

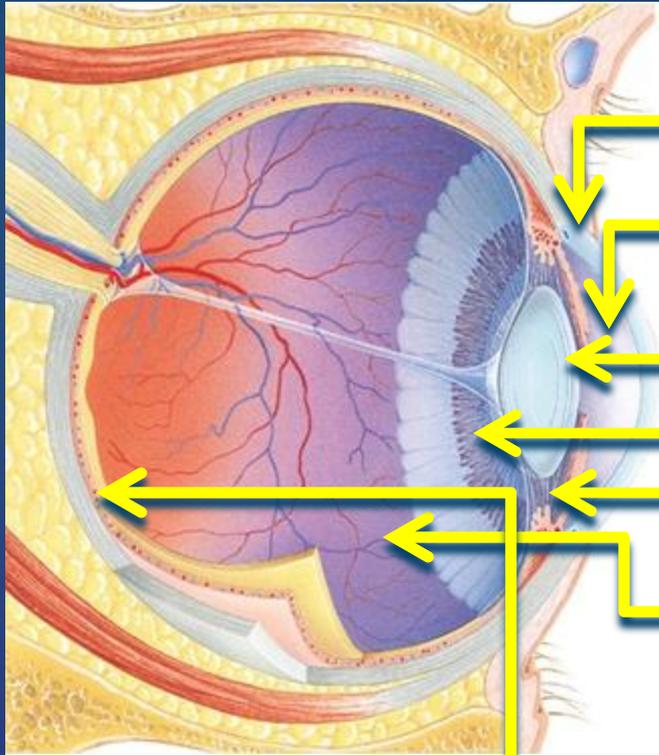
# Фотофизические основы зрения

Человек получает 70% всей информации об окружающем мире с помощью зрения.

-восприятие света, его цветовой гаммы и ощущение пространства.

-благодаря тому что орган зрения является парным и подвижным, зрительные образы воспринимаются объемно, т. е. не только по площади, но и по глубине.

# Структура органа зрения



Роговица

Передняя камера

Хрусталик

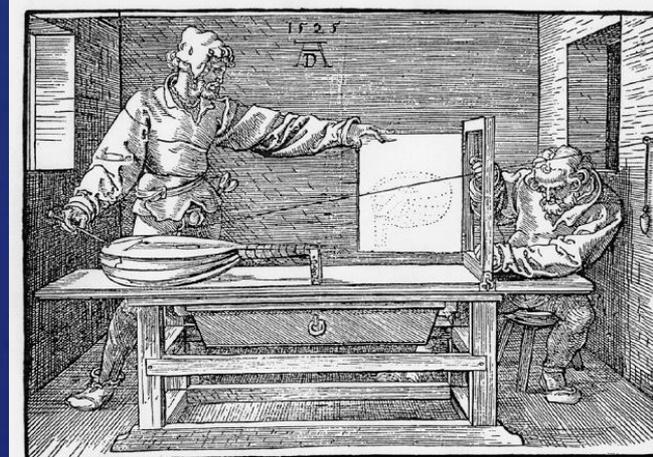
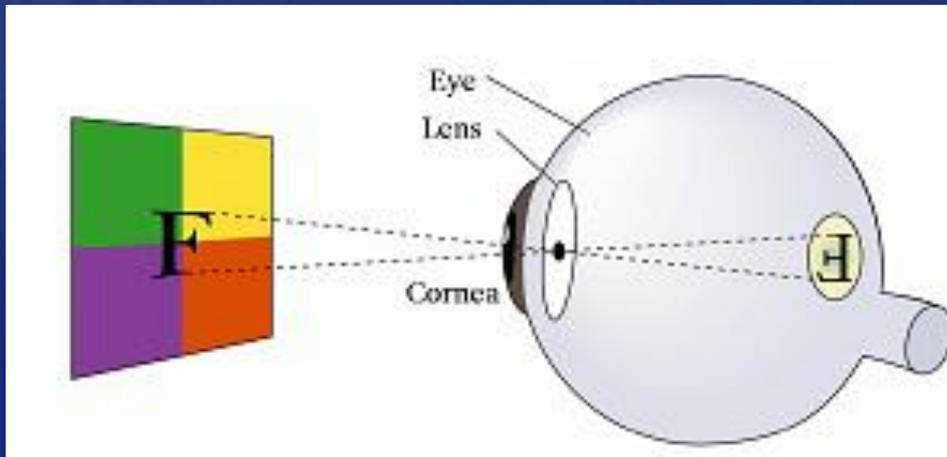
Радужная оболочка

