

文章编号: 0253-2239(2002)09-1123-06

细菌视紫红质膜快速光开关的实验研究^{*}

杨文正¹⁾ 陈 烽^{1),2)} 冯晓强¹⁾ 杨 青¹⁾ 侯 洵^{1),2)}

(1), 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
(2), 西安交通大学电子科学与技术系, 西安 710049

摘要: 建立了“脉冲激光-连续探测光-连续擦除光”的实验系统。在 532 nm 的调 Q 脉冲激发光 and 不同波长的连续探测光作用下, 研究了细菌视紫红质(BR)膜的光循环过程中的快速响应特性及各中间态的快速光吸收特性。观察到了微量量级的快速光开关现象, 并分析了激发光脉冲作用结束时, 各中间态上细菌视紫红质分子的分布。

关键词: 细菌视紫红质; 光循环; B 态和 K 态; 光开关; 快速响应

中图分类号: O438

文献标识码: A

1 引 言

细菌视紫红质是嗜盐菌细胞膜内的一种光敏蛋白质, 是一种新奇的光能转换分子, 具有光驱动质子抽运的功能, 相当于光驱动质子泵, 利用光能驱使质子从细胞内抽运至细胞膜外, 从而形成重要的电化梯度^[1]。伴随着质子抽运过程, 当细菌视紫红质分子吸收一个光子, 将发生一个复杂循环的结构改变, 称为光循环。由于细菌视紫红质薄膜材料便于制备并作为一种光生物材料具有极好的光致变色特性和光循环特性, 而其宽的光谱范围(400 nm~700 nm)、高的分辨率(5000 l/mm)、高感光灵敏度(10^{-3} J/cm²)、高循环次数(10^6 次)、高量子效率(64%)^[2,3]、热和化学稳定性好、材料来源不受限制等独特性质更使得它在光信息处理和光存储领域^[3~5]有很大的潜力和广泛的应用前景, 已被用于实时光学信息处理、光电转换、光学图像识别, 空间光调制器以及分子电子器件等方面。

由于细菌视紫红质光循环形成的第一个中间态 K 态的光异构化过程非常短(皮秒量级), 且光能贮存于细菌视紫红质分子中, 因此可以利用 B 态和 K 态之间超快的光致变色特性来实现超快光子开关操作, 使菌紫质作为超快光学器件成为可能。通过研究 B 态和 K 态之间的快速响应过程对于将来充分开发利用细菌视紫红质分子作为光学信息储存介质

和快速光电探测器、快速光子开关等具有重要意义。

2 理论分析

当细菌视紫红质受光照射时, 分子中的生色团——视黄醛在光刺激下产生快速的从全反到 13 顺的光异构化, 视黄醛分子与细胞膜的蛋白链相连接的希夫碱基与其平衡离子的化学键被打开, 电子云密度迅速极化, 这个最初光异构化过程经 430 fs 即可完成^[6], 产生不稳定的 J 中间态, 然后通过热弛豫, 历经 K、L、M、N、O 等中间态再回到基态 B, 完成一次光循环, 其过程如图 1 所示。

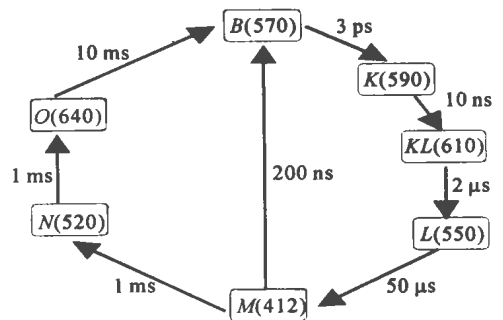


Fig. 1 Schematic diagram of photocycle of BR

室温下一个光循环在 10 ms 内完成, 在此光循环过程中, 先后形成的一系列中间产物, 它们都有不同的吸收光谱、寿命及热稳定性, 并且部分中间态在其对应的吸收带内波长的光激励下能可逆地通过光化学反应直接返回到 B 态^[1]。当细菌视紫红质分子吸收光子, 部分分子即可由基态跃迁到某一个中间态, 使细菌视紫红质分子处于两个不同的态(基态与中间态), 两态的吸收峰位于不同的波长处, 此转

