

生質光電材料介紹

Introduction of Optoelectronic Biomaterial

楊佩芬

工研院材化所(MCL/ITRI) 研究員

細菌視紫紅質(bacteriorhodopsin : bR)是一種生質光電材料(optobioelectronic materials)，存在於Halobacterium salinarium極端嗜鹽菌紫色細胞膜(purple membrane : PM)，屬於一種光驅動質子幫浦(light-driven proton pump)蛋白質。細菌視紫紅質的結構顏色會隨著光照產生基態 (B) 及中間態 (J、K、L、M、N、O)等變化後，將細胞內的質子傳輸到細胞外，然後再返回初始狀態 (B)，以完成一次光循環(photocycle)。因此細菌視紫紅質是一種具有光敏感蛋白質分子，具有將光能轉換成化學能的光驅動質子幫浦的能力與特殊的光循環機制，且其在生物體外具有穩定性高、不容易失去活性及無環境污染的顧慮等特性，使細菌視紫紅質成為新興感光奈米生物材料。目前的應用研究包括了數據儲存器、光學圖像訊息的讀取和儲存、光開關(optical switch)、光計算(optical computing)及光電探測器等研究。

Bacteriorhodopsin (bR), existed in Halobacterium salinarum membrane, is an outward light-driven proton pump that can easily be considered as an optoelectronic biomaterial. On light excitation, bacteriorhodopsin responses with a sequence of photochemical reactions in a cyclic manner, passing a series of intermediates (J, K, L, M, N, O) before returning to original state (B). During the cycling photochemical reaction, bacteriorhodopsin transports one proton from the cytoplasm to the extracellular medium. By taking advantage of the natural instant response and the light-induced color change of bacteriorhodopsin, many conceivable applications have been derived in the area of associative memories, holographic storage, light switching, and motion detection.

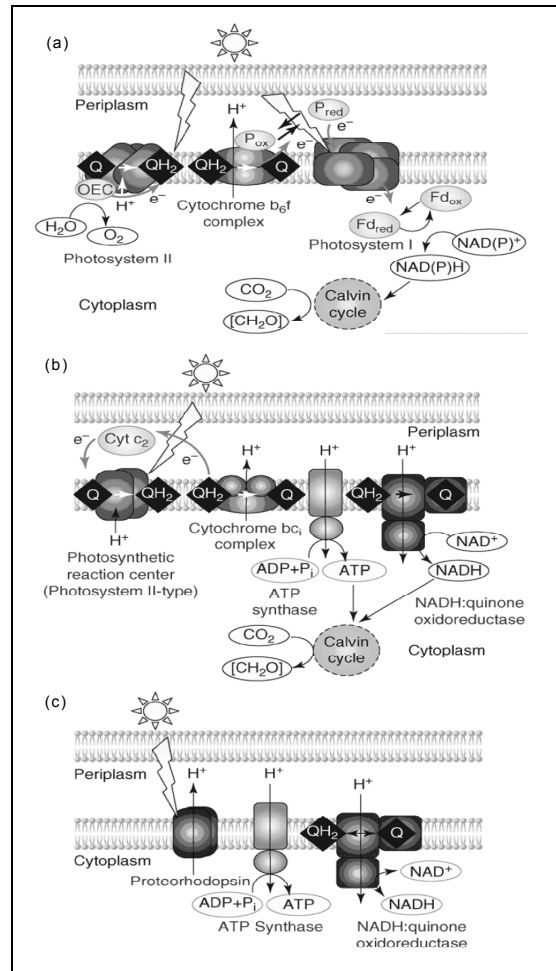
關鍵字/Key Words

光致變色蛋白質(photochromic protein)、細菌視紫紅質(bacteriorhodopsin)、視黃醛(retinal)

一、前言

地球上的生物所需要的能量和訊息都來自於太陽的光能，自然界在進化中形成了三種直接利用光能完成生理功能的生物機制，它們都是藉由改變色素(pigments)的含量和種類及光合作用蛋白質複合體等方式，以適應環境中不同氧氣濃度與日照條件的差異。其中最為熟知的是(1)藍細菌(cyanobacteria)、微藻(microalgae)及植物的光合作用系統，是由二個光合系統進行的有光光合作用(圖一a)；(2)在厭氧微生物中所發現的單一光合系統的厭氧光合作用(圖一b)；(3)構造與組成較前兩者簡單的單一蛋白質系統，具有光致變色的特性(圖一c)，主要成份為視紫紅質(rhodopsin)，與動物視網膜上的感光物質視紫紅質有許多相似之處。視紫紅質至少有四種視網膜蛋白質(retinal protein)⁽⁵⁾：(1)光驅動氫離子幫浦之細菌視紫紅質(bacteriorhodopsin；bR)；(2)光驅動氫離子幫浦之嗜鹽視紫紅質(halorhodopsin；hR)；(3)具有受光調控的光感受器之感官視紫紅質(sensory rhodopsin；sR或sR-I)；(4)為受光調控之負光趨動性光感受器(phoborhodopsin；pR)或稱感官視紫紅質II(sensory rhodopsin II；sR-II)。

