

# 野生型细菌视紫红质薄膜光谱响应特性的实验研究

杨文正<sup>1</sup>, 侯 洵<sup>1, 2</sup>, 陈 烽<sup>2</sup>, 冯晓强<sup>1</sup>, 杨 青<sup>1</sup>, 李宝芳<sup>3</sup>

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, 陕西 西安 710068

2. 西安交通大学电子科学与技术系, 陕西 西安 710049

3. 中国科学院化学研究所, 北京 100080

**摘 要** 细菌视紫红质(Bacteriorhodopsin, 简称BR)是嗜盐菌细胞膜内的一种光敏蛋白质。BR薄膜材料具有优异的光循环特性和光致变色特性,在光信息处理领域中有广阔的应用前景。文章通过紫外-可见光光纤光谱仪测试野生型细菌视紫红质(BR<sub>WT</sub>)在经过532 nm的YAG激光的泵浦激励后,薄膜对探测光的吸收光谱变化情况来着重讨论BR<sub>WT</sub>的光谱响应特性。采用的样品基态(B态)最大吸收波长均为562 nm,光密度分别为 $OD(WT1)_{562\text{ nm}}=2.04$ ,  $OD(WT2)_{562\text{ nm}}=1.37$ 。实验结果表明,在550~650 nm波长范围内,两个BR<sub>WT</sub>分子膜对探测光随着探测时间的延长均出现吸收增强的现象。利用双 $e$ 指数曲线拟合方法分析出550~650 nm吸收增强的变化过程分为快过程和慢过程,其对应的时间常数BR<sub>WT1</sub>分别约为11 ms和60 s, BR<sub>WT2</sub>分别约为24 ms和35 s。

**主题词** 细菌视紫红质分子膜; 光谱响应; 吸收增强

**中图分类号**: O433.1; O433.5+1

**文献标识码**: A

**文章编号**: 1000-0593(2004)08-0911-03

## 引 言

目前人们发现嗜盐菌的细胞膜上有一种光敏蛋白质分子——细菌视紫红质(Bacteriorhodopsin, 简称BR),它由248个氨基酸和1个生色团——视黄醛组成,具有光驱动质子泵功能<sup>[1, 2]</sup>。当受光照时,分子中的生色团——视黄醛在光刺激下产生快速的从全反结构到13顺结构的光异构化过程,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。室温下一个光循环约十几毫秒完成。在此光循环过程中,先后形成的一系列中间产物,也称为中间态。它们都有不同的吸收光谱、寿命及独特的热稳定性,并且部分中间态在其对应的吸收峰波长的光激励下能可逆地通过光化学反应直接返回到基态,例如M态分子在412 nm光作用下可以直接返回到基态。如图1所示为常用的一个野生BR光循环模型。图中标注了野生BR分子在一个光循环过程中,经历的中间态以及相应的中心吸收波长和态与态之间的光化学反应时间。BR材料具有使用光谱范围宽(400~700 nm)、高的空间分辨率( $\sim 5\ 000\ \text{lines} \cdot \text{mm}^{-1}$ )、高感光灵敏度( $30 \sim 80\ \text{mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ )、快的反应速度( $\sim 50\ \mu\text{s}$ )、高量子转化效率( $\sim 65\%$ )、热和化学稳定性好以及使用寿命长

等特点<sup>[2-4]</sup>,这使得它在信息领域成为研究的热点,有广阔的应用前景。

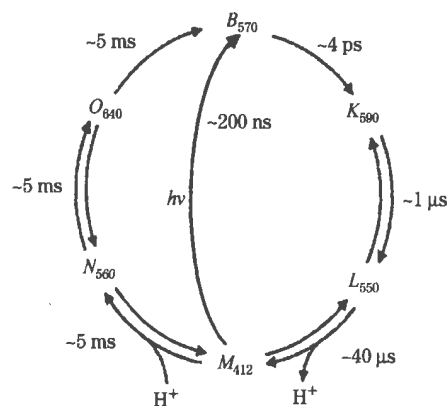


Fig.1 A simplified sketch of the photocycle of bacteriorhodopsin

## 1 实验内容

实验采用的两个样品(文中分别用WT1和WT2表示)为中国科学院化学所培养和制备的野生型细菌视紫红质膜,夹在两层石英玻璃中间。样品的光密度分别为 $OD_{WT1}=$