^{*} 国家攀登计划“九五”预选项目(95-预-20)、国家自然科学基金(69907006)、中国科学院创新方向性项目资助课题。

换即是实现开关操作的实验依据^[7,8]。

由于 K 态只能在 90 K 低温环境中稳定存在,且在皮秒量级内变化,室温下不易探测。因此我们先利用激发光将细菌视紫红质分子激发到某一个中间态,建立起一个基态 $\rightleftharpoons$ 中间态的光循环平衡过程。选取合适的激发光波长和强度及探测光波长,使这个光循环平衡过程尽量保持在 B 态与 K 态或 B 态与其它快速响应的中间态之间,并期望用光电探测器能够及时准确地探测到这一中间态。

细菌视紫红质分子在连续紫光和探测光的照射下及窄脉冲的激发光的共同作用下,可以认为大部分分子停留在某一中间态(用 Z 态表示)上。 Z 态可以是光循环中的任意一个中间态,也可以认为是细菌视紫红质分子在各个中间态上分布的一个等效态。这样相当在基态 B 态和 Z 态之间建立一光循环,将细菌视紫红质分子能级系统简化为二能级系统(如图 2 所示)。

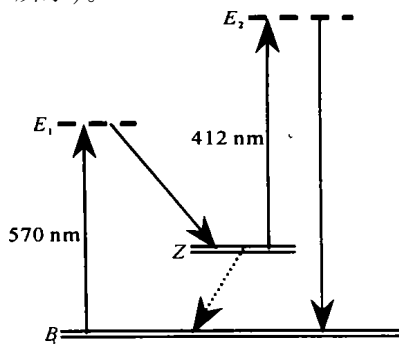


Fig. 2 Simplified energy level diagram of BR

根据简化的细菌视紫红质能级图,当波长和光强分别为 λ_i 和 $I(\lambda_i)$ ($i=1, \dots, n$) 的光照射在细菌视紫红质膜上,每束光均可导致细菌视紫红质分子正向($B \rightarrow Z$)和逆向($Z \rightarrow B$)的光反应,此时细菌视紫红质分子在 B 态和 Z 态上的分布的分子浓度随时间变化的微分方程可写为^[9,10]

$$\frac{dC_B}{dt} = \sum_{i=1}^n (-K_i^{B \rightarrow Z} C_B + K_i^{Z \rightarrow B} C_Z) + K_Z C_Z, \quad (1)$$

其中 C_B 和 C_Z 分别为 B 态和 Z 态的摩尔分数, $K_Z = \tau_Z^{-1}$ 为 Z 态的热弛豫速率常数, τ_Z 为 Z 态到 B 态热弛豫时间, $K_i^{B \rightarrow Z}$ 和 $K_i^{Z \rightarrow B}$ 分别为细菌视紫红质分子正向($B \rightarrow Z$)和逆向($Z \rightarrow B$)光反应的反应速率常数,可由下式给出:

$$K_i = \frac{2.3026 \epsilon(\lambda_i) \phi \lambda_i I(\lambda_i)}{N_A c h}, \quad (2)$$

其中 $\epsilon(\lambda_i)$ 为照射光波长 λ_i 处的摩尔消光系数, ϕ 为正向和逆向光反应的量子产额, $I(\lambda_i)$ 为照射光

强度, N_A 为阿佛加德罗常数, c 为光速, h 为普朗克常数。

C_0 为总的细菌视紫红质分子摩尔分数,

$$C_0 = C_B + C_Z. \quad (3)$$

当细菌视紫红质分子达到稳定状态时,正向光反应 $B \rightarrow Z$ 的分子数和逆向光反应 $Z \rightarrow B$ 的分子数相等, $dC_B/dt = 0$, 有稳态解

$$C_B = \frac{K_i^{Z \rightarrow B} + K_Z}{K_i^{B \rightarrow Z} + K_i^{Z \rightarrow B} + K_Z} C_0. \quad (4)$$

