

- [7] Illicker, B. et al.: *J. Immunol.*, **108**, 1726, 1972.
 [8] Lafer, E. M. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **78**, 3546, 1981.
 [9] Rosenkranz, H. S. et al.: *Science*, **145**, 282, 1964.
 [10] Souleil, C. and Panijel, J.: *Biochemistry*, **7**, 7, 1968.
 [11] Tan, E. M. and Lerner, R. A.: *J. Mol. Biol.*, **68**, 107, 1972.
 [12] Stollar, V. and Stollar, B. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **65**, 993, 1970.
 [13] Derrick, K. S.: *Science*, **199**, 538, 1978.
 [14] Britten, R. T. and Davidson, E. H.: *Science*, **165**, 349, 1969.
 [15] 徐世正等:《中国医学科学院学报》, **3**, 6, 1981。
 [16] Field, A. K. et al.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **139**, 1113, 1972.
 [17] Butlin, F. M. and Cunningham, P. G.: *Eur. J. Immunol.* **6**, 607, 1976.

[本文于 1984 年 9 月 8 日收到]

视 网 膜 的 神 经 递 质

杨 雄 里

(中国科学院上海生理研究所)

引 言

近二十年来,随着细胞内记录和染色技术的发展,对视网膜神经元及其回路的研究已经取得了显著的进展,视网膜中信息传递的概貌已渐有端倪(参见文献[1,2])。视觉信息在各类神经元之间的传递和处理主要是通过化学突触进行的*。视网膜各种神经元的递质是什么?它们各具什么生理特性和作用?这是视觉科学家面临的重要问题。从 70 年代后期起,视网膜神经递质的研究开始形成视觉研究的生长点,并逐渐成为这一研究领域的前沿。本文将概述这方面近年的新进展。

研究技术的发展

在视网膜递质研究中一个重要的进步是单个分离神经元技术的发展^[3,4]。十多年来,在递质对突触后神经元的生理和生化效应的研究方面多采用分离的整片视网膜。这些工作有严重的缺陷。首先,难以确定所观察的效应是属于那些特定的细胞或细胞类型的;即使某一效应得以定位,但所观察到的反应可以为周围神经元或神经胶质细胞的活动所变化或掩蔽。其次,在这样的实验中,当施加递质时所提供的浓度可能并不反映药物到达靶细胞的量。为了克服这些困难,人们用酶学方法把视网膜神经元解

离,然后按细胞类型集群,加以培养。这种分离的单个细胞既可用于生化研究,也可用于电生理和药理的研究,对于递质的研究起了重要的推动作用。

另一个重要的技术进步是发展了一些新方法使细胞的功能和形态的研究更紧密地相关起来^[5]。例如用 Falck-Hillarp 组织荧光法、放射自显术和免疫组织化学方法已经能在光镜下鉴别视网膜中的多巴胺能神经元(见后)。进而,用 5,6-双羟色胺标记多巴胺神经元和 5-羟色胺神经元使不同型细胞间突触的超微结构的观察成为可能,这些结构既可用以区别神经元的类型,又能揭示突触传递的方向。这样,与关于视网膜神经元的丰富的形态学资料相结合,就使递质的研究与视网膜神经元回路的研究融为一体。

视网膜神经元的递质

1. 光感受细胞

关于光感受细胞的递质意见比较一致,可能是天冬氨酸(Asp)或谷氨酸(Glu)^[6]。其证据可列举如下: 1. 许多种动物的光感受细胞对这两种氨基酸有较高的亲合摄取能力,并保持较高的浓度。2. 它们将使水平细胞强烈地去极化。3. 若在 (³H)-D-Asp 中培养兔或豚鼠的

* 视网膜中也存在着间隙接头(gap junction),它们在信息处理中的作用还不十分清楚,本文不作讨论。

离体视网膜,则锥细胞表现出强烈的放射性。⁴。免疫组化方法表明在豚鼠锥细胞中存在 Asp 转氨酶。⁵。海人酸能毁损兔的接收锥细胞输入的水平细胞,通常认为这种氨基酸毁损神经元的机制是过量刺激 Glu 或 Asp 受体。⁶。在光刺激时大鼠和兔视网膜的内源性 Asp 的释放下降。

