

视觉过程中的光电转换问题

蔡浩然

(中国科学院生物物理研究所)

人们对客观世界的认识过程,其最初阶段是通过各种感受器官来感知周围客观事物。毛主席教导我们:“无数客观外界的现象通过人的眼、耳、鼻、舌、身这五个官能反映到自己的头脑中来,开始是感性认识。”

在人的感觉生活中,尤以视觉占有极其重要的位置。有人认为,一个正常人从外界所接受的信息中,有90%以上是从视觉而来的。这说明视觉研究在感觉生理学的研究中具有重要意义。

我们知道,各种感觉的产生,首先是由机体的一种称之为感受器的细胞或细胞器,把从外界环境中所接受到的刺激,转变为神经系统能进行处理的电信号。因此,在某种意义上可以把感受器看成是“换能器”。视觉的最原初过程是在光感受器内进行的光电转换过程。虽然光感受器也是一种光电转换的“换能器”,但它与一般光电管的光电效应器件不同。在光感受器中,含有一种能感光的色素(即视色素),它吸收光子,并引起一连串的物理化学变化,伴随这些变化,则出现光感受器的电位变化,即产生所谓感受器电位。

引起光感觉所需要的光能量是极为微小的,在暗适应状态下,用蓝绿光进行刺激,仅需 $2.1-5.7 \times 10^{-10}$ 尔格的能量作用于角膜上,就能引起视觉的兴奋。这说明光感受器的灵敏度是极高的,即使最灵敏的辐射接收器也远远不能与之相媲美。这是由于在光感受器的光电转换过程中,有极其巨大的电流放大作用,有人估计这种放大作用至少达一百万倍。因此,探索光感受器的光电能量转换机理,不仅具有理论意义,而且从仿生学的角度来考虑,弄清光电信息在光感受器中的转换机理,对视觉模拟也是不可缺少的。

近年来利用电子显微镜对光感受器的细微结构进行了深入研究,为分析光感受器机能提供了形态学基础。有关光感受器中所含视色素的漂白和再生过程的生物化学的研究,使我们可能从分子的水平上来解释视觉初期的能量转换过程。超微电极的发展,又提供了从细胞内引导光感受器电位的方法,这样我们就可能对单个感受器的机能进行讨论。

本文主要介绍在光感受器内,光刺激所引起的电位变化(即感受器电位),以及光感受器激发的假说。为

了便于说明这一问题,首先简单地介绍一下视网膜和光感受器的细微结构以及视色素的生物化学特性。

1. 视网膜和光感受器

照射到眼睛上的光,通过角膜、水晶体、玻璃体,最后聚集到视网膜上。视网膜是由各种神经细胞所组成的复杂结构(见图1)。大致由感受细胞、双极细胞和

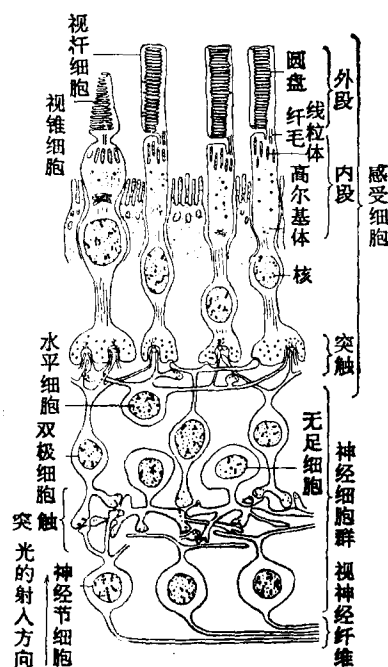


图1 脊椎动物视网膜显微结构模式图

神经节细胞等三层细胞所组成。光子在到达感受细胞之前,还必须通过神经节细胞、双极细胞等细胞层。由于神经节细胞、双极细胞等都是透明的,因此它们不妨碍光子的前进。光子到达感受细胞后,即被感光色素(视色素)所吸收,并将光信息转变为感受器电位。这种感受器电位通过细胞与细胞之间的一种称之为“突触”的联系而传到双极细胞、神经节细胞,并在神经节细胞内转变为脉冲形式的神经冲动,经过视神经,最后到达大脑,于是产生了视觉。在视网膜内除这种纵向传递信息的细胞外,还有横向联络的细胞,如水平细