将厚度为 d 的细菌视紫红质膜分为 n 层讨论,在厚度为 $\Delta e = d/n$ 的薄层中,满足比尔-朗伯定律。当一束单色光照射在薄层上时,吸收系数为

$$\alpha(\lambda, I) = \sigma_B C_B + \sigma_Z C_Z = 2.3026 [\epsilon_{B \rightarrow Z}(\lambda) C_B + \epsilon_{Z \rightarrow B}(\lambda) C_Z]. \quad (5)$$

透射光强可表示为

$$\frac{dI}{de} = -\alpha(\lambda, I) I = -2.3026 [\epsilon_{B \rightarrow Z}(\lambda) C_B + \epsilon_{Z \rightarrow B}(\lambda) C_Z] I. \quad (6)$$

式中 σ_B 和 σ_Z 表示 B 态和 Z 态在某波长处的吸收截面。

细菌视紫红质分子的 M 态是室温下最稳定的中间态,在光照射下,细菌视紫红质膜被激发的分子中 M 态分子占据主导地位。其激发态吸收光谱就主要表现为 M 态的吸收光谱,即吸收峰在 412 nm,吸收带宽约 50 nm。基态吸收峰为 570 nm,吸收带宽约 100 nm。因此我们先以 $B \rightleftharpoons M$ 模型作为实验参考模型进行分析。

由于 $\epsilon_{B \rightarrow M}(570) \gg \epsilon_{M \rightarrow B}(570)$, 由(5)式、(6)式可得,

$$\left. \begin{aligned} \alpha(570, I_{570}) &= 2.3026 [\epsilon_{B \rightarrow M}(570) C_B], \\ \frac{dI_{570}}{de} &= -2.3026 [\epsilon_{B \rightarrow M}(570) C_B] I_{570}. \end{aligned} \right\} \quad (7)$$

故 570 nm 波长附近,在 B 态吸收带内的光主要引起细菌视紫红质分子由 B 态向 M 态跃迁。随着激发态 M 态分子的增加,细菌视紫红质膜表现出对 M 态吸收带内波长的光吸收增大,透射减小,呈现“关”的状态。

由于 $\epsilon_{M \rightarrow B}(412) \gg \epsilon_{B \rightarrow M}(412)$, 由(5)、(6)式得

$$\left. \begin{aligned} \alpha(412, I_{412}) &= 2.3026 [\epsilon_{M \rightarrow B}(412) C_M], \\ \frac{dI_{412}}{de} &= -2.3026 [\epsilon_{M \rightarrow B}(412) C_M] I_{412}. \end{aligned} \right\} \quad (8)$$

在 412 nm 波长附近, M 态吸收带内的光主要引起细菌视紫红质分子由 M 态向 B 态的跃迁。随着基态 B 态分子的增加,细菌视紫红质膜表现出对 M 态吸收

带内波长的光吸收减小,透射增大,呈现“开”的状态。

这里所说的“开”与“关”状态是指细菌视紫红质膜对被控制的单色光(实验中即探测光)透射度大小的一个相对描述。如果被控制的单色光被抑制,透射减小,我们定义为“关”状态,反之称为“开”状态。

3 实验装置

通过上述理论分析,570 nm 附近的光可起控制光(实验中即激发光)的作用,目的是“打开”或“关闭”细菌视紫红质开关;412 nm 附近的光可起偏置光作用,目的是提高细菌视紫红质开关响应速度。在两束光共同作用下,通过 *B* 态和 *M* 态之间分子的相互跃迁,对被控制光可实现“开”或“关”的操作。参考 $B \rightleftharpoons M$ 模型,实验中采用 *B* 态(570 nm)与 *K* 态(490 nm)吸收峰之间的光作为控制光。

