

参照 Eisinger, 取向因子 K^2 为 $2/3$, 介质折射常数 n 为 $1.35^{[7]}$. J 为光谱重叠积分, 且

$$J = \int F(\nu)\epsilon(\nu) - d\nu / \int F(\nu)d\nu \dots\dots (3)$$

$F(\nu)$ 为能量给予体的荧光强度, $\epsilon(\nu)$ 为能量接受体的摩尔消光系数, ν 为波数 (cm^{-1}), E 为能量转移效率

$$E_{\text{obsd}} = [1 - (I/I_0)] \dots\dots\dots (4)$$

I , I_0 分别为有和没有能量接受体的发射荧光强度.

$$E = 1 - (1 - E_{\text{obsd}})^{1/2} \dots\dots\dots (5)$$

实验中求得 FP 的能量转移效率 E 为 6.2×10^{-2} . Φ_{Trp} 为没有能量接受体的能量给予体的量子产率, 实验中我们以水溶液中 Trp 的量子产率 $\phi=0.13$ 为标准^[8], 测得 $\Phi_{\text{FP}}=0.175$.

由于 Tb^{3+} 弱的 f 跃迁, 使得 Tb^{3+} 的吸收光谱难以测出, 依照文献 [9, 10] 的方法, 算得 J 的平均值为 $0.7 \times 10^{-19} \text{cm}^6 \cdot \text{mol}^{-1}$, 得到 R_0 为 $3.60 \text{\AA}$, 并计算出 $r=5.66 \text{\AA}$. 这说明 Trp 中与 Tb^{3+} 之间的距离很近, 因此可发生比较强的能量转移. 若 Tb^{3+} 取代的是 FP 中的 Ca^{2+} , 则

Ca^{2+} 与 Trp 之间距离也近似为 $5.66 \text{\AA}$.

参 考 文 献

- 1 Ouyang C F, Teng C M. Biochim Biophys Acta. 1976; **420**: 298
- 2 Biggs R. Human blood coagulation. hasmostaris and thrombin. Oxford: Blackmell Scientific Pub, 1972: 429, 587, 602
- 3 王 淳, 徐 洵. 见: 全国止血栓及血栓第一次会议摘要. 西安, 1987, 西安: 西北大学出版, 1987: 75
- 4 鲁子贤, 崔 涛, 施庆洛. 圆二色性及旋光色散在分子生物学中的应用. 北京: 科学出版社, 1986: 87
- 5 区耀华, 王志刚, 周 昕. 生物物理学报, 1990; **6** (3): 300
- 6 杨盛斌, 杨 频. 生物化学与生物物理进展, 1989; **16** (5): 354
- 7 Horrock W D, Jr Collier W E. J Am Chem Soc, 1981; **103**: 2856
- 8 Chen R F. Analy Lett, 1969; **1**: 35
- 9 Dale R E, Eisinger J, Blumberg W E. Biophys J, 1979; **26**: 161
- 10 Horrocks W D, Jr Snyder A P. Biophys Res Comm. 1981; **100** (1): 111

萤火虫复眼光学模型重叠成象的研究与模拟*

吴梅英

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

P. D. MCINTYRE

(澳大利亚国防大学, 堪培拉)

摘要 以北京萤火虫复眼结构与生理参数为依据, 基于已知的梯度折射率透镜特征, 对复眼的整个光学系统进行模型化. 模型的尺寸与折射率分布依据实际晶锥的测量值. 通过对模型复眼的光线追迹, 证明北京萤火虫复眼是一个折射重叠型复眼. 重叠孔径以内入射的平行光线在视网膜水平形成一半宽度为一定值的模糊圈. 利用计算机光线追迹模拟了复眼的重叠成象过程, 随着象平面与晶锥近端距离的增加, 信号光线的数目也逐渐增加, 信噪比逐渐提高, 在视网膜水平达到最大值.

关键词 萤火虫复眼, 光学模型, 重叠成象

萤火虫复眼是 Exner (1891)^[1] 推导光学重叠型复眼理论的例子, 他发现了通过多个相邻小眼面光线集合所形成的正立象, 首次提出了光学重叠理论. 后来许多研究者也都先后观察到了这个正立象, 但这些是在角膜和晶锥后面

的组织被完全清除之后观察到的. 由于这个象位于后面的光感受器层, 那么这种重叠象的意

* 国家自然科学基金, 中国科学院视觉信息加工开放实验室和澳大利亚技工贸部资助.