胞、无足细胞等。因此,在视网膜内构成极其复杂的神经网络,这种神经网络能将视觉的信息进行初步处理。

脊椎动物的感受细胞从纵的方向分化为外段与内段两部分。感受细胞的外段就是光感受器。根据外段的形状,感受细胞又可分为两种:外段为圆锥状的感受细胞称为视锥细胞,其机能司白日视觉(明视)、色觉;外段为圆柱状的感受细胞称为视杆细胞,其机能司黄昏视觉(暗视)。人眼的视网膜,约含有六百万个视锥细胞,一亿二千万个视杆细胞,在视网膜的中心部位,平均每平方毫米约含十六万个感受细胞。

通过电子显微镜观察,上述两种感受细胞外段的细微结构也不相同。视锥细胞的外段,有很多由细胞外膜(原生质膜)内陷而成的片层结构,这些片层结构都和原生质膜连在一起,因此整个视锥细胞的外段,是由一个连续的膜所构成。在视杆细胞外段,其内陷的膜绝大多数与原生质膜完全脱离,形成一大叠硬币般的小圆盘,这些圆盘的外面,被原生质膜所包围,只是在视杆细胞外段的基部,有少数的片层结构尚未形成孤立的圆盘,而与原生质膜还联在一起。视杆细胞外段中的圆盘厚度为100—150埃,盘与盘之间隔为100—150埃。一个视杆细胞外段,总共含有1,000个左右的圆盘。这种圆盘都是由厚度为50埃左右的两层单位膜所组成的囊状结构。其主要成分是蛋白质和类脂。圆盘的蛋白质主要是能感光的视色素,例如蛙视杆细胞圆盘中的视色素占蛋白质的80%。在光感受器的原生质膜上也同样含有视色素。

每个感受细胞有9条含有连接纤毛的非常细的纤毛束,这9条纤毛束把外段与内段连结在一起。在感受细胞的内段,有细胞核,以及与外段的物质代谢、能量代谢有关的线粒体等等。

2. 视色素的生物化学特性

具有感光效应的视色素是一种带有生色基团(Chromophore)的蛋白质,它由视蛋白与生色基团两个部分所组成。有关视蛋白部分的结构,虽然远未研究清楚,但对其生色基团部分的结构却早已基本弄清。例如视黄醛₁(或称视黄醛)就是维生素A₁的醛型;视黄醛₂则是维生素A₂的醛型,也可称之为去氢视黄醛₁,即在其苯环上比视黄醛少两个氢原子,多一个双键。这四种物质的结构如图2所示:

现已阐明,视杆细胞外段中所含的视色素与视锥细胞外段中所含的视色素是不相同的,各种动物感受细胞中所含的视色素也不完全相同,脊椎动物的视色素大致可分为表1所列举的几类。

下面以研究得最清楚的一种视色素——视紫红质为例,简单地说明一下,它在光子的作用下所进行的漂白过程的生物化学反应。

在暗适应状态下,一个视紫红质分子是由一个11-顺视黄醛与一个视蛋白分子结合而成。当光照时,一

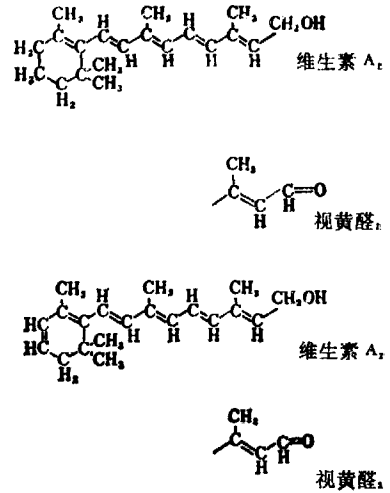


图2 维生素A及两种视黄醛的结构

表1 脊椎动物视色素的分类

生色基团部分	蛋白质部分	视色素	吸收峰值(毫微米)	动物
视黄醛 ₁ +	视杆细胞视蛋白	→ 视紫红质	498	牛
视黄醛 ₂ +	视杆细胞视蛋白	→ 视紫质	522	鲫鱼
视黄醛 ₁ +	视锥细胞视蛋白	→ 视紫蓝质	562	鸡
视黄醛 ₂ +	视锥细胞视蛋白	→ 视青紫质	620	人工产物

个视紫红质分子接受一个光子后,视黄醛在第11个碳原子上扭转,发生立体异构化,变成全反视黄醛(见图3)而整个视紫红质分子,也转变成漂白过程中的第一个中间产物,称为前-光视紫红质(pre-lumirhodopsin),这一步是光化学反应过程。在生理温度下,紧接着发生一系列的暗(热)反应过程,在这些暗反应过程中,视紫红质的视黄醛部分不起变化,只是视蛋白的立体结