收稿日期: 2003-05-06, 修订日期: 2003-10-16

基金项目: 中国科学院创新方向性项目(KGCX2-401)基金资助

作者简介: 杨文正,女,1975年生,中国科学院西安光学精密机械研究所助理研究员,博士研究生

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

2.04,  $OD_{WT2}=1.37$ ; 基态 ( $B$  态) 最大吸收波长均为 562 nm。

实验装置如图 2, 激发光源采用 YAG 激光器经二倍频、准直后出射的 532 nm 绿光, 照射到样品上的平均功率密度为  $21.9\text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。探测光源光谱范围 370~700 nm, 平均功率密度为  $19\text{ }\mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。光谱测试仪器为光纤光谱分析仪 (OSA), 波长范围 190~950 nm, 可实时监测样品的吸收光谱变化。显微物镜耦合探测光进入光谱仪光纤头。

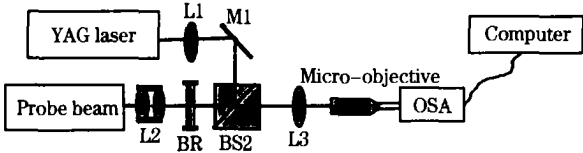


Fig.2 Experiment setup for spectra response with BR-film

2 实验结果与讨论

以未经光照作用的样品对探测光的绝对吸收量为参考基准值(在相对吸收模式下, 表现为一条 0 基准线), 测试样品经激发光充分作用后, 激发区域对探测光的相对吸收变化量  $\Delta A$ , 结果如图 3 和图 4 所示。曲线在“0 基准线”以下部分, 表

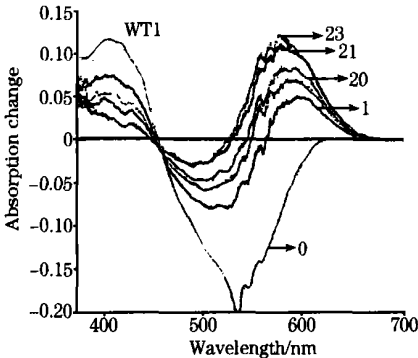


Fig.3 The spectra response curves of the BR<sub>WT1</sub> film

The No.0 spectra curve was obtained before the moment of turning off the laser. By OSA, the No.1-No.20 spectral curves were obtained by every 3 seconds after turning off the laser and the No.21-No.23 spectral curves were obtained every 60 seconds without probe beam

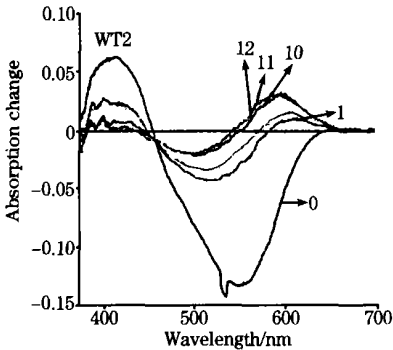


Fig.4 The spectra response curves of the BR<sub>WT2</sub> film

The No.0 spectrum curve was obtained before the moment of turning off the laser. By OSA, the No.1-No.10 spectral curves were obtained every 3 seconds after turning off the laser and the No.11 and No.12 spectral curves were obtained every 60 seconds without probe beam

示对探测光呈现“相对负吸收”, 即绝对吸收量减少, 其绝对值越大则绝对吸收量减少得越多。相反, 曲线“0 基准线”以上部分, 表示对探测光呈现“相对正吸收”, 即绝对吸收量增加, 其绝对值越大则绝对吸收量增加得越多。

选取双  $e$  指数递增拟合公式,  $A = A_0 + A_1(1 - e^{-t/\tau_1}) + A_2(1 - e^{-t/\tau_2})$ , 对 580 nm 波长处的相对吸收变化值随时间变化的实验值进行曲线拟合。

通过对上述实验结果的分析可得到以下结论:

(1)参考图 3 和图 4 中的 0 号曲线, 在激发光作用下, 390~440 nm 波长范围内出现了正吸收现象, 其最大吸收峰为 410 nm; 在 460~630 nm 波长范围内出现负吸收现象, 其最大吸收峰在 550 nm 附近。根据 BR 分子的光循环特性可知, 前者对应经激发光激励后的激发态  $M$  态分子的吸收带, 后者对应基态  $B$  态分子的吸收带。其余曲线的吸收值变化趋势对应了当基态与激发态之间的变化达到平衡状态时, 关闭激发光但保留探测光。随着测试时间的延长, BR 分子膜对探测光的相对吸收变化量, 在 390~440 nm 波长范围内呈减小趋势, 460~630 nm 范围呈增大趋势, 并且主吸收峰向短波长方向有漂移, 例如图 3 中样品 WT1 的 1~23 光谱响应曲线。在 460~630 nm 范围内, 曲线 1 对应  $\lambda_{\text{max}}=594\text{ nm}$ , 240 s 后的曲线 23 对应  $\lambda_{\text{max}}=579\text{ nm}$ 。而关闭探测光后, 光谱变化不大。

