

- growth factor. *Growth Factors*, 1990; 3: 287
- 17 Ortega S, Schaeffer M-T, Sideman D *et al.* Conversion of cysteine to serine residues alters the activity, stability, and heparin dependence of acidic fibroblast growth factor. *J Biol Chem*, 1991; 266: 5842
- 18 Lormeau J C, Petitou M, Choay J *et al.* A heparin hexasaccharide fragment able to bind to anionic endothelial cell growth factor; preparation and structure. *Angiogenesis*. New York; Cold Spring Harbor, 1987; 43-46
- 19 Uhlrich S, Lagente O, Choay J *et al.* Structure activity relationship in heparin; stimulation of non-vascular cells by a synthetic heparin pentasaccharide in cooperation with human acidic fibroblast growth factors. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986 139: 728

紫膜蛋白（菌紫质）的应用前景*

黄莹** 余滔

（浙江大学光科系细胞生理实验室，杭州 310027）

胡坤生

（中国科学院生物物理研究所，北京 100101）

提 要

简要综述了紫膜蛋白（菌紫质）作为光驱动质子泵，光电换能器及光敏材料等方面的应用前景；谈到了通过基因工程和生化手段可优化设计菌紫质的物理和化学特性，将其应用在信号的存储和处理中的可能性，并探讨了菌紫质在实际应用中可能存在的问题。

关键词 嗜盐菌，紫膜，菌紫质，光驱动质子泵，光电换能器

嗜盐菌是一种在高浓度的食盐和镁盐下才能生长的细菌。菌紫质（bR）分子是嗜盐菌紫膜中的唯一蛋白质分子，分子量是26 000道尔顿。它在天然紫膜中以六角型二维晶体结构排列，并以三个分子为单位组成三聚体。从电子束衍射和电子显微镜观察可知，bR分子是由7条 α 螺旋柱组成，并且大体上垂直于膜面。一个bR分子中含有一个视黄醛分子，它通过质子化的席夫碱基连结在紫膜蛋白上。当bR分子受光照并吸收光子后会产生一系列的光循环中间体，最后又回到原始状态bR。bR分子在光循环过程中可进行质子的运输，把质子从膜内运到膜外，在紫膜的两边产生质子梯度，紫膜利用此质子梯度的能量合成ATP。bR分子光驱动的质子泵功能所产生的质子流也会产生电动势，从膜两边可测量到直流光电压信号以及快速的位移电流信号^[1]。

bR被认为是最有前途的光敏蛋白。由于其特有的高稳定性和对其分子结构的进一步了

解，人们对其兴趣越来越大。近几年来，发表了不少有关bR的应用方面的文章。然而迄今为止，真正能够达到具体应用的报道很少。尽管如此，bR作为一种天然材料，具有其它天然和合成材料所无可比拟的特性。作为视紫红质的类似物，bR既可以存在于嗜盐菌的体内，也可以组装到其它的人造膜系统中并保持其完整的结构和功能达数年之久。此外，还可以通过常用的变构法或特殊的选择分离法来得到bR的多肽链^[2,3]。bR基因的特定变异和它在大肠杆菌（*E. coli*）中表达的成功^[4,5]，使得我们可以自由选择来修饰bR。对bR的研究开辟了材料科学的新纪元。

所有有关bR应用的设想都基于其如下特性：

*浙江省自然科学基金资助。

**现在青岛医学院中心实验室工作。

- a. bR 是一个光驱动质子泵；
- b. bR 体系大约可产生 300mV 的跨膜电势；
- c. bR 是一个光敏蛋白；
- d. bR 的原初光异构化过程极快；
- e. bR 的吸收光谱和光学特性对周围介质很敏感。

现将近几年来有关 bR 的应用及其前景简要的综述，并指出可能存在的问题。

1 bR 作为光驱动质子泵的应用

bR 作为光驱动质子泵，吸收光能将 H^+ 由胞质中泵向胞质外，把光能转变成膜两侧的电化学势差而储存备用。嗜盐菌利用产生的电化学能驱动诸如 ATP 合成等各种生命活动。