Задняя камера

Стекловидное тело

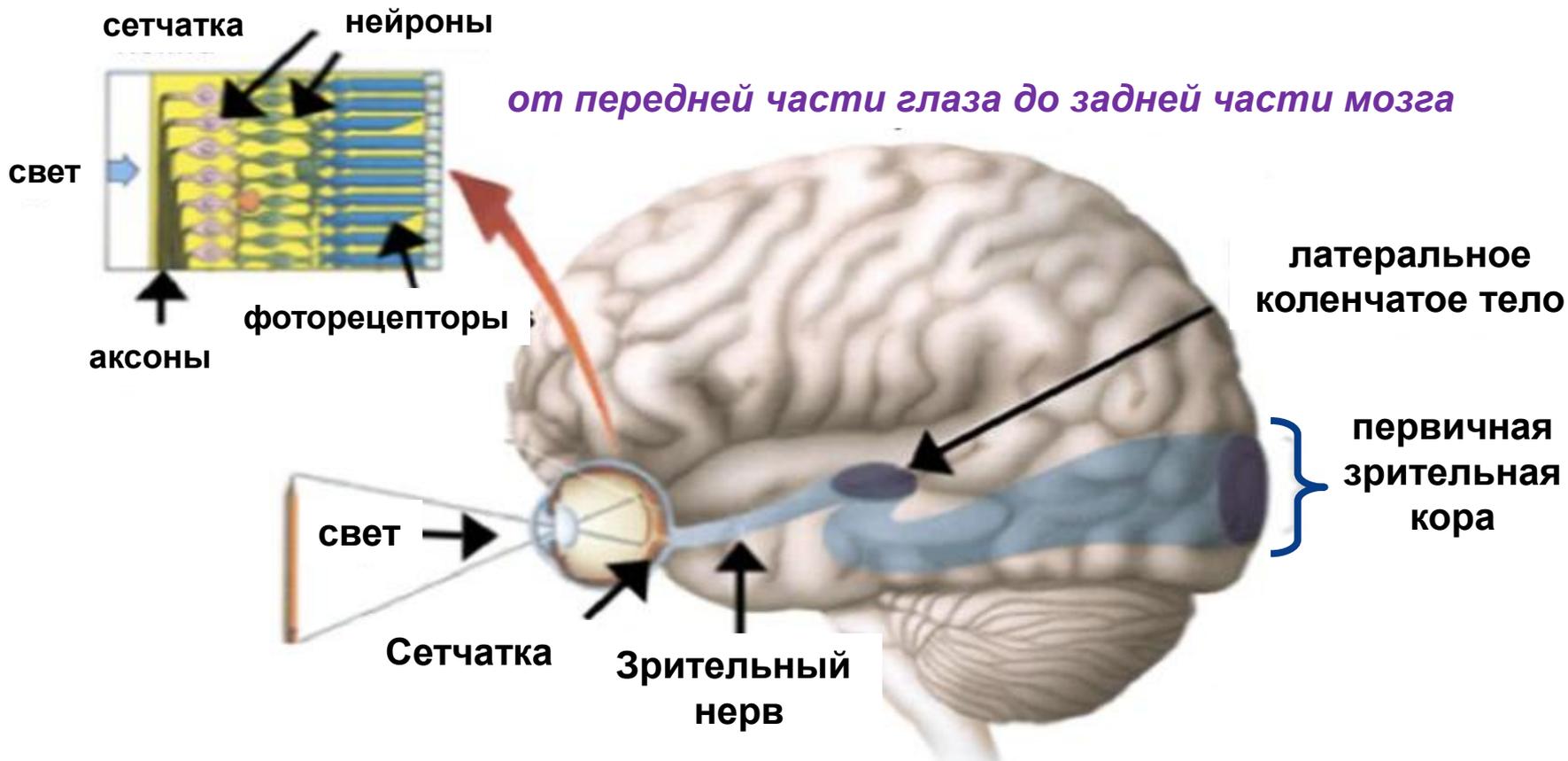
Сосудистая оболочка

Сетчатка



# ЗРЕНИЕ И МОЗГ

Свет стимулирует фоторецепторы, которые передают сигнал в зрительную кору





**Родопсин** - основной белковый компонент (>90%) фоторецепторной мембраны (ФМ), занимает ~50% площади поверхности мембраны дисков (*родопсин также присутствует в небольших количествах в плазматической мембране клетки*).

**Фосфолипиды мембраны дисков:**

фосфатидилхолин 40%, 38% фосфатидилэтаноламин, 13% фосфатидилсерин, холестерин.

**Ненасыщенные жирных кислот** (~80%) – за счет этого ФМ становится жидкой (*это необходимо для функционирования родопсина*).

В ФМ молекулы родопсина образуют димеры, располагающиеся рядами. Среднее число молекул родопсина на один диск —  $\sim 8 \times 10^4$ , что в расчете на целую сетчатку даёт около  $10^{14}$ – $10^{15}$  молекул фоторецептора.