收稿日期: 1993-12-26, 修回日期: 1994-07-22

义似乎也就成为问题了. 70 年代, Horridge 等人^[2-4]进一步提出了光学重叠眼的特征为在屈光系统和光感受器层之间必须存在一个宽的透明带, 用于把小眼的屈光系统与光感受器层分开. 此透明带的存在允许多个小眼的光线通过, 并一直到达光感受器层. 在理想的重叠眼中, 一束平行光线最后被聚焦在小眼光轴与光线的初始方向一致的那个小眼的光感受器上^[5,6]. 对于萤火虫复眼的研究现在仍存在不同的看法, 有研究认为它是光学重叠型复眼^[1,8], 但也有报导认为萤火虫在明、暗适应状态下都不存在透明带, 而是利用晶丝光导, 因而萤火虫本身并不利用光学重叠象^[7]. 同时, 有研究观察到了萤火虫复眼屈光系统形成的光学重叠象, 而且象的大小随着物距的增大而变小^[8]. 鉴于以上多方面的不同观点和结论, 我们根据北京萤火虫复眼的结构和生理参数, 用计算机模拟了其复眼光学系统, 并进行光线追迹, 在不同水平观察了成像情况, 得出了一些有意义的结果. 类似研究国内外尚未见报导.

1 材料与方法

1.1 材料

材料为成熟的野生萤火虫 (*Philocelia pekinensis*), 8 月下旬到 9 月上旬采自北京香山附近. 在晚上采集, 故把采集的成虫立即放入 75% 的酒精水溶液中固定, 作为暗适应状态. 另外, 把部分成虫经过光照 30min 后, 再放入 75% 酒精水溶液中固定, 作为明适应状态.

1.2 方法

1.2.1 单个小眼的光学模型

小眼模型的所有参数皆来自萤火虫复眼的实际测量值. 应用 McIntyre 的折射重叠眼光线追迹程序建立模型, 在阿波罗图象工作站 (Apollo Graphics Workstation) 上完成. 角膜与晶锥内的非均匀折射率变化为:

$$n(r) = n_0(1 - ar^\alpha) \dots\dots\dots (1)$$

其中 $n(r)$ 为半径 r 点的折射率, n_0 为轴上折射率, r 为距离小眼光轴的径向距离, a 和 α 为符合实验数据的参数. n_0 , α 在非均匀区域随轴

上位置 (z) 不同而发生变化. 晶锥末端为一半椭圆球段, 其内部折射率变化为:

$$n(r, z) = n_{oc} \{1 - c[(r/r_b)^2 + (z/z_b)^2]^{\alpha/2}\} \dots (2)$$

其中 z 为从椭圆中心沿光轴的位置, r 垂直于光轴, 原点设在椭圆区域的起始点; r_b , z_b 分别为 r , z 的最大值 (在边界), c 为常数, n_{oc} 和指数 α 为测量值.

1.2.2 复眼

依据小眼的六边形阵列模型化完整复眼, 假设各个小眼的外表面的中心位于同一个球面上, 其光轴相交于复眼曲面的中心. 每个特定的小眼由两个角度确定, 一个为该小眼与中心小眼光轴的夹角, 另一个为依任意方向为零围绕中心轴的角度. 对于一束与中心小眼光轴平行的入射光, 距中心小眼越远的小眼, 其光轴与入射光的夹角越大, 直到以至于离中心小眼太远, 也就是说入射角太大, 没有光线通过小眼系统时, 光线追迹终止.

1.2.3 视网膜

假定视网膜为平面, 而且被模型化为一系列的同轴圆筒, 中心感杆为目标感杆. 中心圆筒与相邻圆筒之间的区域内包含 6 个与之相邻的感杆, 下一区域为 12 个其次相邻的感杆, 依次类推. 这些圆筒的依次编号为 0 (目标感杆), 1 (与目标感杆相邻的 6 个感杆), 2 (其次相邻的 12 个感杆) 等一系列圆环. 通过视网膜在三维内追迹光线, 感杆内光的吸收系数通常为 0.0067, 并考虑感杆内发生的全内反射. 感杆吸收光的量是该环上总的吸收量除以该环上的感杆数目 ($6n$, $n > 0$).