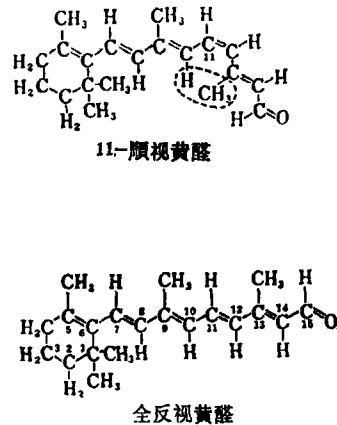


图3 11-顺视黄醛与全反视黄醛的结构

构发生变化。由前-光视紫红质转变成光视紫红质,然后转变成间视紫红质 I (Metarhodopsin I), 再转变成间视紫红质 II, 至此,视黄醛仍与视蛋白结合在一起。最后由间视紫红质 II 水解为全反视黄醛和视蛋白。降低温度可使这些中间产物稳定下来,以牛的视紫红质溶液为例,低于 -140°C , 前-光视紫红质是稳定的;低于 -40°C , 光视紫红质是稳定的;低于 -15°C 至 -20°C , 间视紫红质 I 是稳定的;低于 0°C , 间视紫红质 II 亦不易发生水解。视紫红质以及它的各种中间产物都具有各自所特有的吸收光谱峰值。这些中间产物在未水解之前,如果再接受一个光子,则与视蛋白仍结合在一起的全反型视黄醛将发生异构化,变为 11-顺视黄醛,而且视紫红质的中间产物整个分子仍将变成视紫红质,并称这种变化为光可逆反应。视紫红质的漂白过程及其光可逆反应可以概括为图 4。

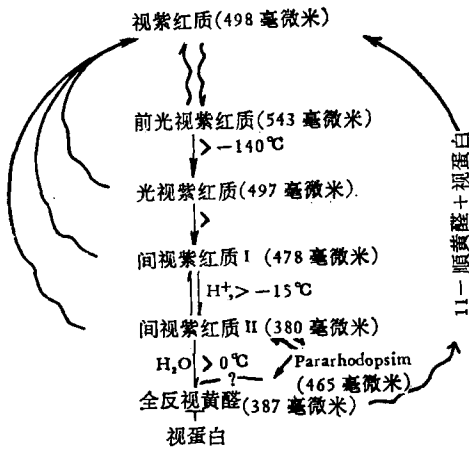


图 4 视紫红质的漂白及光可逆反应
曲线箭头表示光反应;直线箭头表示暗反应;括号中数据为该物质的吸收峰值

在漂白过程中,视锥细胞外段的视紫蓝质的生物化学反应,现在还不十分清楚,但一般认为与视杆细胞外段的视紫红质的变化基本相似。

3. 早期感受器电位

迄今已了解到,由于光刺激感受细胞,可以引起两种感受器电位。一种是几乎没有潜伏期的早期感受器电位 (early receptor potential, 简称 ERP); 另一种是稍后的晚期感受器电位 (late receptor potential, 简称 LRP)。

早期感受器电位是 1964 年 Brown 与 Murakami 从猴的视网膜上引出的。以后发现从角膜上也能引导出这种电位,而且相继从各种脊椎动物(如金鱼、青蛙、大白鼠、松鼠、豚鼠、猫等)以及人类,都观察到了这种电位,在一些无脊椎动物(如鲎、章鱼、乌贼等)也观察到了类似的电位。

ERP 是一种双相的电位,由极性彼此相反的 R_1 与 R_2 两个成分所组成。若从角膜表面引导这种电位,则

R_1 为正相,而 R_2 为负相(见图 5)。通常需要极强的闪光进行刺激,才能引起 ERP。其潜伏期极短,在 25 微秒以下。持续期为几毫秒。振幅随闪光强度的增加而