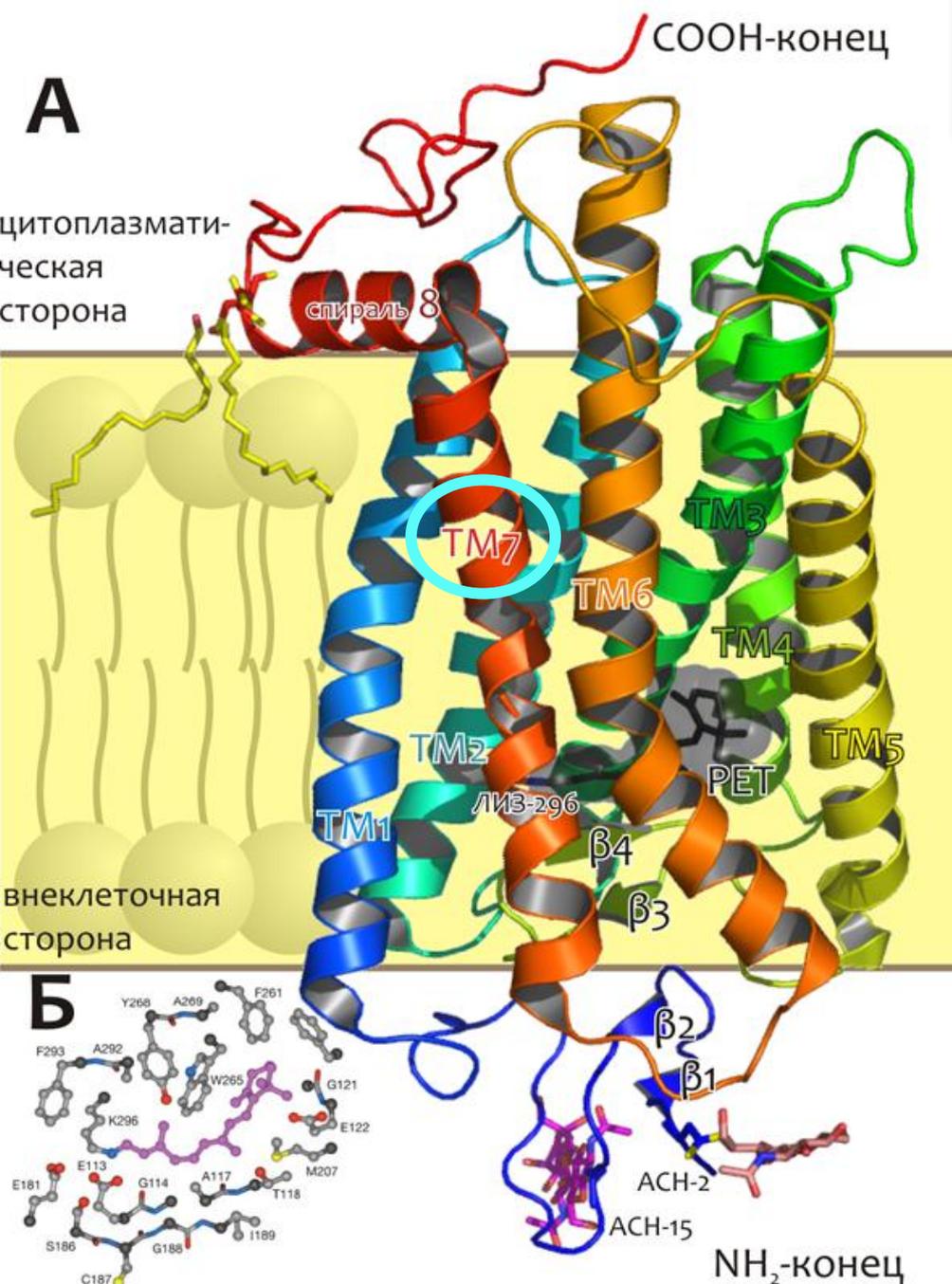
# Родопсин

принадлежит к семейству G-белоксопряжённых рецепторов (GPCR-рецепторов), назван так за механизм трансмембранной передачи сигнала, основанный на взаимодействии с внутриклеточными примембранными G-белками.

- в 1982 г. в институте биорганической химии АН СССР Ю. А. Овчинников с группой ученых определили полную аминокислотную последовательность родопсина
- Позднее структуру подтвердили Д. Хоггнес и Дж. Натанс в США при анализе структурного гена родопсина.

Состоит из 348 амк.остатков, имеет 7 протяжённых участков, состоящих из неполярных амк. остатков, образующих трансмембранные (ТМ)  $\alpha$ -спирали, соединенные вне- и внутриклеточными участками-«петлями». При этом N-конец находится во внеклеточной области, а C-конец — в цитоплазматической.

## Пространственная структура зрительного родопсина.



**А.** N- и C-концы цепи родопсина, трансмембранной (ТМ) спирали. Показаны боковые цепи двух остатков аспарагина, модифицированные молекулами углеводов, двух остатков цистеина, модифицированных пальмитоиловой кислотой, «заякоривающей» примембранную амфифильную спираль 8 в мембране, а также остатка лизина-296, образующего ковалентную связь с хромофором (структура ретиналя (РЕТ) показана черным цветом внутри полупрозрачной ван-дер-ваальсовой поверхности).

**Б.** Схематическое изображение остатков, формирующих сайт связывания ретиналя в родопсине (показаны боковые цепи остатков, расположенных не далее, чем на 5 Å от хромофора).

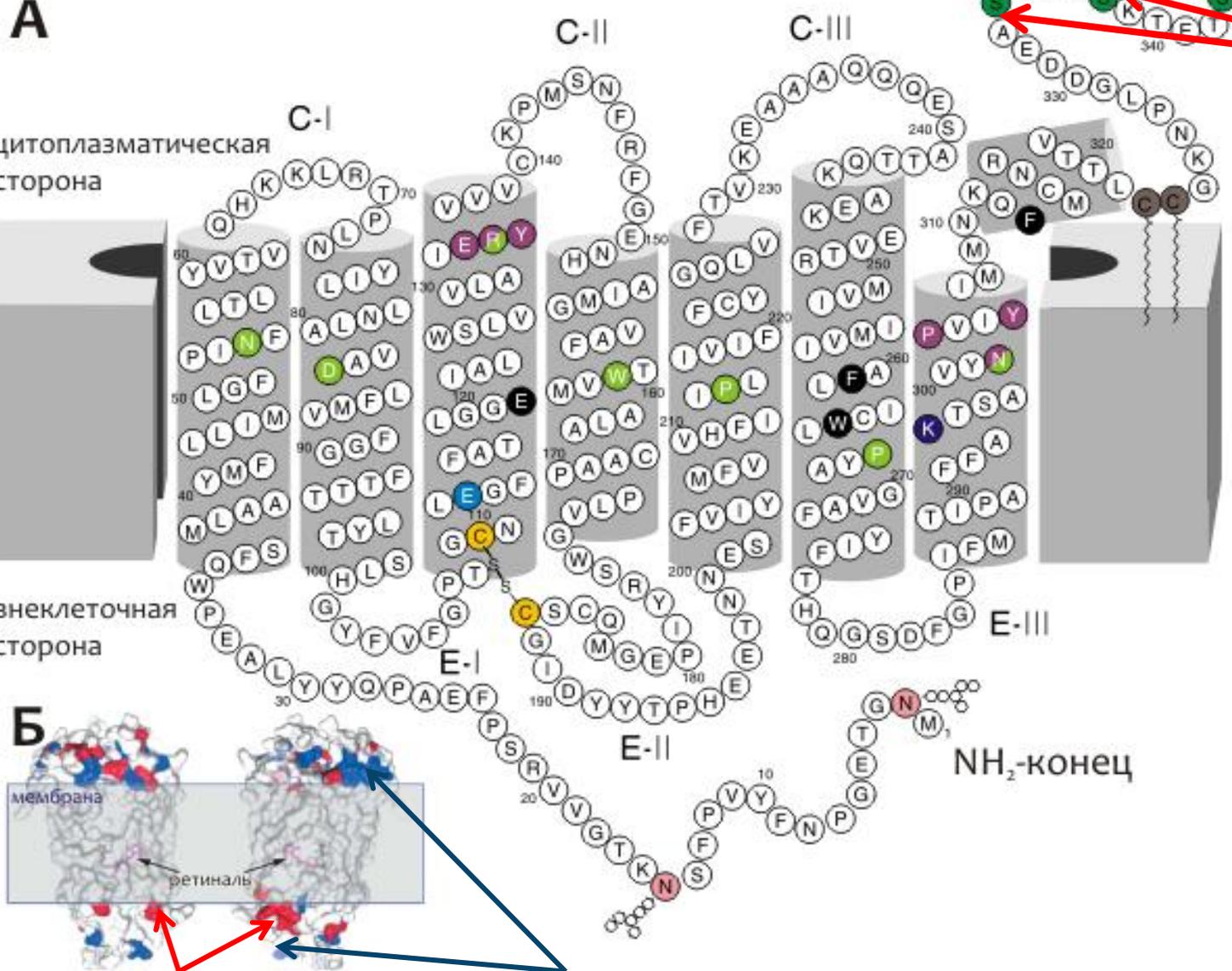
**А**цитоплазматическая  
сторонавнутриклеточная  
сторона**Б**