我们首先选用 Spectra-Physics 公司出产的调 *Q* Nd:YAG 激光器(倍频光输出中心波长 532 nm,重复频率 10 Hz,脉冲宽度 10 ns)作为激发光源,来观察纳秒量级的变化。由于中间态 *M* 态的寿命较长,激发到 *M* 态的分子不能够很快返回到基态,因此在激发的同时,增加 Ti:Al₂O₃ 激光器经锁模、二倍频后、出射中心波长为 400 nm 的紫光作为偏置光,目的是在前后两个激发脉冲之间作用,以促使被激发的细菌视紫红质分子尽快返回基态,从而提高细菌视紫红质光开关速度。连续探测光选用 250 W 的卤钨灯经过单色仪 II 获得的所需波长的单色光照射到样品上,在样品后再用单色仪 I 滤除掉探测光以外的杂散光后,用一光电倍增管接收透射信号并送到 Tektronix TDS 620B (500 MHz; 2.5 GS/S)型数字示波器。

实验装置如图 3 所示,三束光同时照射在样品上。激发光出射平均功率为 3 mW,就其单独作用的

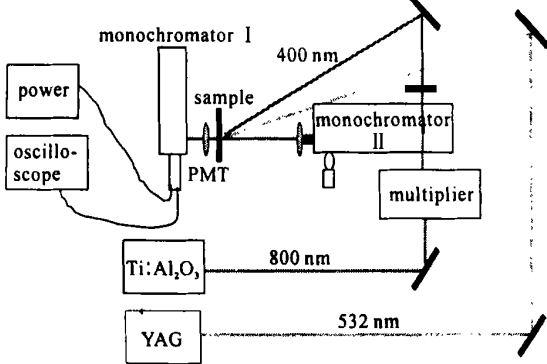


Fig. 3 Schematic diagram of experimental setup for fast optical switch of BR film

一个脉冲来说峰值功率很高,可将照射区域内的细菌视紫红质分子充分激发; 偏置光平均输出功率 14 mW,重复频率 82 MHz,脉冲宽度约 100 fs。由于其重复频率很高,脉宽很窄,实验中可视为连续光照射。

实验样品为野生细菌视紫红质膜,由德国提供,膜厚 30 μm,夹在两片直径 20 mm 的石英玻璃中间。

4 实验结果

4.1 采用固定波长的连续探测光

YAG 激发脉冲将细菌视紫红质分子由基态激发到激发态上,并兼做触发信号。用光电倍增管采集到的波形曲线如图 4 所示,脉冲宽度为 25 μs,上升沿响应时间为 50 ns(图 5)。探测光为卤钨灯经单色仪 II 选出的 520 nm 单色光,照射在样品上进入光电倍增管探测,探测到的上升沿响应时间为 90 ns(图 6)。当激发光脉冲结束后,仍有部分分子处于激发态,并在 400 nm 的紫光作用下,由激发态向基态跃迁。

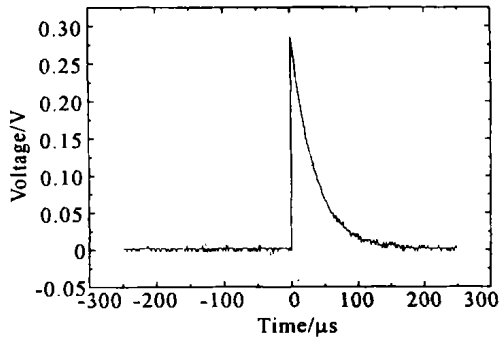


Fig. 4 The curve of YAG laser pulse

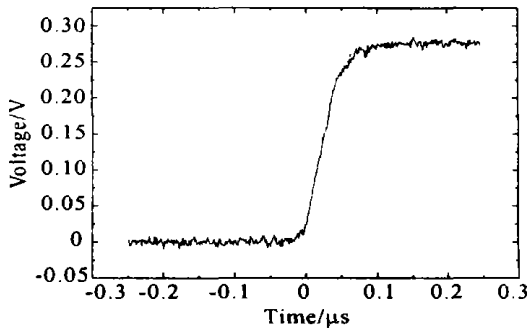


Fig. 5 Response time of YAG laser pulse

由于作为触发信号的激发脉冲较强,因此光电倍增管接收到的探测光中混有激发脉冲光,从而其中叠加了激发脉冲曲线,如图 7 所示,曲线的左边部分为激发脉冲作用前,右边部分为激发脉冲作用后,可以看到激发光脉冲作用前后,样品有较明显的差

