *Carotenoids*. Basel, Boston, and Berlin: Birkhauser, 1995. 135—146
- 17 Robert B. Resonance Raman studies in photosynthesis chlorophyll and carotenoid molecules. In: Amez A, Hoff A, eds. *Biophysical Techniques in Photosynthesis*. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 1996. 161—276
- 18 Koyama Y, Takii T, Saiki K, et al. Configuration of the carotenoids in the reaction centers of photosynthetic bacteria. 2. Comparison of the resonance Raman lines of the reaction centers with those of the 14 different cis-trans isomers of β -carotene. *Photobiochem Photobiophys*, 1983, 5: 139—150
- 19 Pandit A, Ma H, van Stokkum H M, et al. Time-resolved dissociation of the light-harvesting I complex of *Rhodospirillum rubrum*, studied by infrared laser temperature jump. *Biochemistry*, 2002, 41(51): 15115—15120[DOI]
- 20 Sturgis J N, Robert B. Thermodynamics of membrane polypeptide oligomerization in light-harvesting complexes and associated structural changes. *J Mol Biol*, 1994, 238(3): 445—454[DOI]