СООН-конец

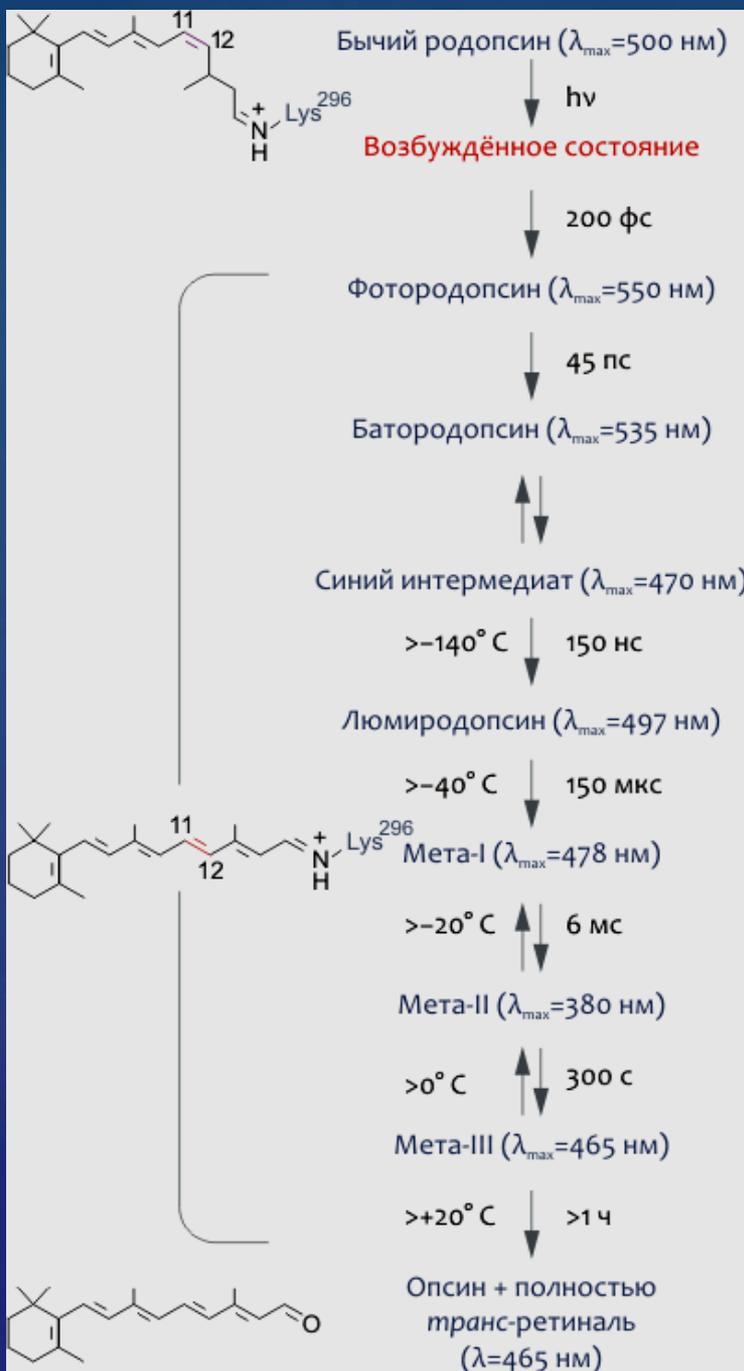
NH<sub>2</sub>-конец

Отрицательный заряд    Положительный заряд

остатки серина в  
фосф. форме  
отвечают за  
взаимодействие с  
аррестином,  
который  
инактивирует и  
десенсебилизирует  
родопсин



## Рис. Фотоцикл родопсина.



- Поглощение кванта света с  $\lambda \approx 500 \text{ нм}$ , приводит к чрезвычайно быстрой (200 фс) изомеризации ковалентно связанного хромофора 11-*цис*-ретиноля в полностью *транс*-форму.
- В результате происходит ряд быстрых конформационных перестроек родопсина, которые различимы спектроскопически.
- сравнительно долгоживущим явл-ся метародопсин-II, или мета-II, существующий в равновесии с мета-I формой.
- полностью *транс* ретиноль выделяется в цитоплазму, восстанавливается до полностью *транс*-ретинола (при участии ряда ретинол дегидрогеназ) и конвертируется обратно в 11 *цис*-ретиноль в клетках пигментного эпителия под действием специальных ферментов (так называемый ретиноидный цикл).
- «Восстановленный» хромофор может спонтанно рекомбинировать с опсином, превращаясь в «темновую» форму родопсина.

На рисунке справа от стрелок - время превращения, слева - макс. температура, при которой фотоинтермедиат удавалось наблюдать *in vitro*. В скобках – максимумы спектров поглощения.

# Дихроизм поглощения

Молекулярный показатель поглощения  $s$  зависит от угла ( $\chi$ ) между вектором напряженности электрического поля (электрическим вектором) световой волны и вектором дипольного момента ( $M$ ) электронного перехода