在光致變色細菌利用光能維持生存的細菌光合作用中，以嗜鹽菌紫膜上的細菌視紫紅質的光驅動質子幫浦機制最具代表性。於光照條件下，細菌視紫紅質發生異構化，將細胞內質子輸送到胞外，形成離子梯度，繼而轉化此電位差能量為生物化學能(ATP)以維持生存。細菌視紫紅質主要由跨膜型蛋白質(transmembrane protein)視紫紅質與發色團視黃醛所組成。視黃醛受光驅動造成異構化



▲圖一 微生物中光驅動程序示意圖⁽⁴⁾
(a)有光光合作用；(b)厭氧光合作用；
(c)光驅動質子幫浦

反應，誘導視紫紅質構型改變，以催化質子從胞內輸送到胞外的反應，或是作為細胞感測或溝通的訊號傳遞⁽⁴⁾，最後視紫紅質之構型會回復為最初之狀態，即完成了一個光循環(photocycle)程序。其中以細菌視紫紅質的光循環程序所花費的時間最為短，約為10ms⁽³⁾，且其具有光驅動質子的能力，在光循環的過程中，細菌視紫紅質將光能轉化為電化學梯度，其細胞利用此電位差合成ATP，以提供其它生理活動所需的能量。

由親緣關係分析結果顯示，光感受器之感官視紫紅質sR-I與sR-II主要由質子幫浦細菌視紫紅質所演化而來，其中sR-II亦具有光循環特性，但相較於細菌視紫紅質，其光週期至少慢100倍，且sR-II並不具有質子幫浦的特性⁽⁶⁾。因為細菌視紫紅質為目前所知光週期最快，並且具有光趨動質子幫浦的能力，使此類智慧型材料 (smart material) 在光電應用領域開發研究上極具潛力。

二、細菌視紫紅質來源與特性

(一)來源

細菌視紫紅質(bR)是一種新型的生物光學材料，它由加州大學舊金山分校的Stoeckenius與馬克斯普朗克生物化學研究所的Oesterhelt發現⁽⁷⁾，細菌視紫紅質存在於嗜鹽菌屬鹽桿菌的細胞膜中，在炎炎烈日下會形成片片紫斑，因而其膜產物被稱為紫膜，而這變色的功能主要源自於細菌視紫紅質。科學家因最初發現它的光電特性和光漂白過程類似於人類視網膜中的視紫紅質，因而賦予其名。

(二)組成

細菌視紫紅質由248個胺基酸和一個發色團所組成，分子由視蛋白和發色團視黃醛所組成(圖二)，視蛋白由7個跨膜 α 螺旋胜肽鏈(ABCDEFG)圍繞成的質子通道，其中CDEFG與發色團起一連系質子傳遞的反應，以C螺旋胜肽鏈上的Asp85與Asp96起關鍵作用，中間的視黃醛分子由六碳的beta-ionylidene環與烯鍵構成，一端藉由質子化的希夫鹼(Schiff-base)與G螺旋胜肽中的Lys216殘基的N原子

上。質子由胞內側向胞外側傳導共需要5個主要步驟：(1)視黃醛異構化，Schiff-base進行去質子化，Asp85殘基被質子化；(2)質子釋放到胞外；(3)Asp96去質子，Schiff-base被質子化；(4)Asp96重新從胞內獲取質子；(5)視黃醛恢復構型(圖三)，Asp85去質子化，而靠近胞外側的質子釋放基團重新質子化，以完成質子由胞內傳輸的胞外過程。