1.1 将太阳能转变成电能

70 年代末和 80 年代初，对 bR 的研究主要集中在：bR 作为光驱动泵可以将太阳能转变成光能和化学能。

光质子的跨膜位移可运用到人工膜系统的研究中^[6]。例如：含有定向 bR 的薄膜或薄片在光照下，作为大面积质子泵可产生一个正交方向的光感应质子穿过人工膜。但这种系统仅在理想状态，且膜片的体积小、容抗低的情况下成立。实际情况并非如此。这由两方面的因素所决定。首先是紫膜的定向度，其次是质子位移的表面量子效应。一个质子穿过人工膜需要几个光子？理论上对单层的膜片来说，传递一个质子只需一个光子。但很难保证产生一个高光感应的质子传递效应并且不发生散射。这也许是由 bR 将太阳能转变成电能所要解决的问题。bR 质子泵转换为电能存储装置的另一个问题是光电池。硅太阳能电池所达到的效率是 bR 光电池望尘莫及的。标准太阳能电池的效率为 14%，而 bR 的仅为 1%^[7]。所以必须提高 bR 光电池的效率，否则 bR 光电池难于实用。

1.2 人工合成 ATP^[8]

理论上认为：在人工膜系统，bR 可利用膜两侧的质子跨膜势能将 ADP 转换成 ATP。其原理和过程与 bR 在嗜盐菌体内的相似。具体

做法是将 ATP 合成酶嵌入一个双层脂质膜中，由 bR 质子泵膜以产生能量来合成 ATP。这里 bR 作为质子供体。但这个系统的低效率被产生 ATP 的高代价所抵消。这个过程的主要缺点是剩余的 ADP 必须被收集起来并送回到 ADP/ATP 的循环反应器中。传递和处理过程的高代价限制了这种反应器在稳定系统中的应用。

1.3 海水淡化^[9]

作为质子泵，bR 的另一个有趣的应用是海水淡化。由于沿海和沙漠地区对水需求量的增加，作为一种经济有效，蕴藏丰富的水资源，海水的淡化的问题越来越引起人们的注意。1976 年 Oesterhelt 首先提出了利用 bR 来进行海水淡化，后来发现不仅 bR，氯紫红质 (hR) 也具有这种特性。但这个问题一直未得到深入的研究。这是因为其代价太高，而且诸如：大体积的高度有序的 bR 膜的稳定性和同一性的问题都未得到解决。

2 bR 作为光电转换器的应用

作为光电转换器，bR 主要应用在生物传感器和生物芯片的研究中。

作为生物传感器的应用，其原理为：通过有机化合物：如麻醉剂 (enflurane, halothane)^[10]、有机染料添加剂 (diaminoacridine)^[11] 和有机溶剂^[12] 来修饰 bR，使其光循环和吸收光谱发生变化。这种方法制得的传感器灵敏度高，但选择性差。

bR 研究的热点和最激动人心的是其在生物芯片中应用^[13]。自 1983 年美国开始设想研究生物芯片计算机以来，激起了各发达国家对这方面研究的热潮。由于 bR 的色素/膜系统十分简单，稳定。足以通过其结构的改变来控制光信号，所以被看作极有希望用于代替硅芯片的生物传感芯片材料。开发生物芯片的理论研究已成为计算机科学家的热点，而在实验方面却远远落后，目前几乎还没有任何实际可行的设计。

3 bR 作为光敏材料的应用

bR 蛋白所特有的光敏特性、可逆性和其光循环的高速度,使得它可以广泛的应用在信号的存贮和处理中.特别是近年将基因工程和生化手段相结合所制造出的 bR 变体,将其变体应用到全息技术中,获得了可喜的成果.

3.1 bR 在全息光学中的应用

用 bR 变体 bR-326 和 bR-WT 可得到 bR 的动态全息图.表 1 显示了它们的全息特性.由表中可以看出 bR-326 更适用于全息记录.与 bR-WT 相比, bR-326 的光敏特性和衍射率都有所提高,存储时间也增加^[14].