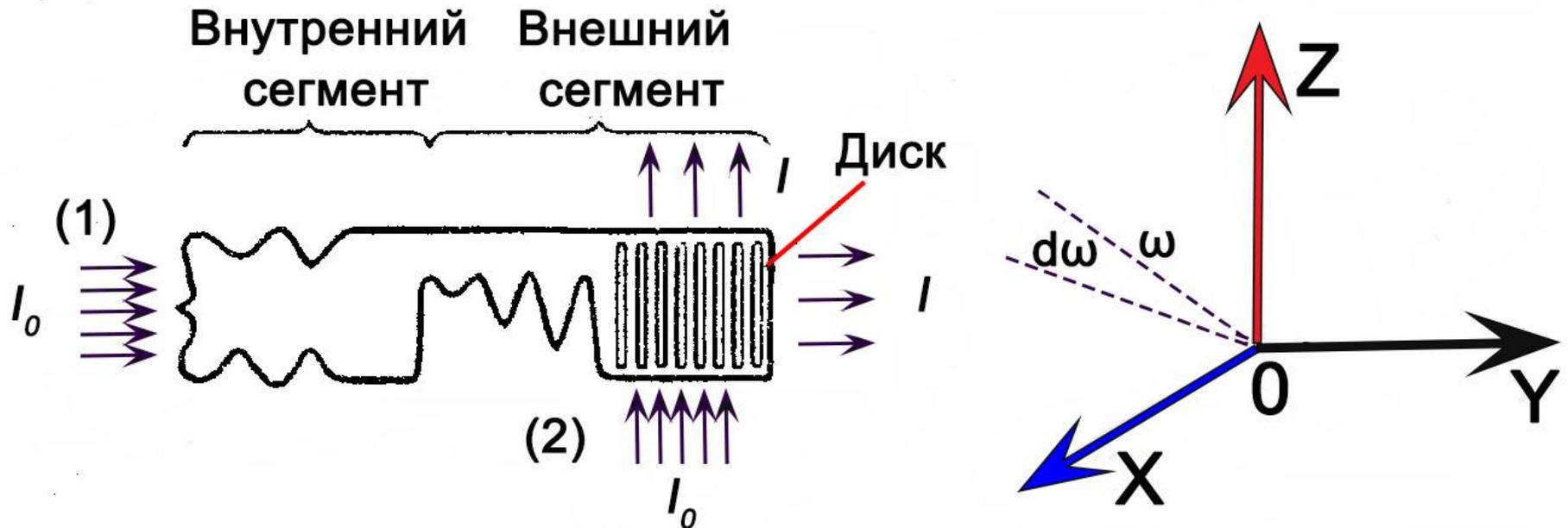


Рис 1. Схема измерения показателей поглощения палочки сетчатки при различных направлениях распространения света

$$s = s_0 \cos^2 \chi$$

$s_0$  - максимально возможное значение  $s$ , которое достигается при  $\chi = 0$  или  $\chi = \pi$

✓ Для палочек характерен **дихроизм** поглощения (двойственное поглощение) линейно поляризованного света.

Это обнаруживается, когда коэффициент поглощения линейно поляризованного света в палочках измеряется в двух вариантах (рис. 1):

**1) свет распространяется вдоль палочки (вдоль оси OY) и**

**2) свет проходит перпендикулярно оси палочки (вдоль оси OZ).**

измерения проводились двух коэффициентов поглощения с использованием двух световых пучков, у которых электрические векторы перпендикулярны друг другу.

(1) коэффициенты  $\beta_{1,z}$  (электрический вектор параллелен оси OZ) и  $\beta_{1,x}$  (электрический вектор параллелен оси OX) оказались одинаковыми.

(2) проявлялся сильный дихроизм:  $\beta_{2,x} \approx 4 \beta_{2,y}$

Следовательно, большинство молекул родопсина располагается в мембранах дисков палочек так, что их M оказывается в плоскости XOZ, перпендикулярной оси палочки. В этой плоскости M распределены хаотически. В естественных условиях свет в глазу распространяется вдоль палочки и является неполяризованным.

- Свет эффективнее поглощается если направленность его поляризации и направление M совпадают
- Свет поляризованный  $\perp$  к длинной оси палочек поглощается сильнее чем  $\parallel$
- Хромофор родопсина  $\parallel$  плоскости мембраны диска

**Светоощущение** – это способность восприятия света в различных степенях его яркости.

Светоощущение обусловлено функцией палочек.

**Адаптация** – способность глаза видеть при различном освещении.

**Световая адаптация** – адаптация глаз при выходе из темного помещения на свет происходит в среднем за 50 - 60 секунд (связана с действием колбочек);

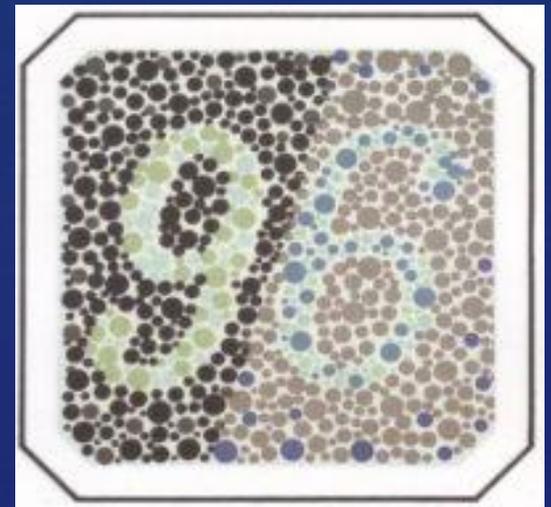
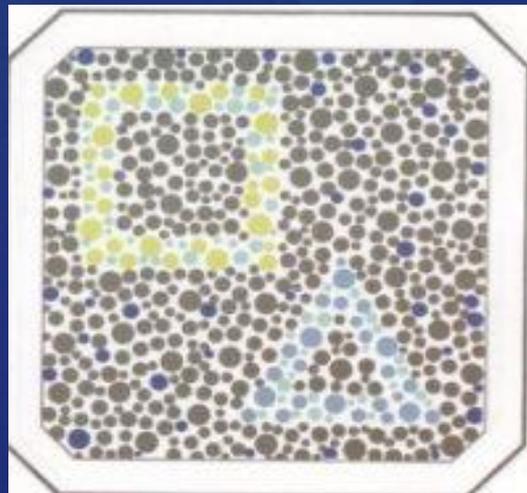
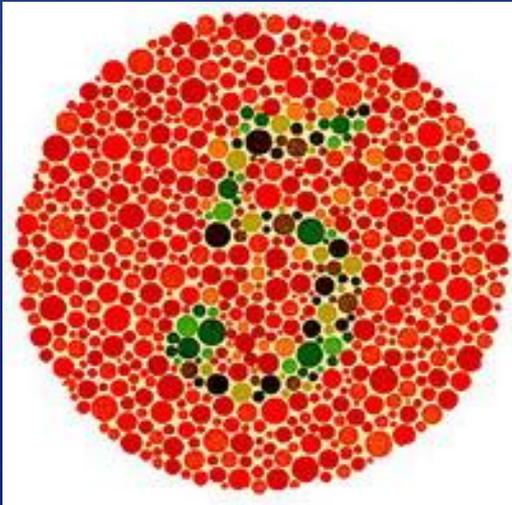
**Темновая адаптация** – полная адаптация глаз при выходе из светлого помещения в темное происходит в среднем за 40-50 -60 минут (связана с действием палочек).