(三)光循環

細菌視紫紅質的光電響應和光色響應聯繫在一起(圖四)，質子傳輸的過程必定伴隨著一個光循環，視黃醛發色團的構型分為全反式(all-trans)光適應狀態及13順式(13-cis)暗適應狀態兩種。當細菌視紫紅質分子初始B態(吸收峰570nm)吸收光能後，視黃醛先發生從全反式到13-順式的光致異構化過程，形成M中間態(吸收峰：410nm)。由B態(基態)到K態(吸收峰620nm)；在激發態的勢能面上，細菌視紫紅質分子很快從Frank-codon區域移開，並沿C13-C14雙鍵發生扭轉異構化。在低光強照射下，經歷視黃醛構型為13-順式的K、L、M、N態和全反式的O態之轉變，最後返回到具有全反式視黃醛構型的基態B態，而完成一個光循環。細菌視紫紅質的光循環為B→K→L→M→N→O→B，與L態、O態相對應的吸收峰分別位於550nm、640nm。從B態經光激發到高能態，再躍遷到M態的時間相當短(約50 μ s)，可近似視為由B態直接躍遷到M態，而N、O態在經過M、N態所需時間較長容易操控。M態的躍遷時間可以通過多種途徑來調節，從幾十毫秒到幾小時，因此可以滿足不同應用的需要。除了主要的光循環外，還存在分支光循環，路徑為O→P→Q→B。在

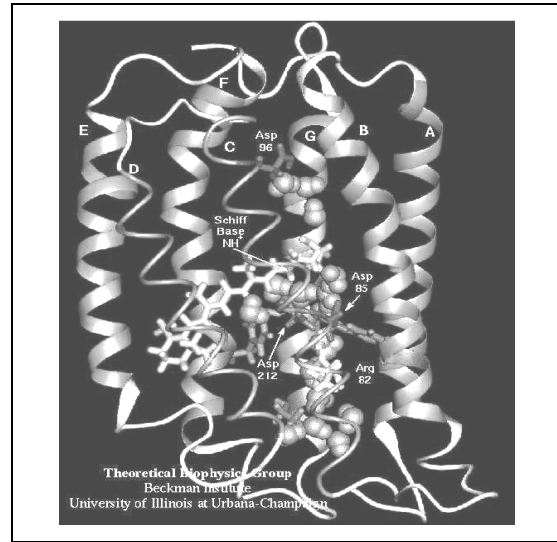
深紅光照射下，一小部份處於O態的細菌視紫紅質分子的視黃醛構型由13-順式轉變為9-順式，接著被激發到P態，然後轉變為具有9-順式構型的Q態，而Q態經藍光照射可返回初始的B態。P態在衰減為Q態前的壽命為分鐘或更長，而Q態的壽命為5~20年。B態和Q態的這種特性為蛋白質用於長期訊息儲存提供了可能，因此近年來，分支光循環及其中間態P態和Q態引起了人們的關注。

(四)細菌視紫紅質光致變色性質的改善

影響細菌視紫紅質光致變色性質的因素，包括質子傳輸路徑、視黃醛的化學組成、視黃醛作用的胺基酸、細菌視紫紅質本體蛋白質的改變、外部環境及反應物等。細菌視紫紅質性質改變的方法包括化學法之化學添加劑、化學修飾及添加不同的視黃醛相似物，或利用基因工程的方法改變胺基酸的種類，或利用物理的方法由改變電場、磁場及pH值來改善⁽³⁾。

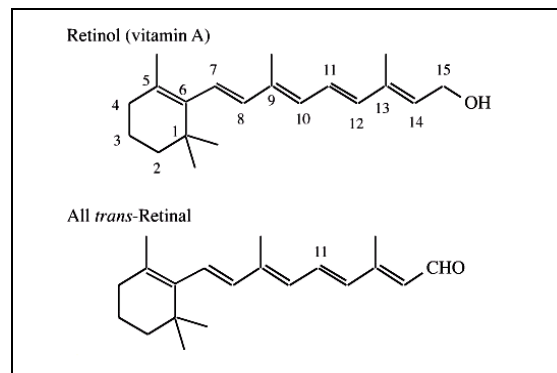
三、細菌視紫紅質應用

由於細菌視紫紅質受光激發後具有物理光學性質改變及質子輸送等特性，使得許多潛在光電材料應用可行方案，在研究領域內被廣泛地討論⁽³⁾。在質子輸送的部份，可應用於化學能ATP的生產、海水淡化及太陽能轉換為電能。在光電性質的部份，可應用於超快光偵測、人造視網膜及移動偵測。在光致變色(photochromic)性質，則可應用於訊息的儲存及處理，包括2D及3D的儲存、全影像儲存、聯結記憶等。



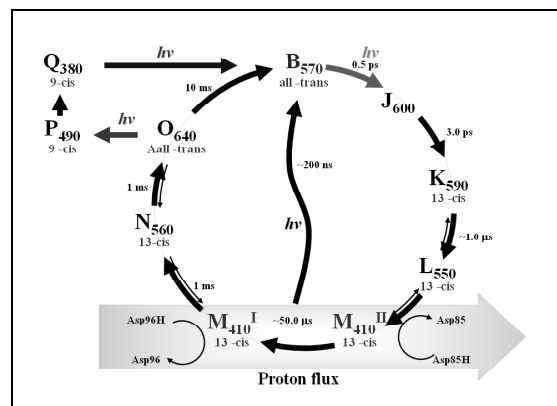
▲圖二 細菌視紫紅質蛋白質結構示意圖
(彩圖請見目錄)

