

研究报告

细菌视紫红质对调制光的响应特性*

姚保利 徐大纶 侯 洵

(中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学技术国家重点实验室, 西安 710068)

胡坤生 王敖金

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 细菌视紫红质在结构上与视紫红质的相似性使其具有某些视觉响应特性. 用电泳法在不锈钢电极上沉积出定向紫膜薄膜, 构成不锈钢/紫膜/凝胶/铜电极结构的光接收器. 在调制光作用下, 光接收器显示出对光强变化的微分响应特性. 测量了光电电压随调制频率和入射光功率的变化关系. 比较和讨论了细菌视紫红质对调制光响应特性与视觉频闪及明暗感的相关性.

关键词 细菌视紫红质, 紫膜, 光接收器

细菌视紫红质 (bacteriorhodopsin) 是嗜盐菌细胞膜中分化功能单元——紫膜 (purple membrane) 中唯一存在的一种蛋白质分子. 它具有光致色变和光驱动质子泵功能, 可将捕集的光能存储并转化为电化学能和电能. 由于它在结构上与视网膜上的感光物质——视紫红质 (rhodopsin) 都含有相同的生色团——视黄醛, 在光刺激下都经历视黄醛快速反-顺异构化及光循环过程, 因而二者的光电响应过程有相似之处. 利用细菌视紫红质薄膜像元阵列探测图象^[1], 模拟感受野^[2]的实验已有报道, 显示出这种分子独特的光电响应特性. 但对其在调制光作用下的光电响应行为未见报道. 本文用电泳法在不锈钢电极上沉积出定向紫膜薄膜, 构成不锈钢/紫膜/凝胶/铜电极结构的光接收器. 对其在调制光作用下的频率特性和光强特性进行了实验研究. 讨论了细菌视紫红质对调制光响应特性与视觉现象的某些联系.

1 材料和方法

嗜盐菌 R₁M₁ 的培养和紫膜水悬浮液的制备按常规方法进行^[3]. 由于紫膜碎片本身电

荷分布的不均匀使其具有永久性电偶极矩. 用电泳法将其定向沉积到不锈钢电极上, 用 10 mmol/L KCl 溶液中浸泡的琼脂糖胶作为缓冲层 (约 1 mm 厚), 与另一端环形铜电极组成不锈钢/紫膜/琼脂糖胶/铜结构的光接收器, 如图 1 所示. 300 W 卤钨灯经聚光器、透镜组

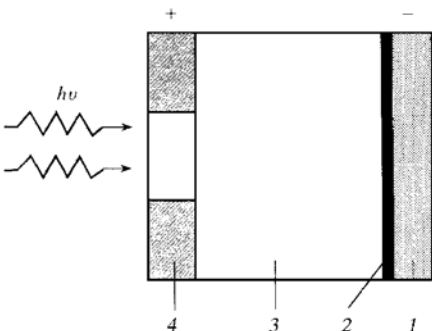


图 1 紫膜光接收器结构示意图

1: 不锈钢电极; 2: 紫膜; 3: 琼脂糖胶;
4: 铜电极.

* 瞬态光学技术国家重点实验室及中国科学院基础性研究九五预研基金资助项目 (YAK9409 与 BJ-10).

收稿日期: 1996-07-18, 修回日期: 1996-12-03

汇聚和 ND-4 型可变频双参考斩光器 (南京大学研制) 的调制, 照射到光接收器的光敏面 ($\Phi 3\text{ mm}$). 器件响应信号直接耦合入 HP54505B 数字示波器 (Hewlett Packard 公司生产) 或 M5210 锁相放大器 (EG&G Princeton Applied Research Corporation 生产) 进行测量. 通过 IEEE-488GP-IB 接口卡, 实现了示波器与 PC486 微机的通讯. 用我们编制的软件可控制示波器采集信号, 处理数据, 存储曲线, 绘图打印等工作. 光功率测量使用的是 Spectra-Physics 公司生产的 M407A 光功率计.