Неспособность видеть при слабом свете или в темноте – куриная слепота (гемералопия) – наступает при отсутствии или недостатке витамина А, при этом нарушается образование родопсина.

**Цветовосприятие** – способность глаза различать цвета.

Восприятие цвета предметов обеспечивается **колбочками**. В сумерках, когда функционируют только палочки, цвета не различаются. Врожденное нарушение цветового зрения называется **дальтонизм**.

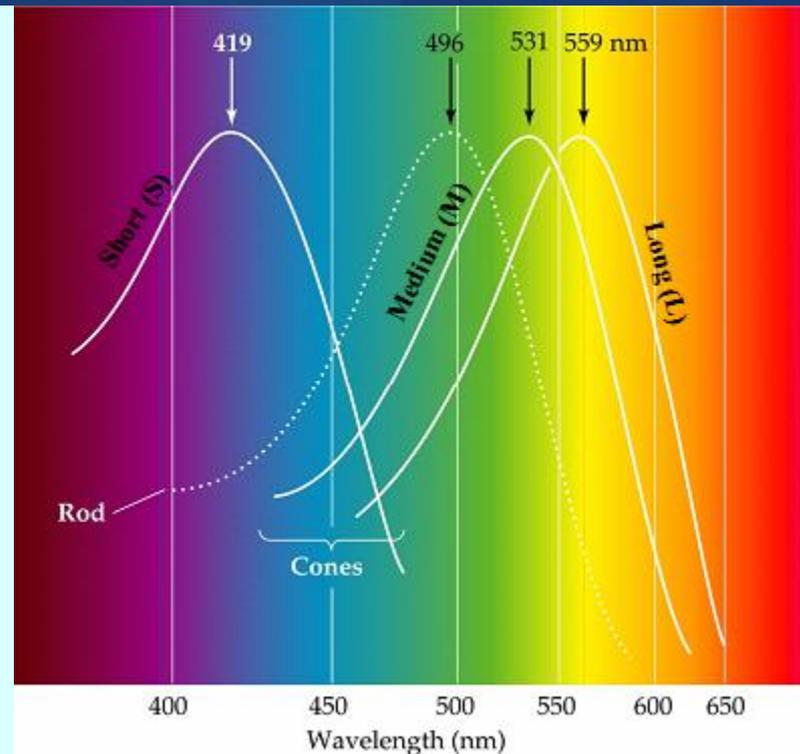
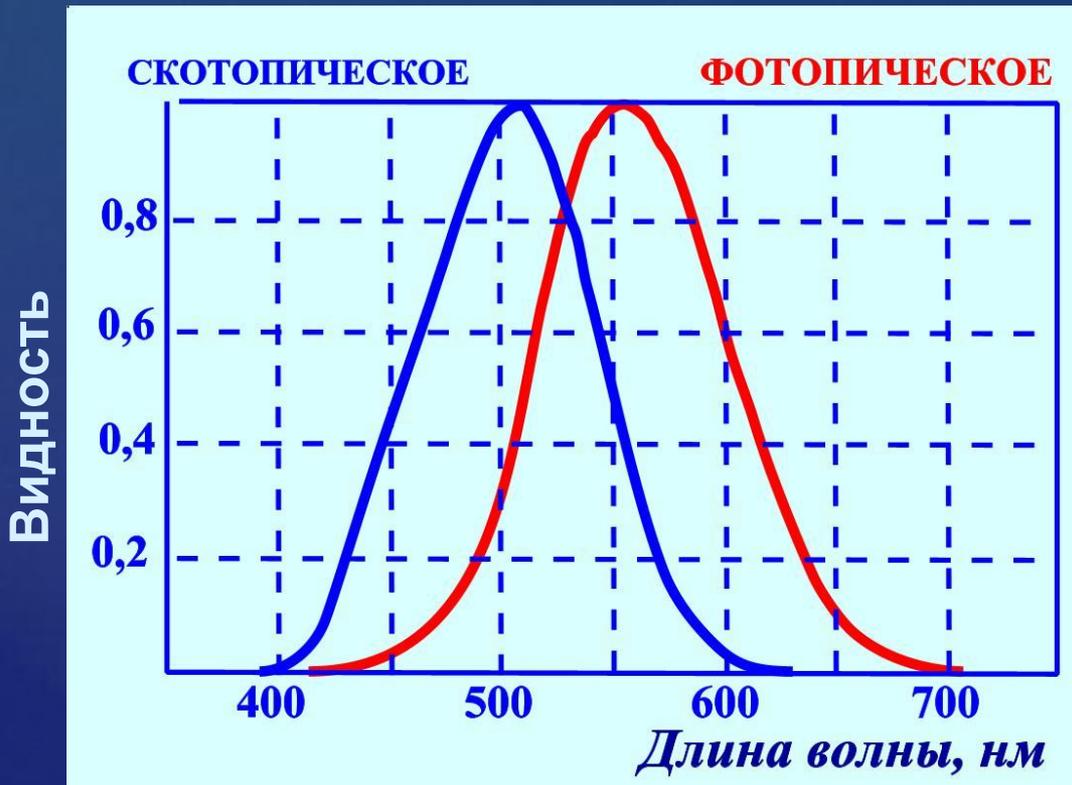
Нарушения цветового зрения устанавливают при помощи диагностических полихроматических **таблиц Е.Б. Рабкина**.