(http://www.ks.uiuc.edu/Research/newbr/br_fig.html)



▲圖三 維生素A及視黃醛化學結構

(http://www.meta-synthesis.com/webbook/17_photo/photo.html)



▲圖四 細菌視紫紅質分子光循環圖⁽³⁾

(一)數據儲存器

由於細菌視紫紅質的光循環過程中，經歷了不同的中間體過程，伴隨相對應的物質結構變化，基於細菌視紫紅質的蛋白光學記憶體，可以被製成薄膜光致變色記憶體、三維分支光循環記憶體、全息二進位記憶體或傅立葉變換全息聯想記憶體。藉由O態由紅光進行光活化，則會發生視黃醛由全反式到9-cis的光化學反應，導致Q態(~380nm)的形成，這種中間態相對比較穩定，可以通過調諧激光束，將資訊並行地寫入細菌視紫紅質立方體，然後從立方體中讀取資訊，以建立多波長菌紫質光學資訊儲存記錄、讀出和擦

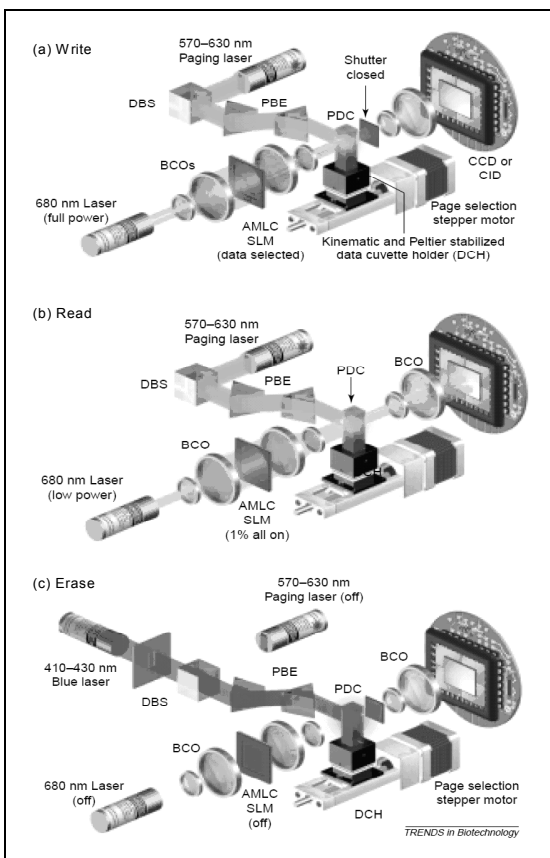
除系統。圖五所示資料讀、寫與擦除系統運作，通過一系列光鏡和光學裝置，以綠色雷射為參照光，啟動蛋白並形成O態，以載入資料資訊的紅色雷射作為「寫入」光，將資料「寫入」細菌視紫紅質蛋白資料儲存態Q；「讀」資料時，只需在「寫」資料的所需裝置之基礎上連入電耦或電荷注入裝置，以綠色雷射為參照光和適當強度的紅色雷射照射，寫入蛋白的資料便可讀出；若以藍色雷射照射，資料即可被刪除。

(二)光電探測器

細菌視紫紅質在光照後能夠產生電信號，是因為光驅動質子幫浦導致離子濃度差，繼而轉換成化學能ATP所致。當細菌視紫紅質在光的激發會發射出質子，從而產生出可以檢測的微小電信號，當在某個頻率的光照射下，它發射出來的信號強度隨介質的酸度增加而減弱；而另一頻率的光則可以使它對氫離子的濃度敏感，利用這種性質可檢測介質的酸度和氫離子的濃度。

(三)光電計數器

細菌視紫紅質在光學信息處理等方面已有廣泛的應用研究，主要為當細菌視紫紅質的二價陽離子結合位處的二價陽離子(Ca^{2+} , Mg^{2+})被去除後，細菌視紫紅質的顏色變為藍色，同時也改變吸收光譜。藍膜在603nm吸收峰附近波長光照射下轉變為粉紅膜，粉紅膜在無光照的情況下極為穩定；粉紅膜經380nm吸收峰附近波長光照後，亦可返回藍膜。將細菌視紫紅質材料與微弱信號檢測技術和單片機技術結合，可製成在強背景光條件下，進行光電計數測量的裝置。