2 实验结果

2.1 紫膜光接收器对调制光的响应信号

在调制光照射下, 紫膜光接收器对光强变化产生微分响应信号, 图 2 所示为入射光功率 200 mW 时测得的微分响应信号波形. 正脉冲上升沿对应调制光从 0 到 200 mW 跳变; 负脉冲下降沿对应光强从 200 mW 跳回到 0; 零输出时对应光强无变化. 图 2 中脉冲 1 和 2 的单

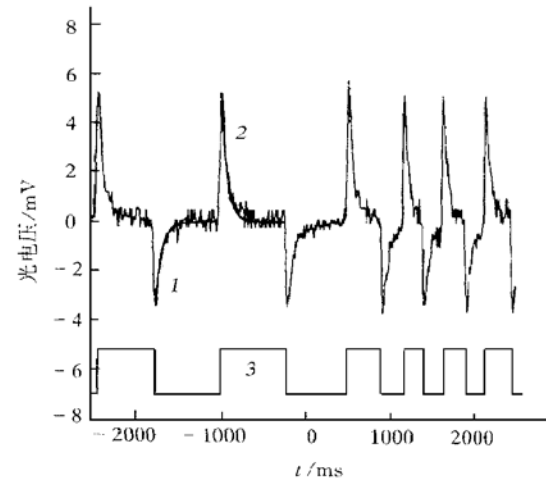


图 2 紫膜光接收器对调制光的响应信号
1: 负微分脉冲的单指数拟合曲线; 2: 正微分脉冲的单指数拟合曲线; 3: 调制光信号.

指数衰减拟合表明, 微分响应的弛豫时间常数约为 70 ms. 当调制频率提高时, 正负脉冲逐渐熔合, 当调制频率大于 3 Hz 时, 正负脉冲

不过零而直接跳变. 图 3 给出了三个在不同斩光频率下测得的响应信号波形. 可以看到, 正负间隔脉冲信号已变成连续变化的正负周期信号, 而且随着频率的升高, 信号幅度逐渐减小.

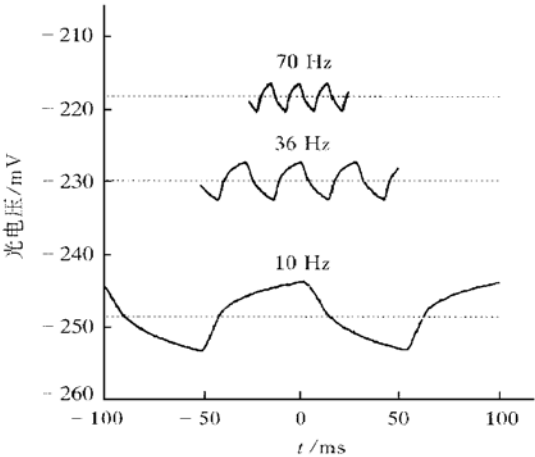


图 3 不同调制频率下的响应信号

2.2 光电压与调制频率的关系

图 4 是入射光功率为 200 mW 时, 对 10 个不同斩光频率响应信号光电压的测量结果.