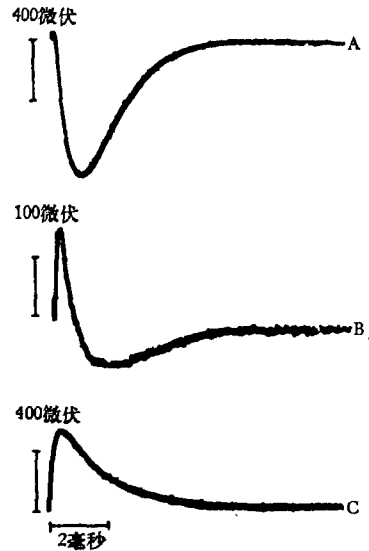


图 5 大白鼠 ERP 和温度变化的影响
A—— 35°C ; B—— 25°C ; C—— 0°C

加大,最大有可能达到毫伏数量级。在一定的刺激强度范围内,ERP 的振幅与闪光强度呈直线关系。然而当闪光强度达到一定程度时,其振幅不再随闪光强度的增加而加大,即达到所谓的饱和。这是由于在较低的刺激强度时,闪光所漂白的视色素分子数与闪光能量成正比,当超过一定的闪光强度时,由于有的视色素分子吸收了一个以上的光子,因而出现了前面所提到的漂白过程的光可逆反应。故即使闪光强度继续增加,但 ERP 的振幅不再加大。从而说明 ERP 的振幅与闪光能量不成正比,而是与闪光所漂白的视色素分子数成正比。

不仅如此,ERP 的作用光谱还与视色素的吸收光谱一致。例如,以视杆细胞为主的大白鼠 ERP 的作用光谱和它的视紫红质的吸收光谱一致。如用仅有视锥细胞松鼠 (Ground squirrel) 的视网膜进行实验,发现这种动物的 ERP 的作用光谱峰值接近 540 毫微米,与它的视锥细胞外段所含的视色素的吸收光谱峰值一致。

用蛙的视网膜进行实验,发现它的视网膜中的视色素,90% 以上虽然是视杆细胞的视紫红质,但是蛙的 ERP 主要是由它的视锥细胞的视紫蓝质所产生。这种情况可能是由于视杆细胞和视锥细胞在结构上的差异所引起,因为视杆细胞只有少数在原生质膜上及与原生质膜连在一起的片层结构上的视紫红质分子能产生 ERP,而与原生质膜完全分离的圆盘上的视紫红质,则可能不产生 ERP。视锥细胞的片层结构由于它

与原生质膜连在一起,故它的全部视色素都能产生ERP。

由于在 -35°C 时还能引出 R_1 ,一般认为 R_1 是与间视紫红质I以前的反应过程有关。正如前面所述,因为温度低于 -15°C 时,视紫红质的光化学反应和热反应过程,最多也只能进行到间视紫红质I这一步。另外由于光照间视紫红质II引起光可逆反应的同时,能引出一个与 R_2 波形相同,但极性相反的电位,故认为可能在间视紫红质I转变为间视紫红质II时产生 R_2 。但也有不同的意见。

有些物理、化学因素对晚期感受器电位或其他普通的神经系统电活动有明显影响,但它们作用于视网膜时,对ERP的影响却不大,例如:

(1) 缺氧 当人工呼吸停止后,猴眼的晚期感受器电位,很快就下降,以致消失,但对ERP的影响则不大。甚至摘出后达三小时之久的大鼠眼球也还能记录到ERP。

(2) 降温 在接近生理温度时,以 R_2 为主, R_1 很小。当使摘出的眼球逐渐降温,则 R_2 变小,至 5°C 时 R_2 几乎完全消失,而只剩下 R_1 (参阅图5)。甚至在 -35°C 仍可引出 R_1 。

(3) 外加电流的作用 若从外部通以电流,使光感受器膜的极化状态发生改变,则可使细胞内引出的LRP的振幅和极性发生明显的变化,但对ERP的振幅和极性却无明显的影响。

(4) 无机盐 在等渗的氯化钾溶液作用下,立即能使LRP消失;可是用这种溶液即使作用1小时,也不能使ERP消失,甚至 R_2 的振幅还有所增大,等渗氯化铷或氯化铵溶液也有相似的效果。

(5) 氢离子浓度 在中性溶液中,ERP最大。改变pH值,对ERP影响不大,只有在高于pH 11或低于pH 3的极端条件下作用30分钟,才能使ERP消失。改变pH值对 R_1 与 R_2 的影响也不相同。

(6) 固定剂 甲醛一类的试剂浸泡过的视网膜,也还能引出ERP。戊二醛则可使 R_2 消失,而保留 R_1 。

从而可以看出,上述各种物理、化学因素对 R_1 与 R_2 的影响是不相同的,故 R_1 与 R_2 可能是由于不同的过程所产生。另外,在上述各种物理、化学因素中,有许多因素对原生质膜的离子通透性有显著影响,但都不能使ERP消失,这说明ERP不是由于原生质膜对离子的通透性改变而引起,而是另一种物理过程所引起的新的生物电现象。一些实验结果表明,ERP的产生是与视色素分子在片层结构上的有序排列有关。例如当温度升高到 58°C 时,视色素分子虽未发生热变性,只是它的定向排列完全消失,此时ERP亦完全消失。因此认为ERP是由于这种有序排列的视色素分子,在漂白过程中,分子构型发生变化,引起电荷分配的变化,形成偶极子,而表现出电位的变化。