异透射。

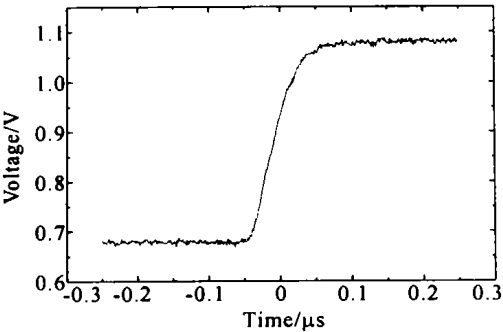


Fig. 6 Response time for probe beam of 520 nm wavelength at rising edge

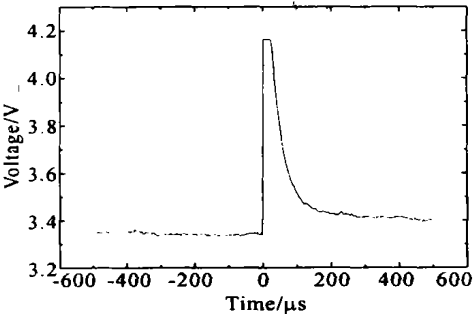


Fig. 7 Experimental result with wavelength of probe beam at 520 nm

4.2 采用不同波长的连续探测光

在 420 nm~620 nm 范围改变探测光波长, 每 10 nm 测一个激发前后样品透射变化曲线, 反映了探测时刻细菌视紫红质分子对不同波长探测光吸收的实际情况, 选取部分曲线为例 (如图 8、图 9、图 10)。定义样品被 YAG 激光脉冲激发前透过幅值 V_{ant} , YAG 脉冲作用后透过幅值 V_{post} 。 V 为相对透过值, 即