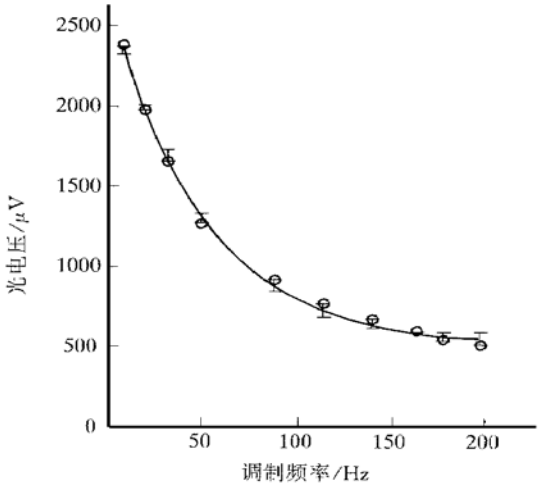


图 4 光电压与调制频率的关系

其中光电压指的是周期信号的有效值. 从实验点的变化趋势看, 光电压随频率的升高大致呈指数衰减规律变化. 图 4 中曲线为最小二乘法

拟合结果，其数学表达式为：

$$V = 2290 \exp(-f/48) + 480 \quad (1)$$

该式说明电压随频率的升高衰减是非线性关系，它很快就衰减到某一较小的本底值，48 Hz处是一个临界点。

2.3 光电压与入射光功率的关系

当调制频率固定在某一点不变而改变入射光强时，我们得到图 5 所示的光电压-光功率关系。分别使用了数字示波器和锁定放大器测量光电压。示波器测的是实际信号的有效值；锁定放大器测的是信号基波的有效值，因而读数比前者小。对 10 Hz 和 34 Hz 下两种测量方法得到数据的线性回归分析表明，光电压随光强增加呈线性规律增长。图 5 中自上而下四条回归直线与实验点的相关系数分别为：0.995, 0.999, 0.999, 0.996，可见线性相关性很好。

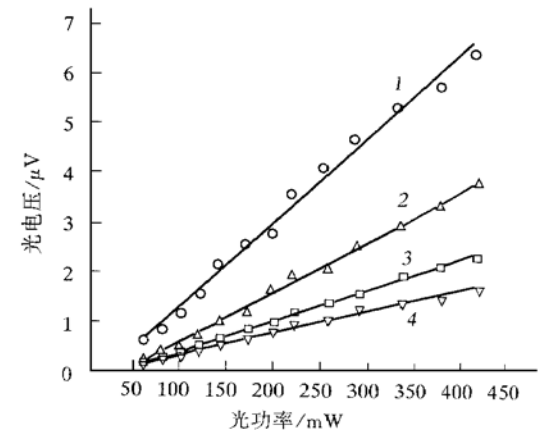


图 5 光电压与光功率的关系

1、2：10 Hz、34 Hz 调制频率下数字示波器测量结果；3、4：10 Hz、34 Hz 调制频率下锁定放大器测量结果。

3 讨 论

到目前为止，我们已知细菌视紫红质与视紫红质有许多相似之处，比如结构相似，吸收光谱相似，光化学反应过程相似，都有光适应和暗适应反应，都有很高的感光灵敏度等。这使我们猜想细菌视紫红质对调制光的响应可能与视觉冲动中电脉冲信息信号的形成也有某种

相似性。比如细菌视紫红质对光强变化的微分响应特性与视觉信息的形成有直接的联系，因为一些动物（如青蛙）正是利用这种微分响应来跟踪移动的目标。在人的视觉过程中，能观察到静止目标，实际上也是因为视网膜在作微小的振动。

在视觉光学中，人们引入了视觉系统时间调制传递函数（MTF）和临界停闪频率（CFF）的概念^[4]。设光亮度随时间以正弦形式变化：

$$B(t) = B(1 + m \sin 2\pi f t) \quad (2)$$

式中 B 表示平均亮度， f 为闪烁频率， m 是调制度。当闪烁频率一定时，视觉能否感到刺激光亮度变化，依赖于平均亮度（环境照度）和调制度。减小调制度，当视觉系统刚能察觉到明度变化时所对应 m 的倒数称为停闪灵敏度。 $1/mf$ 关系曲线即为视觉系统的时间调制传递函数。它一般是带通型，且随视网膜照度不同而不同。时间 MTF 曲线中高频段不能分辨的最低频率称为临界停闪频率，一般在 20 ~ 50 Hz。实验结果 2.2 中得到细菌视紫红质光接收器在调制频率 48 Hz 时为一个临界点，这可能与临界停闪频率有关。当视网膜照度增加或减少时，我们有明暗的感觉，这一点与实验结果 2.3 光电压随入射光功率增加线性增长这一结果的联系容易理解。