表 1 BR-WT 和 BR-326 全息特性的比较

	BR-WT	BR-326
量子系数	0.7	0.7
光谱范围	400—890nm	400—890nm
记录灵敏度 (568nm)	81mJ/cm ²	53mJ/cm ²
记录灵敏度 (412nm)	29mJ/cm ²	29mJ/cm ²
分辨率	>5000lines/mm ²	>5000lines/mm ²
衍射系数	~1%	~2%
可逆性	>100cycles	100cycles
存储时间	~10—500ms	~70—500ms

实时干涉度量学已被广泛地应用在振动的无损检测中. bR 实时干涉的理论基础是基于 bR 膜的时间积分特性,并由其光化学反应所决定.在振动模型的检测中,可得到全息图象的时间积分. bR 除具有高的光稳定性(样品可放置一个月以上而不发生衰弱)外,另一个使得它能应用到实时干涉度量学中的优点是根据不同的积分时间来自由选择特定的 bR 变体^[15].

bR 的相位共轭是在其体积全息图的基础上进行的.整个系统的效率虽不尽人意,但其灵敏度和质量还是令人满意的. bR 可在共轭

波中作为极化状态的恢复^[16].结合光存储和神经网络等技术,都与 bR 的体积全息图密切相关.

3.2 bR 在信号存储和处理中的应用

bR 变体还不太适用于长期记忆,但适合于短期存储. bR 变体可应用到 ROM 中,其再生周期可达 260s,存储密度为 10⁸bit/cm²,可与传统的点存储器相媲美.这种存储器的容量受激光束的最小焦距和空间地址的精度所限制.如利用全息记录,存储密度还可增加^[17].

除信息存储外, bR 可构成光开关满足光计算的需要. 已有人做成双稳定的光开关 (Opt. bistability),如光学共振腔.这种共振腔对它非线性介质的折射率和反射特性的变化很敏感^[18].

实验证明, bR 可以作为一种瞬时光低通滤波器.信号调节器中使用 bR,其磁畴时间(1—100ms)是其它高灵敏度的光敏介质所不可比拟的^[19].

在光滤波器中, bR 克服了由于富氏变换所造成的影响,使边缘增强. bR 在光模式识别中的应用刚刚起步,但其前景是可观的.将 bR 的光电特性运用到神经网络的研究中,产生了以“光敏二极管结型”为基础的定向的 bR 膜网络.这种网络与电子系统所不同的是初始化是由光来完成的.

3.3 bR 在光学检测中的应用

由于 bR 光循环的原初光异构化的过程小于 0.7ps,故可将其应用到光检测系统中.将定向的 bR 偶联到同轴电缆的末端所构成的超光速检测系统,其上升时间可达 20ps^[20].

bR 应用技术中的首要问题是解决紫膜定向的问题.杂乱无章的 bR 分子其电信号会相互抵消,只有分子间高度有序地排列才能发挥最大的功效.紫膜定向的方法很多,具体包括:表面定向法、界面定向法、电场定向法及磁场定向法.

在完整细胞和人造的脂质体中测量 bR 分子产生的电信号仍有困难,最初将 bR 分子嵌入到平板双层脂膜上所形成紫膜的 BLM 膜系

统可以方便地观察到光产生的电信号。但BLM膜系统不大可能实用化，存在的主要问题是膜的机械稳定性差，并且在水相中的紫膜BLM不利于应用。另一个问题是bR分子在BLM系统上很难进行定向排列。从生物芯片设计的实用观点出发并不一定要做成生物膜类似的双层膜结构，LB技术在空气-水界面上形成定向膜的界面层，然后把单层膜转移到固体载片上做成的紫膜LB膜则大有应用前景。如果通过叠加的方法把几十层，甚至几百层紫膜LB膜形成在固体基片上，其优点为：分子的排列可人为控制，活性分子bR可以因叠加而大量积累，它的结构和功能也很稳定，固体基片上的bR分子也可方便地与其它部分连接起来，为实际应用创造了必要的条件。除此之外，又如凝胶膜，微孔膜等人工膜系统也是有希望的组装技术之一。

bR的研究历史不长，只有20年。人们对其结构和特性的研究已取得令人瞩目的成果。由于其特有的结构和特性，其应用前景是可观的，尤其是在生物芯片领域的应用将促使科学和技术发生革命性的突破。