4. 晚期感受器电位

早在一百多年前,Holmgren发现当用光刺激眼睛时,就能从角膜表面引出一种电位,后来称之为视网膜电图(ERG)。视网膜电图是构成视网膜的各种细胞电活动的总和。根据对药物(如乙醚)的耐受性不同,一般可把视网膜电图分为PI、PII、PIII三个成分。其中只有PIII主要是由感受细胞所产生的电位。最近利用同心微电极分层引导方法、局部阻断视网膜血液循环、以及用天门冬氨酸钠抑制视网膜内(感受细胞除外)的其他细胞的电活动,已成功地从脊椎动物的视网膜电图中把感受细胞所产生的电位分离出来(见图6)。

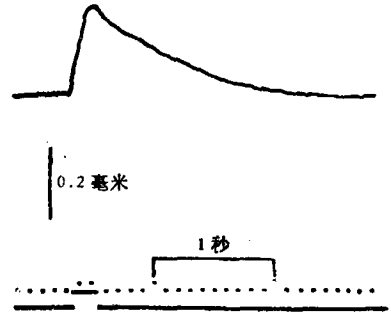


图6 用110毫克分子浓度天门冬氨酸钠处理剥离的蛙视网膜后的LRP

由于这种电位是继早期感受器电位之后出现,有较明显的潜伏期(最短为1.7毫秒),故称之为晚期感受器电位。它的发生机理与ERP完全不同,而与一般神经电活动的相似,是由于光感受器的原生质膜对离子通透性的改变而引起。

用光刺激无脊椎动物的光感受器,可使之去极化,而且去极化达到一定的数值,则可引起神经纤维的動作电位。光引起无脊椎动物光感受器去极化的机理,大致如下:在未给以光刺激时,光感受器的原生质膜是不能透过钠离子的。对钾离子则有选择性的通透性,这时膜电位是钾离子的浓差电位,若把光感受器外面的电位当作零,则光感受器内的电位是负几十毫伏。当以光刺激时,原生质膜对钠离子的通透性急剧增加,膜电位很快就接近钠离子的浓差电位,在光感受器内为+30毫伏,即出现去极化。在去极化时,膜电阻下降。

与无脊椎动物的情况完全相反,光刺激脊椎动物的光感受器,所引起的LRP为超极化现象。应用电桥原理,测定蝾螈和壁虎等脊椎动物光感受器的膜电阻,发现由于光刺激而引起超极化的同时,出现原生质膜电阻增加,在刺激光强度不大时,随着光强度的增加,超极化和膜电阻的变化都增加。用双管微电极从外部通以电流,能使膜电位被动改变,却不能引起膜电阻的变化,这说明光引起膜电阻的改变,不是由于超极化的次级效应,而是与引起超极化的过程直接相关。实验

结果还表明,光引起脊椎动物光感受器膜超极化电位的振幅,是与细胞外液中钠离子浓度的对数成正比,而与细胞外液中钾离子浓度的对数成反比。

脊椎动物光感受器的 LRP 究竟是怎样引起的? 考虑有两种可能性。第一,光可能激活光感受器的代谢泵,而由于钠泵的效应加强,使大量的钠离子排出光感受器,于是发生超极化。可是用一种能阻抑代谢泵作用的药物——箭毒甙处理后,只要细胞外液中钠离子浓度比感受细胞内钠离子浓度高,光刺激仍可引起光感受器的超极化反应,因此排除了光激活光感受器的代谢泵而引起超极化的可能性。第二,有实验表明,在黑暗的状态下,脊椎动物光感受器膜对钠离子具有很高的通透性,钠离子能通过其原生质膜不断向内渗,形成所谓的暗电流,以维持去极化的趋势。由于光刺激使原生质膜对钠离子的通透性减低(即膜电阻上升),因此膜电位接近钾离子的浓差电位,即出现光感受器内部相对于其外部更负的电位,也就是超极化。

晚期感受器电位的出现,与视色素漂白过程的关系又如何? 若从视色素漂白过程中间产物的半衰期进行推测,认为 LRP 的发生有可能是伴随间视紫红质 I 向间视紫红质 II 的转变。一般认为间视紫红质 II 以后的变化与晚期感受器电位的发生,无直接的关系。