2 结果与讨论

2.1 重叠成像机制

北京萤火虫复眼是折射型的光重叠眼类型 (图 1). 每个小眼的角膜和晶锥的折射率梯度具有很大的折射能力, 并能使光线精确地朝向视网膜弯曲. 在视网膜与复眼的屈光系统两部分之间由光学上均匀的一宽透明带分开, 而且透明带则允许小眼之间的光线交叉. 这与在并列眼所发生的情况不同, 在并列眼中, 每个小

眼之间由能够吸收光的屏蔽色素在光学上相互隔离。如图 1 所示, 当一束平行光线 (无穷远点光源) 通过重叠孔径 (A) 入射时, 经过小眼角膜 (c) 和外晶锥 (exc) 组成的光学系统, 系统内所具有的折射率梯度使光线弯曲, 穿过透明带 (CZ) 以后聚焦到视网膜 (re) 上, 所产生的光点是一个半宽度为 $\Delta\rho$ 的“模糊圈”, 图 1 中由一钟形曲线 (被夸大) 表示, d 为感杆直径。如果复眼的屈光系统聚焦光线的能力比较差, 在视网膜上所形成的模糊圈也就会变大, 随之而产生的结果是图象的分辨率变差。

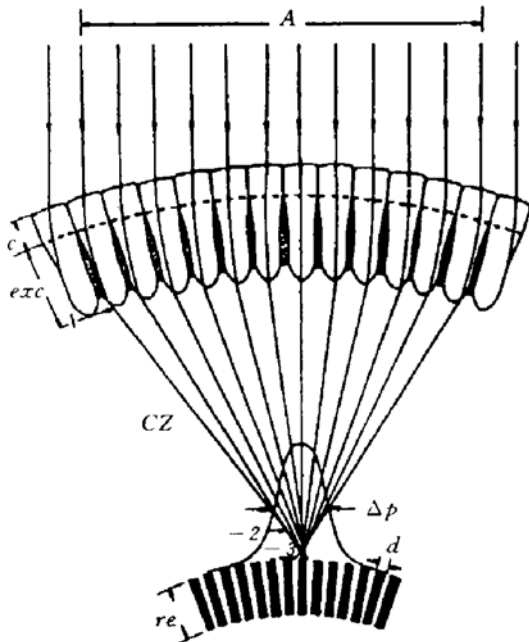


图 1 北京萤火虫折射型重叠眼的成像机制示意图

A : 重叠孔径, c : 小眼角膜, exc : 外晶锥, CZ : 透明带, d : 感杆直径, re : 视网膜。

2.2 计算机光学模型复眼的重叠成像及过程

通过北京萤火虫折射型重叠成像复眼的计算机光线追迹模型, 追迹平行入射光线通过模拟复眼的屈光系统, 最终到视网膜为终点的光路。根据复眼重叠成像机理, 理想的光线应当入射到一个单个的光感受器 (photoreceptor)——目标感杆 (target rhabdom) 上。计算机光线追迹模型计算了在重叠孔径内所有光线穿过透明带后在任意位置上光线的位置, 以及在这

个位置上视网膜内的吸收量。同时模型可以计算给出任意观察位置上的光强度分布, 也就是每单位面积的光线数目。

图 2 给出了在不同观察位置上的模糊圈的三维光强度分布以及相应的二维光强度轮廓图, 图 2a, 2b, 2c 的具体观察位置分别表示在图 1 中的 1, 2, 3 位置。光强度图的中心在目标小眼 (target ommatidium) 的光轴上, 图 2 中的每一个小方格代表 $1\mu\text{m}^2$ 。在二维光强度轮廓图中的两条短的垂直虚线表示为目标感杆的边缘, 原点为感杆的中心。

在光线追迹中, 落在中心光感受器直径以内的光线为信号光线, 噪声为落在与中心光感受器紧密相邻的六个光感受器中的每一个的光线数目。从具体结果 (图 2a, 2b, 2c) 可以看出, 当观察位置距离晶锥末端 (距离为 0) 时 (图 2a), 其信号光线数目为 61, 噪声为 20.3, 信噪比 SNR (信号/噪声) 为 3.0。当观察位置为 $221\mu\text{m}$ (位于透明带之中) 时 (图 2b), 其信号光线增加到 5179, 但信噪比则降低到 1.5。信噪比的降低由图 2b 中的二维光强度分布可以明显看出, 其中心感杆的信号光线的强度分布与周围相邻感杆的噪声光强度分布相差不是很多。当观察位置在 $233\mu\text{m}$ (在视网膜水平) 时 (图 2c), 信号光线快速增加到 16789, 信噪比提高到 13.3, 从光强度的三维以及二维分布图也可以明显看出, 其大部分光线都分布在中心感杆之内。