$$V = \frac{V_{\text{post}} - V_{\text{ant}}}{V_{\text{ant}}}$$

图 11 为相对透过值随探测光波长变化的曲线。

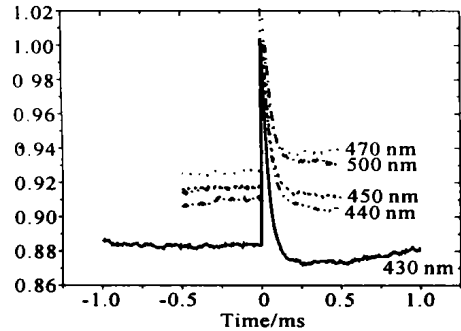


Fig. 8 Experimental result with wavelength of probe beam as 430 nm~500 nm

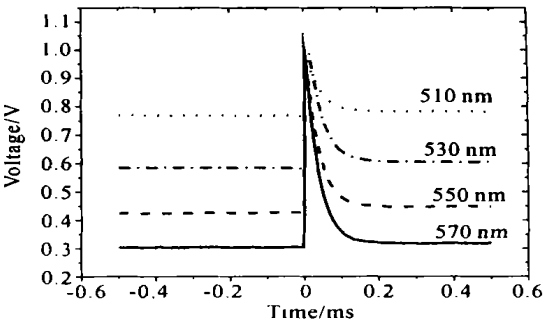


Fig. 9 Experimental result with wavelengths of probe beam at 510 nm~570 nm

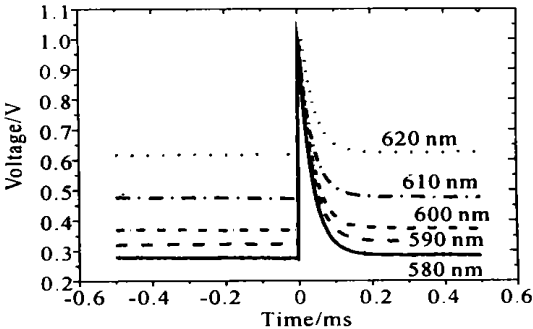


Fig. 10 Experimental result with wavelengths of probe beam at 580 nm~620 nm

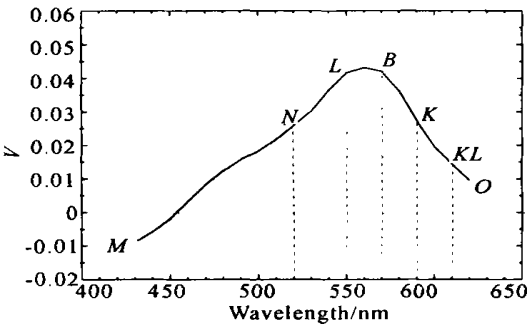


Fig. 11 Relative transmission versus wavelength variation of probe beam

5 分析与讨论

1) 在激发光脉冲作用之前, 探测光相比连续紫外光的强度较弱, 它对细菌视紫红质分子的抽运作用可以忽略。细菌视紫红质膜一直在连续紫外光照射下, 绝大部分分子处于基态。参看图 8~图 10 可知, 在激发光脉冲作用下, 部分细菌视紫红质分子在约 50 μs 的时间内可以完成由基态到激发态的跃迁。其激发脉冲作用前后吸收光谱表现出明显的透过差异。在 430 nm~450 nm 短波段, 激发脉冲作用后探测光的透过幅值比激发脉冲作用前探测光的透过幅值小, $V_{\text{post}} < V_{\text{ant}}$ 。在 450 nm~630 nm 长波段,

激发脉冲作用前后探测光的透过幅值增大, $V_{\text{post}} > V_{\text{ant}}$ 。其机理是, 由于细菌视紫红质分子受激发发生跃迁, 达到光循环平衡时, 基态分子数减少, 激发态上分子数增加, 且不同激发中间态上分子的分布不同, 因此对不同波长的探测光表现出吸收差异。

2) 图 11 给出了相对透过值 V 随探测光波长的变化曲线, 实际表示了细菌视紫红质光开关对于单色仪输出的各单色光的控制程度。

对 430 nm~450 nm 波长段的探测光, $V < 0$, 激发脉冲作用后透过比激发前透过值小, 细菌视紫红质膜对此段探测光的吸收增加, 这是由于此段探测光在 M 态的吸收谱宽范围内, 说明激发脉冲作用后, 部分基态分子迅速被激发到 M 态, 使 M 态分子增加的结果。

对 450 nm~630 nm 波长段的探测光, $V > 0$, 激发脉冲作用后比作用前透过值大, 细菌视紫红质膜对此段探测光的吸收减少。这是由于大部分细菌视紫红质分子被激发到 M 态, 基态和其它中间态分子减少。尤其 YAG 脉冲激发光较强, 大部分细菌视紫红质分子处在激发态上, 基态上的分子较少, 对应 570 nm 附近的探测光, 相对透过值最大。在细菌视紫红质分子光循环过程 $B(570) \rightarrow K(590) \rightarrow L(550) \rightarrow M(412)$ 和 $M(412) \rightarrow N(520) \rightarrow O(640) \rightarrow B(570)$ 两个循环支中, 参看图 1, B 态分子迅速经过 K 态和 L 态弛豫到 M 态需 50 μs 左右, M 态分子经过 N 态到 O 态再返回 B 态需 10 ms 左右, 且 N 态和 O 态的寿命又较长。因此 K 态和 L 态分子相对 N 态和 O 态分子要少, 所以 K 态和 L 态对探测光的透过比 N 态和 O 态值大, 处在相对透过变化曲线上较高的位置, 以 560 nm 处为峰值, 使得 450 nm~560 nm 段呈上升趋势, 在 560 nm~630 nm 段呈下降趋势。弛豫到 O 态的分子返回基态较慢, 因此 O 态分子是除 M 态以外停留较多分子的中间态, 对探测光的吸收相应比 K 、 L 、 N 等中间态大。

3) 图 11 曲线中, 560 nm 波长处相对透过值最大。表明细菌视紫红质光开关对被控制光中 560 nm 波长的光响应灵敏, 可控性好, 可以有效地实行“开”或“关”的操作。