5. 光感受器激发的假说

我们曾经指出,激发光感受器所需要的光能是极其微小的,光感受器的光电转换过程具有巨大的电流增益。所谓电流增益就是吸收一个光子所能引起流动的电荷数目。乌贼和大鼠的实验表明,这种电流增益为 10^5 — 10^6 。在光感受器内这种巨大的电流放大作用,曾引起极大的兴趣,为了说明这种放大作用的机理,一些作者曾提出了各种假说,如酶假说、固态假说、离子假说等,其中以离子假说似乎更有说服力。近年来根据一些实验结果,人们对光感受器的光电转换机理及其放大作用,提出了如下的解释。

一般认为,光作用于视色素分子,可能打开光感受器膜上的一个单分子钠通道,因而有大量的钠离子流过这个通道,用这种假说可以解释无脊椎动物光感受器的激发。在上一节中,我们已经谈到,光刺激会引起脊椎动物光感受器的膜电阻增加和超极化,因此不能用打开钠通道的假说来解释脊椎动物光感受器的超极化现象,而只能用将钠通道关闭的设想来说明这一现象。这是符合在暗处,钠通道开放,有大量的钠离子流进脊椎动物光感受器的原生质膜,形成暗电流;光刺激则使钠通道关闭,因而阻抑暗电流,出现超极化的晚期感受器电位。另外还发现钙离子具有与光相似的阻抑暗电流的作用。因而 Hagins 等近年来提出了如图 7 所示的暗电流和光感受器激发的模型。按照这个假说,在光感受器内钙离子的浓度远低于外部及圆盘内间隙的钙浓度。光子作用于视色素则增加膜对钙离子

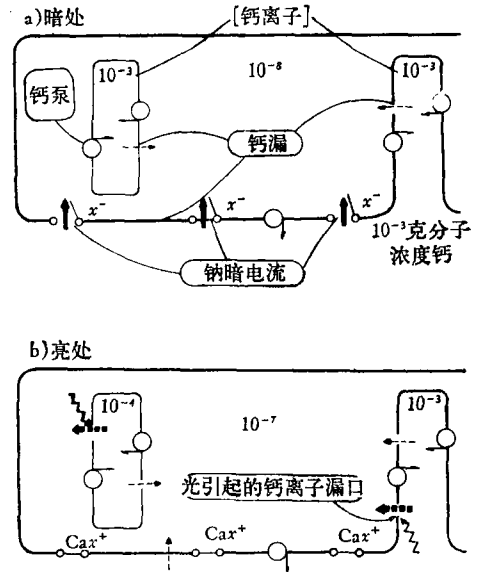


图 7 暗电流和光感受器激发的模型

的通透性,使钙离子进入光感受器内,因而光感受器内钙离子浓度增加,这样钙离子就能有效地与原生质膜上的某种物质结合,而使钠通道关闭。在暗处光感受器内低的钙离子浓度是由钙泵来维持。如果一个视色素分子吸收一个光子后,能使很多的钙离子进入光感受器内,每个钙离子使一个钠离子通道关闭,因而又能阻止很多的钠离子流入。这样就可以从量子增益的观点来解释光感受器的光电转换过程及其巨大的电流放大作用。

从 ERP 产生的机理来看,吸收一个光子只能产生一个电荷的移动,故它本身是一个不放大的电信号。ERP 在光电转换过程中究竟有何意义? 它与 LRP 有何关系? 由生物化学分析所得的结果表明,视色素是光感受器原生质膜结构的组成成分,故认为很有可能 ERP (尤其是 R_2) 的出现,意味着有序排列在光感受器原生质膜上的视色素分子本身构型的改变,而使膜结构发生变化,因而改变原生质膜对钠离子的通透性,引起 LRP。由于在通常不太强的光刺激作用下,吸收光子的视色素分子很少,加之 ERP 本身又是一个不放大的电信号,因而一般很难把它记录出来。尽管如此,但少数光子仍能够引起膜上的视色素分子构型改变,导致膜的通透性发生变化,因而引起 LRP。另外,ERP 的 R_2 和 LRP 都有可能是伴随间视紫红质 I 向间视紫红质 II 的转变而出现,是否也说明这两种感受器电位,在光电转换过程中可能有其内在的联系。

然而,以上的假说,也还有待更多的实验加以证实,特别是 ERP 与 LRP 的关系究竟如何? ERP 在光感受器的激发过程中,究竟是必要的,或是一种伴随现象? 目前还有很大的争论。