图 3 给出了不同观察位置对其信号光线数目的曲线图。由图 3 可以看出北京萤火虫计算机光线追迹复眼模型光学成像时的综合过程, 随着观察位置与晶锥近侧末端距离的增大, 信号光线的数目也逐渐增加, 当在某一位置 (在视网膜水平) 时, 其信号光线数目达到最大值。而随着观察距离进一步增大时, 信号光线则又逐步下降 (如图 3 所示)。理所当然, 信号光线为最大值的那个平面应当是重叠象的象平面。对于北京萤火虫的计算机光线追迹复眼模型, 其最佳重叠象的象平面位于距离晶锥末端 $233\mu\text{m}$ 处, 在此平面上的信号光线数目, 信噪

比以及分辨率等都达到最大值. 计算机模型得

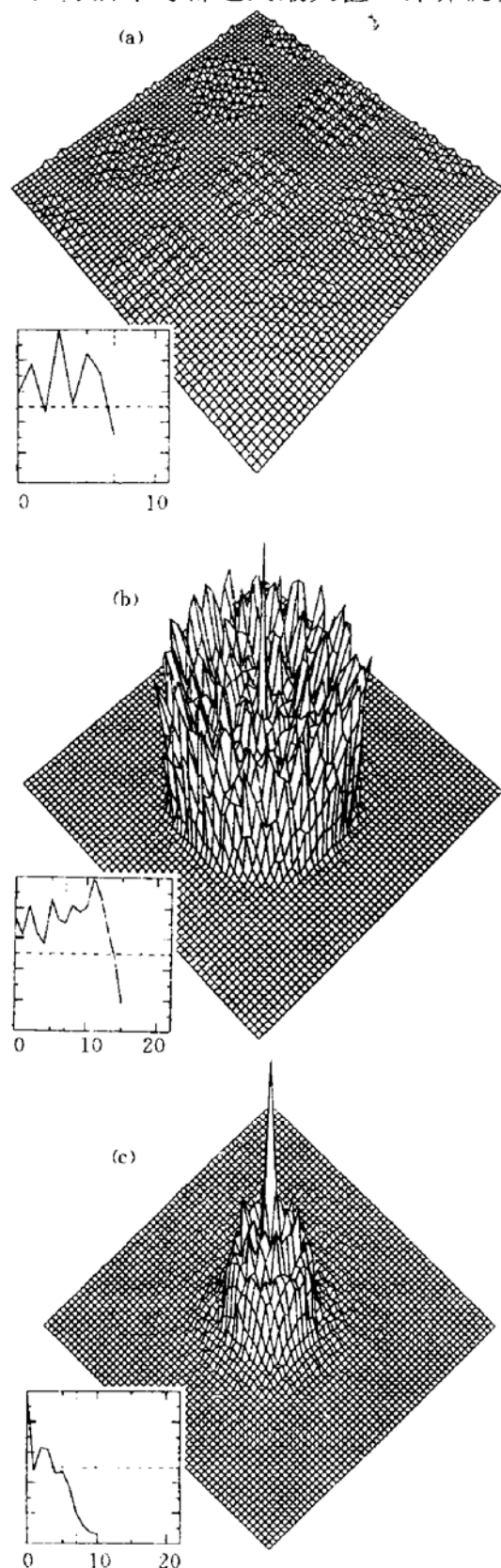


图2 不同位置上模糊圈的二维和三维
光强度分布

(a) 观察位置在晶锥近侧末端, 距离为 0; (b) 观察位置与晶锥近侧末端的距离为 $221\mu\text{m}$; (c) 观察位置距离晶锥近侧末端为 $233\mu\text{m}$.