不同种动物的同一类光感受细胞并不一定包含同样的递质^[6]。在兔和豚鼠 Glu 和 Asp 可能是锥细胞的递质,但在人, (³H)-D-Asp 聚集在杆细胞中而不是锥细胞中,与此相一致,已有报道在灵长类 (³H)-L-Glu 标记的是杆细胞。而在金鱼,杆细胞聚集 (³H)-L-Glu,锥细胞则聚集 (³H)-L-Asp。看来,在某些动物的视网膜中可能存在着不同的系统,分别转运 Glu 和 Asp。

已有工作提示,在某些冷血动物乙酰胆碱可能参与光感受细胞的信息传递,但结果似乎不一致。

2. 水平细胞

在硬骨鱼类(如金鱼和鲶鱼)L型外水平细胞积聚 (³H)-GABA,也包含 GABA 合成酶。电生理资料也提示 GABA 可能参与水平细胞对锥细胞的反馈。因此,GABA 可能是水平细胞的递质^[7,8]。在蛙、鸡和鸽子也有类似的报道^[6]。C型水平细胞的递质还不清楚。至于哺乳动物水平细胞的递质目前尚一无所知。

3. 双极细胞

对双极细胞的递质只有十分零星的资料^[6]。鸡的某些双极细胞积聚 (³H)-胆碱,提示它们可能是胆碱能的。在外网状层,虽然有双极细胞的树突,但却没有放射性的聚集。而在鸽的双极细胞却并未发现胆碱酯酶的存在,解决这一矛盾将有待于今后的工作。

甘氨酸 (Gly) 也可能是双极细胞递质的候补者^[9]。在猫视网膜,有工作表明,某些双极细胞体积聚 (³H)-Gly,这些细胞与无长突细胞或神经节细胞形成抑制性突触。虽然这种摄取机制是甘氨酸能神经元所特有的,但有待证明的是,Gly 是否具有生理活性,那种抑制性突触是否确实存在。

4. 网间细胞 (interplexiform cell)

网间细胞是近年来新发现的一类细胞,它在内网状层从无长突细胞接受输入,又在外网状层与水平细胞和双极细胞形成突触,为视觉信息的传递提供了一条离心调制的通路(参见[10])。在硬骨鱼和猴,它多以多巴胺(DA)为递质。在研究了DA对网膜神经元反应特性的影响后,一个为人们所普遍接受的观点是,网间细胞释放的DA压抑外网状层神经回路中以L型水平细胞为中介的侧向抑制效应,以及对光感受细胞的反馈。同时,它又提高双极细胞感受野中心的反应性。在其它动物,网间细胞的递质可能是GABA或Gly。

5. 无长突细胞

从目前的研究现状来看,无长突细胞的递质系统可能是所有视网膜神经元中最复杂的,不仅在不同种动物之间颇多差异,即使是同一视网膜也可能有许多不同的种类。其中研究得较为详尽的有DA,GABA,5-HT等^[6,11,12]。

DA DA作为视网膜中递质的候补者近年来受到广泛的研究,它在视网膜中合成并存在于突触前,因光刺激或钾诱发的去极化而释放,而且也存在相应的DA受体,因此是视网膜中公认的递质之一^[6]。除上述金鱼等的网间细胞外,在哺乳动物,用荧光组化技术等已证明有一小群(约0.5%)无长突细胞是多巴胺能的。它们一般不直接与双极细胞相接触,而总是与其它无长突细胞发生联系,形成了一群无长突细胞间神经元(interamacrine neuron)。对其生理作用所知不多,可能是对神经节细胞的发放施加某种抑制作用。

GABA GABA在无长突细胞附近浓度最高,应用不同种标记物(如(³H)-GABA等)已经在许多动物标记了GABA神经元。例如在金鱼标记到的是一种大的梨形无长突细胞,这些细胞对于内网状层b亚层的双极细胞可能是突触后的,转而又反馈至同样的双极细胞。这种模式有一定的普遍性。