# Спектры действия скотопического и фотопического зрения, кривая видности.

При ярком освещении (**фотопическое зрение**, активны колбочки), глаз чувствителен в диапазоне длин волн от 400 до 700 нм с максимумом около 550 нм (**зеленый свет**)

В сумерках происходит переключение на **скотопическое зрение** (палочки). Диапазон чувствительности 370- 630 нм с максимумом около 510 нм



# Активация и выключение компонентов зрительного каскада

1) Поглощение света преобразует 11-цис-ретиаль полностью *транс*-ретиаль, активируя родопсин.

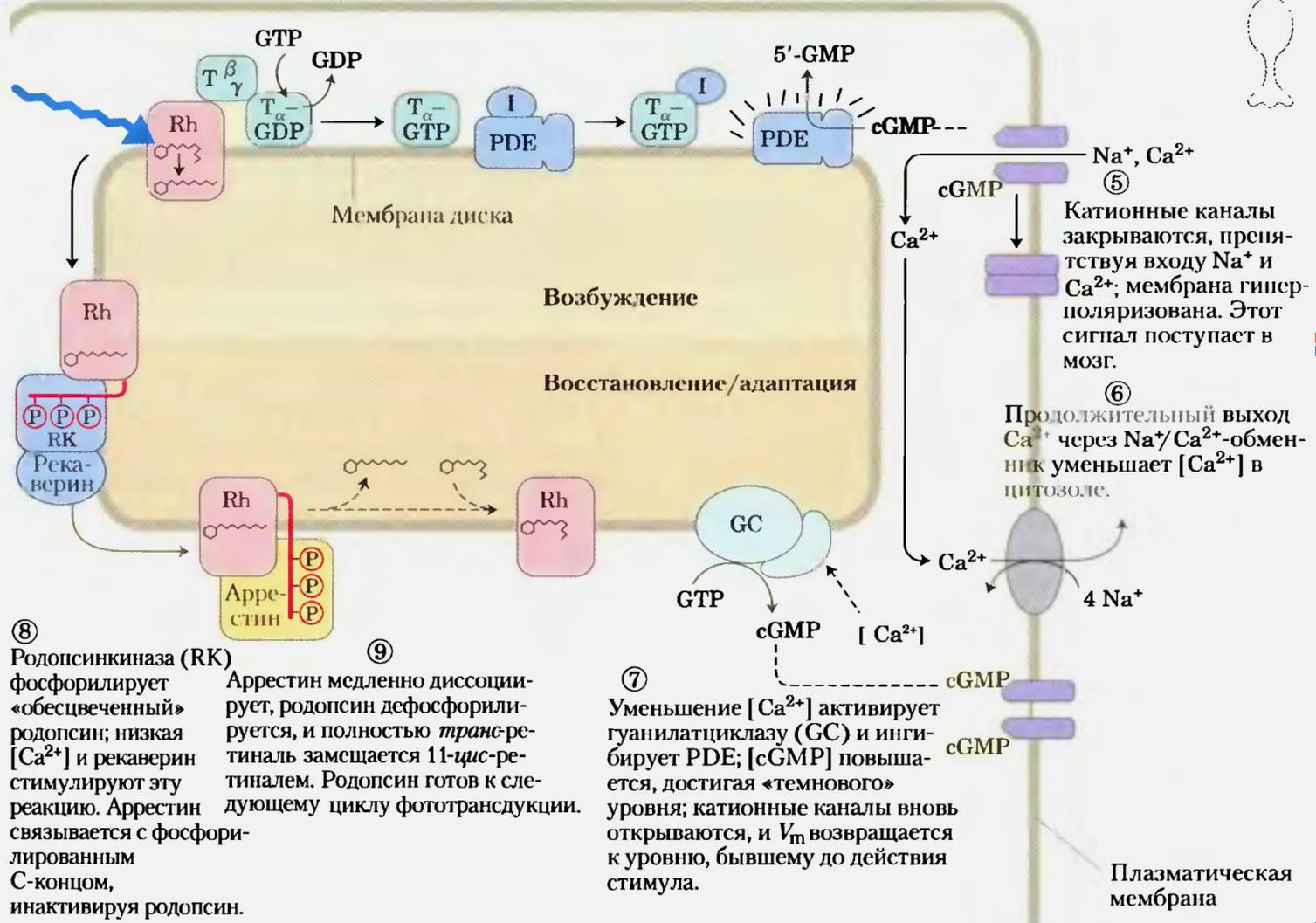
2) Активированный родопсин катализирует замещение GDP на GTP в трансдуцине (Т), который затем диссоциирует на  $T_{\alpha}$ -GTP и  $T_{\beta\gamma}$ .

3)  $T_{\alpha}$ -GTP активирует сGMP-фосфодиэстеразу (PDE) путем связывания и удаления ее ингибиторной субъединицы (I).

4) Активная PDE уменьшает [сGMP] ниже уровня, необходимого для поддержания катионных каналов в открытом состоянии.



1-5  
Возбуждение



8) Родопсинкиназа (RK) фосфорилирует «обесцвеченный» родопсин; низкая  $[Ca^{2+}]$  и рекаверин стимулируют эту реакцию. Аррестин связывается с фосфорилированным С-концом, инактивируя родопсин.