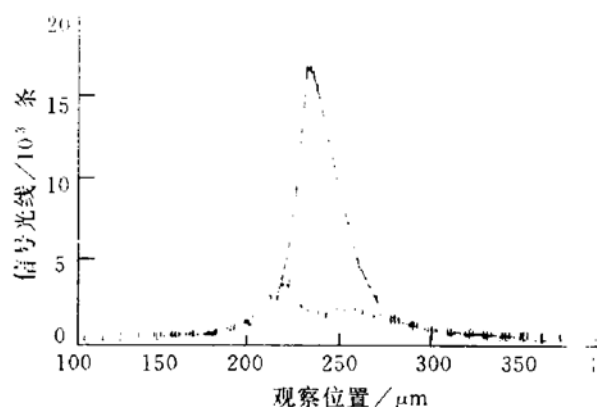


图3 作为观察距离的函数的信号光线
数目与噪声的曲线图

+ — + : 信号光线, □ — □ : 噪声.

出的结果与实际的北京萤火虫复眼组织结构观察到的成象结果非常一致, 重叠象与晶锥末端的距离正好是透明带的宽度, 证明了此复眼模型所形成的重叠象刚好落在视网膜水平. 由图 1 中所标出的观察位置也可以看出, 在位置 1, 观察平面紧靠晶锥末端, 显然, 从晶锥末端出射的光线不可能经过透明带, 因而没有光线重叠的条件, 所以得到的观察平面的光强度分布只是所对应的各个小眼接受的光线 (图 2a). 在位置 2, 观察平面位于透明带之中, 因此在此位置上的重叠象的信噪比是低的, 相应地, 由平行光形成的图象 (模糊圈) 的半宽度也会很大, 进而降低了图象的分辨率. 在位置 3, 即视网膜水平, 这个位置应当是象平面的所在位置, 因此这个位置上信号光线数目达到最大值, 形成的模糊圈的半宽度也最小, 因此所形成图象的分辨率将会达到最佳.

参 考 文 献

- 1 Exner S. Hardie R C translated. The physiology of compound eye of insect and crustaceans. Berlin: Springer, 1988: 52
- 2 Horridge G A. Proc R Soc Lond. 1971; B179: 97
- 3 Horridge G A. Proc R Soc Lond. 1972; B182: 457
- 4 Horridge G A. Proc R Soc Lond. 1969; B171: 445
- 5 Caveney S, McIntyre P. Phil R Soc Lond. 1981; B294: 589
- 6 McIntyre P, Caveney S. Phil R Soc Lond. 1985; B311: 237

- 7 吴卫国, 王谷岩, 冯春华等. 昆虫学报, 1982; 25 (3): 260
8 吴梅英, 田丽娟, 彭连惠. 昆虫学报, 1993; 36 (2): 159
9 吴梅英, McIntyre P. 科学通报, 1994; 39 (18): 27
10 Nilsson D E. J Comp Physiol, 1988; A162: 341
11 Nilsson D E. TINS, 1990; 13: 55

- 12 Warrant E J, McIntyre P. J Comp Physiol, 1990; A167: 785
13 Warrant E J, McIntyre P. J Comp Physiol, 1990; A167: 805

关于吖啶橙测定溶酶体 H^+ -ATPase 转运 H^+ 的研究*

张过江 王 嘉 姚军兰 刘晓麒

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 揭示了吖啶橙的吸收光谱和荧光光谱对其浓度依赖性上的区域性特征, 分析了测定溶酶体 H^+ 转运时合理选用吖啶橙浓度及溶酶体用量的重要性、机理和原则, 探讨了其与溶酶体的温育时间和 K^+/H^+ 交换对测定 H^+ 转运的明显影响。

关键词 吖啶橙, 溶酶体, H^+ -ATPase, 质子

吖啶橙是阳离子型的碱性荧光染料, 非质子化的中性分子受跨膜 H^+ 梯度作用可通过生物膜进入酸性囊泡或细胞器内并质子化, 质子化分子难以通过膜而阻留其内使局部浓度增大。由于吖啶橙的吸收峰和荧光峰随其浓度增大而分别蓝移和红移。利用上述性质, 可监测 H^+ 跨膜转运的动态过程, 该方法已用于线粒体^[1]、膀胱内膜^[2]、燕麦根浆膜^[3]及溶酶体^[4-6]的 H^+ 转运测定。已往的国外文献虽论述了其光谱的浓度依赖性, 但从未揭示这种依赖的区域性, 即在不同范围内其浓度变化会引起程度不同的光谱变化, 而光谱变化的显著性决定着测定 H^+ 转运的灵敏度。因此合理选用吖啶橙浓度使其光谱在 H^+ 转运过程中发生显著变化, 是影响该方法灵敏度的关键。另外, 在合理的吖啶橙浓度下, 溶酶体的用量以及启动 H^+ -ATPase 前吖啶橙与溶酶体的共育时间, 溶酶体内的 H^+ 与悬液中的 K^+ 的 K^+/H^+ 交换等因素都明显影响测定效果。文中探讨了上述问题, 有利于对该测定方法的正确运用。