综上分析, 在激发脉冲光的作用下, 细菌视紫红质分子在 50 μs 的时间内可以完成基态到激发态的跃迁, 且主要分布在 M 态、 O 态等较稳中间态上, 因此 Z 态等效于 M 态和 O 态的混合态, 且以 M 态为主, 而快速过程 K 、 L 态上分子较少, 这大大影响了

开关速度。在实验中改变激发光强度, YAG 激光器出射倍频光平均功率 2 mW 时, 激发光脉冲作用前后观察不到差异透过变化。因此在实验中应增加偏置光的强度, 同时在 2 mW~3 mW 之间控制脉冲激发光的强度, 使停留在中间态上的分子在下一个激发脉冲到来时, 尽快返回到基态并抑制中间态和基态之间的热弛豫过程。而且 YAG 的激光脉冲的实际脉宽为 10 ns, 而实际探测到的脉宽为 25 μs (参看图 5), 因此光电倍增管也未能及时探测到在 25 μs 内的跃迁变化过程。因此若要探测到更快的变化过程, 还应提高探测器的时间响应速度及灵敏度。

随着基因技术和化学方法的提高和日益成熟, 使材料的某些特性的到优化和改善。若能得到室温下具有稳定的 K 中间态的细菌视紫红质, 把基于 B 态和 Z 态的光开关实验模型过渡到基于 B 态和 K 态的光开关模型, 这将会给信息的超快处理提供可能。

参 考 文 献

- [1] Birge B R. Nature of the primary photochemical events in rhodopsin and bacteriorhodopsin. *Biochem. Biophys. Acta*, 1990, **1016**(3):293~327
- [2] Birge R. Protein-based optics computing and memories. *Computer* 25, 1992, (11):56~67
- [3] Downie J. Real-time holographic image correction using bacteriorhodopsin. *Appl. Opt.*, 1994, **33**(20):4353~4357
- [4] Werner O, Fischer B. Saturable absorption, "Wave mixing, and phase conjugation with bacteriorhodopsin". *Opt. Lett.*, 1990, **15**(20):1117~1119
- [5] Liu S Y. Light-induced currents from oriented purple membrane. I. Correlation of the microsecond component (B_2) with the $L \rightarrow M$ photocycle transition. *Biophys. J. Biophysical Society*, 1990, **57**(5):943~950
- [6] Nuss M C, Zinth W, Kaiser W *et al.*. Femtosecond spectroscopy of the first events of the photochemical cycle in bacteriorhodopsin. *Chem. Phys. Lett.*, 1985, **117**(1):1~7
- [7] Hampp N, Silber A. Functional dyes from nature. *Pure. & Appl. Chem.*, 1996, **68**(7):1361~1366
- [8] Cehg Feng, Yang Qing, Hou Xun. Bacteriorhodopsin and its applications in the fields of information technology. *Acta Photonica Sinica* (光子学报), 2000, **29**(Z1):263~267 (in Chinese)
- [9] Song Q W, Zhang Chunping, Biomer R. Chemically enhanced bacteriorhodopsin thin-film spatial light modulator. *Opt. Lett.*, 1993, **18**(16):1373~1375
- [10] Thoma R, Hampp N, Brauchle C. Bacteriorhodopsin films as spatial light modulator for nonlinear-optical filtering. *Opt. Lett.*, 1991, **16**(9):651~653

Fast Optical Switch Based on Bacteriorhodopsin Film

Yang Wenzheng¹⁾ Chen Feng^{1),2)} Feng Xiaoqiang¹⁾ Yang Qing¹⁾ Hou Xun^{1),2)}

1), *State Key Lab of transient Optics and Technology, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, The Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068*

2), *Department of Electronic Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049*

(Received 23 July 2001; revised 15 October 2001)

Abstract: An experiment system of “pulsed light-continuous probe-light-continuous erasure light” is built. By using modulated Q pulse light of 532 nm and continuous probe light of different wavelengths, fast photoresponse characteristic of photocycle and photoabsorption of different intermediate based on bacteriorhodopsin (BR) film are studied. Microsecond optical switch is observed and BR molecule distributing of different intermediate is analyzed when the exciting pulse is over.

Key words: bacteriorhodopsin (BR); photocycle; B state and K state; optical switch; fast photoresponse