(2)由拟合参数表 1 可以看出, 样品经激发光激励后, 在 550~650 nm 范围吸收增强的变化过程分为快变化过程和慢变化过程, 其对应的时间常数 WT1 分别约为 11 ms 和 60 s, WT2 分别约为 24 ms 和 35 s。说明两个样品的快变化过程在 ~30 ms 内进行, 慢变化过程在 ~60 s 内变化将趋于稳定, 见图 5。

Table 1. The table of the fitting parameters

| 参数                | WT1       | WT2      |
|-------------------|-----------|----------|
| $A_0$             | -0.082    | -0.098   |
| $A_1$             | 0.111 27  | 0.088 73 |
| $\tau_1/\text{s}$ | 0.011 11  | 0.023 73 |
| $A_2$             | 0.084 11  | 0.036 76 |
| $\tau_2/\text{s}$ | 59.419 45 | 34.253 4 |

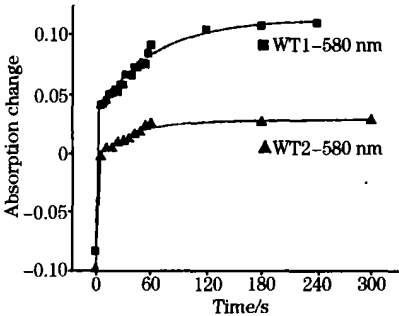


Fig.5 The probe datum of the absorption change at 580 nm and the theoretical fit curves by two exponentials

(3)WT1 样品的光密度大于 WT2 样品的光密度, WT1 的快过程时间常数大于 WT2 的, 慢过程的时间常数小于

WT<sup>2</sup> 的。说明野生 BR 样品经光激励后的吸收增强变化过程与样品的光密度有一定的关系。

从光谱上体现的吸收变化量  $\Delta A(\lambda, I)$  的变化和稳定性反映了野生 BR 样品经过激发光激励后的热弛豫过程中, 在

550~600 nm 波长范围出现吸收增强的现象, 样品吸收增强现象变化过程与样品本身的光密度值大小有一定关系, 其作用机理还需进一步研究。弄清这个过程出现的机理对进一步研究 BR 分子材料在信息处理领域中的应用有很大的意义。

## 参 考 文 献

- [1] Wang C H, Bacon M, Kar A K, Wherrett B S, Baxter R L. J. Opt. Soc. Am. B, 1997, 14(9): 2304.
- [2] Hampp N, Silber A. J. Pure & Appl. Chem., 1996, 68(7): 1361.
- [3] Butt H J. European Biophysics Journal, 1990, 19: 31.
- [4] Zeisel D, Hampp N. J. Phys. Chem., 1992, 96: 7788.

# Study on the Spectrum Response Characteristic Based on the Wide Type Bacteriorhodopsin Film

YANG Wen-zheng<sup>1</sup>, HOU Xun<sup>1, 2</sup>, CHEN Feng<sup>2</sup>, FENG Xiao-qiang<sup>1</sup>, YANG Qing<sup>1</sup>, LI Bao-fang<sup>3</sup>

1. State Key Lab of Transient Optics and Technology, Xi'an Institute of Optics & Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068, China
2. Department of Electronic Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China
3. Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

**Abstract** The photochromic retinal protein bacteriorhodopsin (BR) was found in the cell membrane of the Archaeal Halobacterium salinarum. The excellent photochromic and photocycle properties of the BR provide the possibility of many applications in the filed of optical information processing. In this paper, the spectrum response characteristic of the wild type bacteriorhodopsin molecule film was studied by using pump-probe method. After the samples was excited by 532 nm YAG laser beam, the absorption spectra were probed by an optical fiber spectrum analysis (OSA). The absorption peaks at the ground state (*B* state) of the two samples are all at 562 nm wavelength. At 562 nm wavelength, the optical densities (*OD*) of the samples are about  $OD(WT1)_{562\text{ nm}} = 2.04$  and  $OD(WT2)_{562\text{ nm}} = 1.37$  respectively. The experiment results show that BR<sub>WT</sub> films have absorption that appears to strengthen with the probe time increasing in wavelength 550-650 nm, and this change phenomenon is described by spectra measured at different probe time. Applying the theoretical plot-fit of two exponentials to analyze the process of the absorption change it is found that this change includes two processes-fast process and slow process. Their corresponse time constants of BR<sub>WT1</sub> are about 11 ms and 60 s, and those of BR<sub>WT2</sub> about 24 and 30 s respectively.

**Keywords** Bacteriorhodopsin molecule film; Spectrum response; Absorption increasing

(Received May 6, 2003; accepted Oct. 16, 2003)