5-HT 在所有哺乳动物,用5,6-双羟色胺所标记的5-HT神经元都主要与双极细胞发生

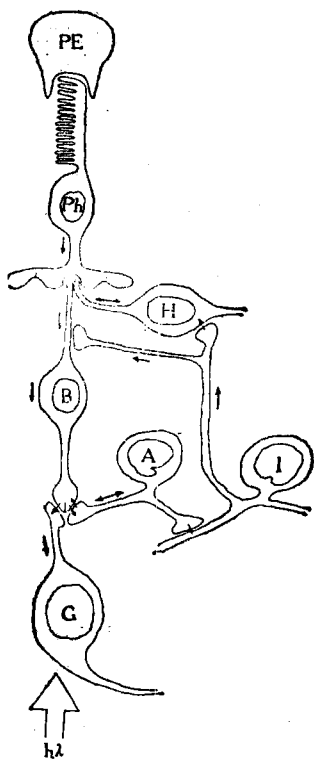


图1 视网膜神经元的主要类型及其递质

光 ($h\lambda$) 贯穿整个视网膜后为光感受细胞 (Ph) 所吸收, 并转变为神经信号。这一信号经双极细胞 (B) 传递至神经节细胞 (G), 在第一突触层 (外网状层) 和第二突触层 (内网状层) 分别为水平细胞 (H) 和无长突细胞 (A) 所调制。此外, 网间细胞 (I) 将信息由内网状层反馈至外网状层。PE: 色素上皮。箭头表示信息传递的方向。注意细胞间的交互联系和信息的反馈。各种细胞可能的递质列于下:

Ph: Asp, Glu H: GABA (金鱼等)
B: AcCH I: DA (硬骨鱼、猴), GABA?
Gly? A: DA, 脑啡肽? Gly, P 物质?
GABA, VIP? 5-HT, LHRH? AcCH,
TRH? G: Glu? AcCH?

交互联系, 它们也和其它无长突细胞接触, 但它们的形态特征和分布均与多巴胺能细胞不同。这些细胞胞体较小, 呈梨形, 所处位置通常更朝外, 其数量约为多巴胺能细胞的 10—20 倍。而在鲤属鱼, 它们却主要形成无长突细胞间联系, 很象哺乳动物中的多巴胺能神经元。

此外, 乙酰胆碱 (AcCH)、Gly 都可能是某些无长突细胞的递质。最近, 免疫组化的研究表明^[13], 某些特殊种类无长突细胞包含神经多肽 (脑啡肽、生长激素、P 物质等), 这些细胞总是位于内核层的最内一列, 纤细的突起在

内网状层的几个亚层中分支, 它们可能参与神经节细胞复杂的反应类型的形成。

6. 神经节细胞

一部分神经节细胞可能以 Glu 或 Asp 为递质^[6]。它们积聚 (^3H)-D-Asp。此外, 电刺激视神经引起视顶盖内源性 Glu 和 Asp 释放量的增加, 而摘除眼睛引起顶盖对 Glu 亲和力的降低。

视网膜神经递质的概貌归纳如图1。图中不仅表示了主要的神经元类型及其可能的递质, 也指出了细胞间信息传递的方向。

结 语

视网膜细胞类型较少, 分层清楚, 通常被看作是中枢神经系统的一个简化的模型。但当我们巡视关于其细胞递质的研究时, 呈现的是一幅惊人的复杂图景。尽管我们对其中主要的神经元 (如双极细胞) 的递质仍然所知甚少, 但可以列举的递质的候补者已经达到了十几种。这个数字还在逐渐增加, 如果其它型细胞的递质也象无长突细胞那样多种多样的话, 视网膜中递质的总数就可能达到几十种。这种多样化的生理意义还不十分清楚, 考虑到视觉系统实际上是由许多执行不同功能的亚系统所组成, 如果每种递质有可能分别承担某种特殊的传递功能, 则对于减小或消除不同通路中的互相干扰似乎是有利的。目前, 在这一领域中视网膜研究工作面临着两类问题, 一是继续探索新的递质的候补者, 特别是几种人们现在仍感茫然无知的细胞类型的递质; 二是在已有的递质中确定哪些具有更重要的功能意义, 从而专注于对它们的研究, 这将需要若干学科 (生化、生理、生物物理、心理物理) 的协同研究和持久的努力。

参 考 文 献

- [1] 杨雄里: 《科学通报》, 22, 326, 1977.
- [2] 杨雄里: 《生理学报》, 36, 1, 1984.
- [3] Lam, D. M. K. et al.: *Vision Res.*, 23, 433, 1983.
- [4] Dowling, J. E. et al.: *Vision Res.*, 23, 441, 1983.
- [5] Ehinger, B.: In *Prog. Retina Res.*, Pergamon Press,

Oxford, 1983.