参 考 文 献

1 Miyasaka T, Koyama K, Itoh I. Quantum conversion and image detection by a bacteriorhodopsin-based artificial photoreceptor. *Science*, 1992, **255** (1): 342~ 344
2 Takei H, Lewis A, Chen Z *et al*. Implementing receptive fields with excitatory and inhibitory optoelectrical responses of bacteriorhodopsin films. *Appl Opt*, 1991, **30** (4): 500~ 509
3 Oesterhelt D, Stoekenius W. Isolation of the cell membrane of halobacterium halobium and its fractionation into red and purple membrane. *Meth Enzymol*, 1974, **31**: 667~ 678
4 李景镇主编. 光学手册. 西安: 陕西科学技术出版社, 1986. 809~ 810

Properties of Bacteriorhodopsin's Response to Modulated Light. YAO Baoli, XU Dalun,

HOU Xun (*State Key Laboratory of Transient Optics and Technology, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, The Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068, China*); HU Kunsheng, WANG Aojin (*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*).

Abstract Because of the structural similarity to rhodopsin, bacteriorhodopsin is characterized by some visual response properties. With electrophoresis method, oriented purple membrane films are deposited on stainless steel electrode to construct a photoreceptor with the structure of

stainless steel/ purple membrane/ gel/ copper electrode. As illuminated by modulated light, the photoreceptor gives rise to a differential response. The dependencies of the photoreceptor's photovoltages on the modulating frequency and the incident light power are measured. The analogy between the bacteriorhodopsin's response to modulated light and the visual flash and brightness are compared and discussed.

Key words bacteriorhodopsin, purple membrane, photoreceptor

运用原子力显微镜研究核糖体 RNA 的二级结构*

吴晓华 刘望夷¹⁾

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

徐磊 李民乾

(中国科学院上海原子核研究所, 上海 201800)

摘要 通过反复冻融的方法使核糖体在低温下瓦解, 制备了 rRNA, 不经抽提、变性和染色处理就能使 rRNA 在云母表面上较好地分散。用原子力显微镜对其进行观察, 发现 rRNA 分子呈多分支的棒状结构, 且有很好的规律性。根据 RNAs 的大小和形状可将其分为三种, 它们分别与计算机所预测的 28S-5.8S、18S、5S rRNA 的二级结构相似。我们得到的 28S-5.8S、18S、5.8S、5S rRNAs 的结构信息, 支持基于热力学考虑推测的 rRNAs 的二级结构。

关键词 核糖体 RNA, 二级结构, 原子力显微镜

核糖体 RNA 在蛋白质合成中起重要的作用^[1], 而核糖体蛋白主要通过诱导或稳定 rRNA 上功能位点的构象来促进 rRNA 表现功能^[2]。实验结果已证明 rRNA 的许多位点与蛋白质合成的重要反应密切相关。现已测定了多种核糖体中的 rRNA 全序列, 遗传比较及计算机预测的结果表明所有原核与真核生物 rRNA 都能折叠成相似的二级结构^[3~5]。这些结果也提示 rRNA 可能在蛋白质合成中起重要作用。

rRNA 在核糖体中的重要作用包括以下几个方面: a. 在核糖体的两个亚基结合中 rRNA

起着重要的作用, 18S rRNA 的中央结构域与亚基的结合关系密切, 28S rRNA 的 I 和 V 结构域也与亚基结合有关^[6]。b. rRNA 与 mRNA 的相互作用, 对于大肠杆菌 16S rRNA 的功能研究得最清楚的就是它对翻译起始密码子的识别。它是通过 mRNA 的 SD 序列与 16S rRNA 的 3' 端的 SD 互补序列的相互作用来实现的。目前, 真核细胞 mRNA 与 rRNA 的相互作用

* 国家自然科学基金 (39230080) 和中国科学院上海生命科学研究中心基金 (9511) 资助项目。

¹⁾ 通讯联系人。

收稿日期: 1996-07-15, 修回日期: 1996-11-07