参 考 文 献

- 1 Kouyama P, Kinoshita K, Ikegami A. Structure and function of bacteriorhodopsin. *Adv Biophys*, 1988; **24**:123
- 2 Soppa J, Oesterhelt D. Bacteriorhodopsin mutants of halobacterium spec. grb; 1. The 5-bromo-2'-desoxyuridine-selection as a method to isolated point mutants in halobacteria. *J Biol Chem*, 1989; **264**:13043
- 3 Soppa J, Otomo J, Straub J *et al.* Bacteriorhodopsin mutants of halobacterium spec. grab; 2. Characterization of mutants. *J. Biol Chem*, 1989; **264**:13049
- 4 Nassal M, Mogi T, Karnik S S *et al.* Structure-function studies on bacteriorhodopsin III. Total synthesis of a gene for bacterio-opsin and its expression in *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 1987; **262**:9264
- 5 Holz M, Brachev L A, Mogi T *et al.* Replacement of aspartic acid-96 by asparagine in bacteriorhodopsin slows both the decay of the M intermediate and the associated proton movement. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; **86**:2167
- 6 Kouyama T, Nasuda-Kouyama A. Turnover rate of the proton pumping cycle of bacteriorhodopsin pH and light-intensity dependence. *Biochemistry*, 1989; **28**:5963
- 7 Singh K, Caplan S R. The purple membrane and solar energy conversion. *TIBS* 1980; **5**:62
- 8 Inatomi K. ATP-regeneration bioreactor equipped with immobilized ATPase. (Mitsubishi Electric Corp.) Jpn Kokai Tokkyo Koho JP 61/124384 1984;6
- 9 Oesterhelt D. Bacteriorhodopsin as a light-driven ion exchanger. *FEBS Lett*, 1976; **64**:20
- 10 Henry N, Beaudoin N, Barilbeau J *et al.* Further characterization of anaesthetic treated purple membrane. *Photochem Photobiol*, 1988; **47**:85
- 11 Mukaihata T. Cationic dye-modified halobacterium purple membrane for biosensor. (Suntory Ltd.) Jpn Kokai Tokkyo Koho JP 63/28390 1986;5
- 12 Mitaku S, Ikuta K, Itoh H *et al.* Denaturation of bacteriorhodopsin by organic solvents. *Biophys Chem*, 1988; **30**:69
- 13 Hong F T. The bacteriorhodopsin model membrane system as a prototype molecular computing element. *BioSystems*, 1986; **19**:223
- 14 Hampp N, Oesterhelt D, Brauchle C. The biological photochrome bacteriorhodopsin and its variants: Their application in dynamic holographic recording. In: Heinz Durr *et al.* eds, *Proc Holographics' 90, Amsterdam: Elsevier Press*, 1990;65
- 15 Hampp N, Brauchle C, Oesterhelt D. Bacteriorhodopsin as a reversible holographic medium in optical processing. *IEEE EMBS*, 1990; **12**:1719
- 16 Werner O, Fisher B, Lewis A *et al.* Saturable absorption, wave mixing, and phase conjugation with bacteriorhodopsin. *Opt Lett*, 1990; **15**:1117
- 17 Birge R R. Optical random access memory based on bacteriorhodopsin. *Bull Am Phys Soc*, 1989; **34**:483
- 18 Bazyhenov V Y, Soskin M S, Taranenko V B *et al.* Biopolymers for real-time optical processing. In: Arsenault A ed, *Optical processing and computing*, New York: Academic Press, 1987;103
- 19 Barmenkov Yu O, Zosimov V V, Kozherniko N M *et al.* Holographic filtering of a low-frequency noise in the output signal of an interferometer. *Opt Spektrosk*, 1988; **64**:1339
- 20 Trissl H W, Gartner W, Leible W. Reversed picosecond charge displacement from the photoproduct K of bacteriorhodopsin demonstrated photoelectrically. *Chem Phys Lett*, 1989; **158**:515