- [6] Ehinger, B.: *Retina*, 2, 305, 1983.
[7] Lam, D. M. K. et al.: *Exp. Eye Res.*, 31, 729, 1980.
[8] Lam, D. M. K. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 75, 6310, 1978.
[9] Pourcho, R. G.: *Brain Res.*, 198, 333, 1980.
[10] 杨雄里:《生理科学进展》, 16, 79, 1985.

- [11] Ehinger, B.: *Vision Res.*, 23, 1281, 1983.
[12] Osborne, N. N.: In *Biology of Serotonergic Transmission* (Ed. Osborne, N. N.), Wiley, New York, 1982.
[13] Karten, H. J. et al.: In *Neurotransmitter Interaction and Compartmentation* (Ed. Bradford, H. F.), Plenum Press, New York, 719, 1983.

[本文于 1984 年 8 月 7 日收到]

蛋白质和核酸动力学的计算机模拟

施蕴渝 贡汝槐 王存新

(中国科学技术大学理论分子生物物理研究组, 合肥)

近几年, 核酸和蛋白质内部的动力学已成为广泛引起人们兴趣的课题。为了说明生物大分子结构和功能的关系, 不仅需要了解原子的平均位置, 而且也需要知道原子位移随时间的涨落。大量实验表明生物大分子结构不仅有刚性而且存在柔性, 而且这种柔性 with 生物大分子作用机制有密切关系。最近 X 射线晶体衍射关于蛋白质温度因子的研究, 在各向同性和谐振的假设下, 已能估计出这种涨落的数值^[1], 核磁共振, 荧光去偏振, 激光拉曼光谱等实验也说明了生物大分子柔性的存在^[2-4]。

在大量实验工作的基础上, 这方面的理论工作也有了很快的发展。分子动力学模拟曾成功地应用于含有大量原子的气体和液体, 从中可以得到系统热力学的信息。第一个将分子动力学模拟用于蛋白质的是 M. Karplus^[5], 他们对包含 48 个氨基酸残基的小蛋白质牛胰蛋白酶抑制剂进行了真空环境下的分子动力学研究。随后, 肌红蛋白, 细胞色素 c, 铁硫蛋白, DNA, tRNA 等一系列生物大分子在真空环境下的分子动力学模拟工作也完成了。最近 Van Gunsteren 等人^[6]考虑了溶剂和晶体环境, 对上述工作作了改进, 使理论计算值和实验值取得了比较好的一致性。现在分子动力学模拟已成为研究生物大分子动力学的一个重要方面。1981 年 5 月欧洲分子生物学组织^[7]与 1982 年 8 月国际理论物理中心举办的暑期讨论班^[8]都对上

述内容作了专题介绍。还举行过多次国际会议^[9,10], 并有专题评论。

本文是根据文献及近年来我们自己工作的体会, 对生物大分子动力学计算机模拟的基本原理和方法, 目前取得的主要成果及存在的问题, 作一介绍。

一、原理和方法

分子动力学方法是一种重要的统计力学方法。在准各态历经假设下, 任何力学量对系综的平均等于该力学量对时间的平均, 而力学量对时间的平均可以从经典运动方程所决定的原子运动轨迹得到。具体来说, 该方法是:

在一定的初始条件 $\{\mathbf{r}_i(0)\}$, $\{\mathbf{v}_i(0)\}$ 下解蛋白质中所有原子的运动方程组

$$\frac{d^2\mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_i(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_n)/m_i \\ i = 1, 2, \dots, n$$

其中 $\mathbf{r}_i$ 是第 i 个原子的位置矢量, m_i 是第 i 个原子的质量, $\mathbf{F}_i$ 是第 i 个原子所受到的作用力, 由位能函数 V 导出

$$\mathbf{F}_i(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_n) = -\nabla_i V(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_n) \\ i = 1, 2, \dots, n$$

分子的能量照理应用量子力学的方法来计算, 但是由于生物大分子是一个大而复杂的系统, 原子数很多。国际量子生物协会主席 Clementi 估计^[12]: 量子力学计算的上限是 150—