▲圖五 bR-based 光學記憶體之讀、寫、刪除示意圖⁽⁹⁾

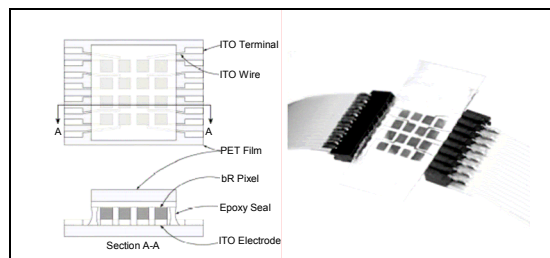
(四)光計算機的基本元件

在光循環中，細菌視紫紅質分子經O態後恢復到基態B，但用紅光照射O態細菌視紫紅質分子時，O態會轉變為P態，P態很快會轉變為Q態，Q態會呈現非常穩定的狀態，直到藍光照射後，再由Q態轉變為B態。因此B態與Q態的細菌視紫紅質，可用於二進制的0或1。

(五) 仿生視覺感官軟性影像陣列

(flexible imaging arrays)

視覺是一種存在於無數生物體中很普遍的感官系統，負責提供週遭環境的訊息，這是許多科學家努力於設計人造視覺系統的原因。在移動機械人(mobile robotics)與全方位攝影機(omnidirectional cameras)的應用中，需要更有效率的光學流動偵測(estimating optical flow)演算法，但是性能提升主要受到複雜光學投射到一個平面的CCD或CMOS陣列上的感應點限制。反觀生物體的視覺系統，具有簡單非平面且緊密光感受器陣列光學結構。在脊椎動物的單孔眼睛中，光感受器主要分佈在光聚焦的單晶體凹面表面。昆蟲的同位複眼(apposition compound eye)微透鏡陣列分佈在凸面的眼睛表面，每一個微透鏡陣列將光聚焦於光感受器上。近幾年來，有許多利用仿生技術開發的人造影像感測器，主要是利用微透鏡陣列與凸透鏡的原理。因為silicon-base的電子學限制，促使研究員致力於探討生物材料的光致變色性質，以改善目前人造影像感測器的功能、性能、光偵測結構及影像裝置。細菌視紫紅質、PET膜與ITO玻璃組裝成光電池的設備，具有非平面的幾何學性質，可建立半球面或球面的bR-ITO-PET影像陣列(圖六)。



▲圖六 bR-ITO-PET影像陣列裝置示意圖⁽⁸⁾

四、結論

細菌視紫紅質在分子開關的光電或其他應用，到目前為止還無法從研發階段轉向商品化產品，因為不論在價格上或性能上，還是無法與傳統的有機材料相比擬。但是因應石油危機及環保問題，全球致力於尋找石化原料的替代品，以達到永續之目的。由於細菌視紫紅質具有光致變色及不褪色的性質，且其光致變色性質是演化數百萬年來穩定的天然特性，因此細菌視紫紅質具有應用潛力，藉由生物技術的改善，除了提升性質與性能外，更有機會達到具有競爭力的生產成本。

參考文獻

1. 陳秀美和謝謹謙，"Halobacterium halobium紫色細胞膜光電系統的建立"，台灣科技大學碩士論文，94年
2. 徐曉紅和吳敏，"細菌視紫紅質蛋白的光譜分析與光電特性應用"，浙江大學學報，v31, p570, 2004
3. Hampp N., "Bacteriorhodopsin as photochromic retinal protein for optical memories", Chemical Reviews, v100, p1755, 2000
4. Johnson E.T., and Schmidt-Dannert C., "Light-energy conversion in engineered microorganisms", Trends in Biotechnology, v26, p682, 2008
5. Iwamoto M., et al., "Light-induced proton uptake and release of pharaonis phoborhodopsin detected by a photoelectrochemical cell", Journal of Physical Chemistry, v103, p10311, 1999
6. Sudo Y., "Three strategically placed hydrogen-bonding residues convert a proton pump into a sensory receptor", The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v103, p16129, 2006
7. Oesterhelt, D., and Stoekenius, W., "Rhodopsin-like protein from the purple membrane of Halobacterium halobium", Nature : New Biology, v233, p149, 1971
8. Wang, W.W., Knopf, G.K., and Bassi, A.S., "Toward mimicking biological vision with protein-based flexible imaging arrays", The International Society for Optical Engineering
9. Wise, K.J., Gillette, N.B., Stuart, J.A., Krebs, S.M., and Borge, R.R., "Optimization of bacteriorhodopsin for bioelectronic devices", Trends in Biotechnology, v20, p387, 2002