1 材料与方法

1.1 试剂

吖啶橙 (acridine orange, AO) 和 ATP 为进口分装试剂; N-ethylmaleimide (NEM) 和 carbonyl cyanide m-chlorophenyl-hydrazone (CCCP) 为 Sigma 试剂; 其他为国产分析纯试剂。

1.2 AO 吸收谱和荧光谱对 AO 浓度依赖性的测定

测定系列 AO 水溶液浓度的吸收谱和荧光谱, 将各吸收谱转换为摩尔消光系数谱; 把各 [AO] 的荧光 λ_{em}^{max} 对 [AO] 作图, 得到随 [AO] 加大其荧光 λ_{em}^{max} 红移的关系图; 将各 [AO] 的样品在 530nm 处单位浓度 AO 的荧光强度对 [AO] 作图, 得到 AO 在 530nm 的荧光强度随 [AO] 加大而衰减的关系图。

* 所长择优课题基金资助。

收稿日期: 1994-03-17, 修回日期: 1994-05-05

Hongyu, Liu Qingliang. (*The National Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Beijing Medical University Beijing 100083*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (6): 532—535

Tb (III) as a fluorescent probe was used to study the surroundings of metal ions in FP (fibrinolytic principle). There is a high affinity site of Ca^{2+} in every FP molecule and Ca^{2+} ions are located near the Trp. When Tb (III)-FP was excited by 222nm and 233nm, it is possible that energy transfer occurs as follows: $\text{Trp} \rightarrow \text{Tb}^{3+}$, $\text{Trp} \rightarrow \text{Tb}^{3+} \rightarrow \text{Phe}$, $\text{Tb}^{3+} \rightarrow \text{Phe}$, $\text{Tb}^{3+} \rightarrow \text{Trp}$. These results indicate that Phe may combine with Tb (III). The results of calculations indicate that the distance between Trp and Tb (III) is about 5.66 Å.

Key words agistrodon acutus, venoms, fibrinolytic principle (FP), fluorescent probe

A Study and Simulation on the Superposition Imaging in the Optical Modeling Compound Eye of Beijing Firefly. Wu Meiyong, McIntyre D. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (6): 535—539

The dioptic system of compound eye of Beijing firefly was simulated on the basis of the real parameters measured from its structure physiology and its known GRIN lens properties. The size of the model and values of refractive index were based upon the measured values of actual compound eye. It was proved that the compound eye of Beijing firefly was a refracting superposition eye by the computer ray tracing model of the compound eye. Parallel light rays incident through the superposition aperture were focussed across the clear zone onto the retina and formed a blur-circle with a certain half-width value. The number of signal

light rays and the ratio of signal and noise were increased as the distance to the image plane from exocone proximal tip were increased. The maximum was at the retina level.

Key words compound eye of Beijing firefly, optical model, superposition image

Study of the Measurements with Acridine Orange in Protons Transportation of Lysosome H^+ -ATPase. Zhang Guojiang, Wang Jia, Yao Junlan, Liu Xiaoqi. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (6): 539—543

The different range characteristics of acridine orange in absorption and fluorescence is dependent on its concentrations. The importance and mechanism as well as principles of choosing correct acridine orange concentration and rational amounts of lysosome in the assay of protons pumping are discussed. The obvious influences of the incubation time of acridine orange with lysosome and the K^+/H^+ exchange upon the measurements of proton transport are studied.

Key words acridine orange, lysosome, H^+ -ATPase, proton

Stains-all staining Assay for Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Activity. Zhang Jun, Lin Zhoukun. (*Department of Biology, Nankai University, Tianjin 300071*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (6): 544—546

A polyacrylamide gel electrophoresis-stains-all staining assay for terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) activity in purified TdT and leucocytic homogenate of normal and leukemic patients has been developed. The results show that stains-all [(1-ethyl-2-[(3-(1-ethyl-naphtho