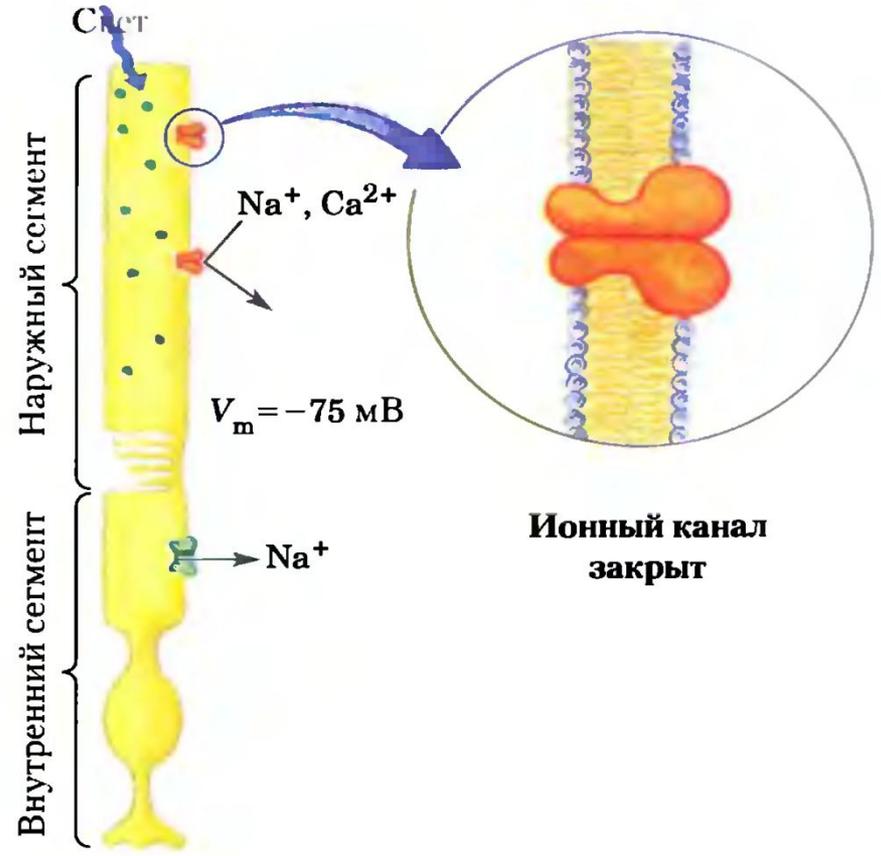
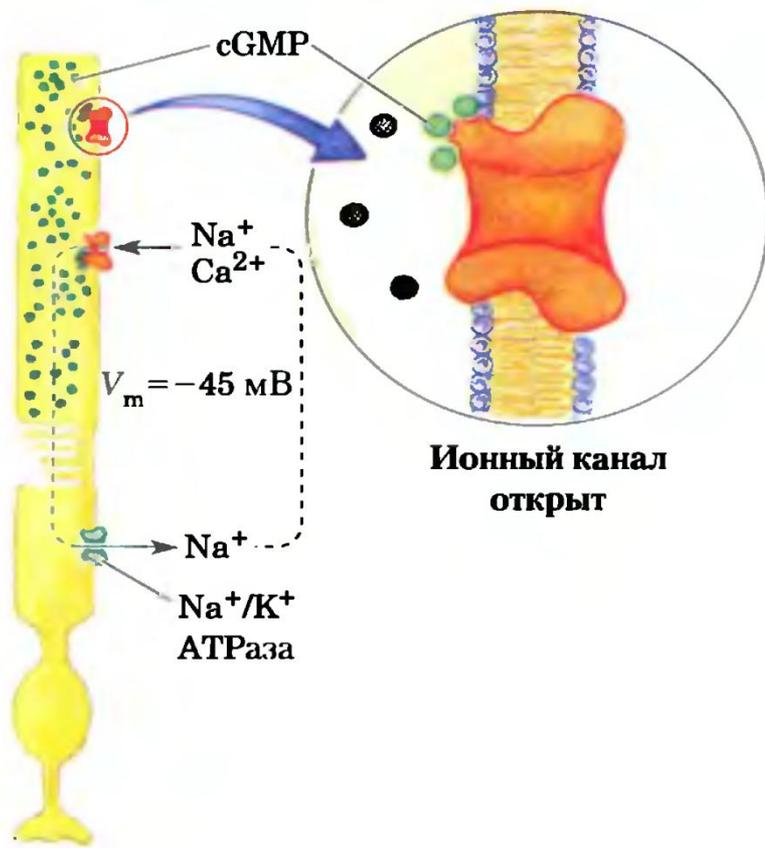
9) Аррестин медленно диссоциирует, родопсин дефосфорилируется, и полностью *транс*-ретиаль замещается 11-цис-ретиалем. Родопсин готов к следующей реакции. Аррестин связывается с фосфорилированным С-концом, инактивируя родопсин.

7) Уменьшение  $[Ca^{2+}]$  активирует гуанилатциклазу (GC) и ингибирует PDE; [сGMP] повышается, достигая «темнового» уровня; катионные каналы вновь открываются, и  $V_m$  возвращается к уровню, бывшему до действия стимула.

6) Продолжительный выход  $Ca^{2+}$  через  $Na^+/Ca^{2+}$ -обменник уменьшает  $[Ca^{2+}]$  в цитозоле.

6-9  
Восстановление и адаптация

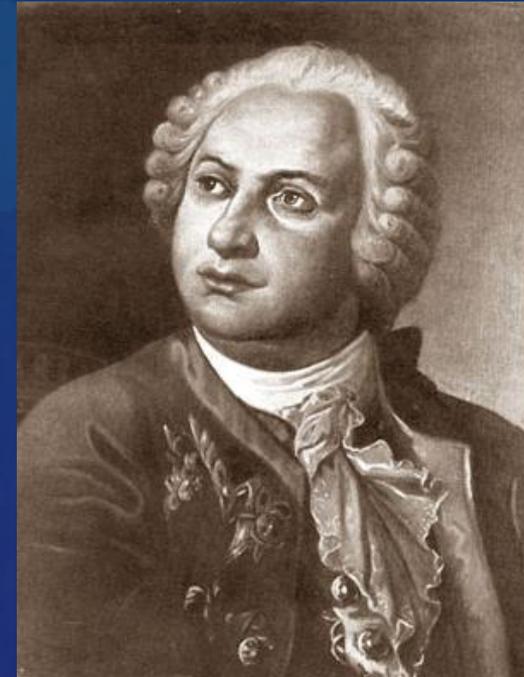
# Индукцированная светом гиперполяризация палочек



- во внутр. сегменте АТФ активирует работу  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазу → создается трансмембр.  $\phi$ , происходит выкачивание  $3\text{Na}^+$ (наружу) на каждые  $2\text{K}^+$  (внутри)
- мембранный  $\phi$  ↓ из-за потока  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  которые поступают в клетку через цГМФ-регул. катион. каналы наруж.сегмента
- свет → родопсин запускает пр-с деградации цГМФ (зеленые точки) в наруж.сегменте → катион. каналы закрываются → гиперполяризация → электр. сигнал по нейронам в мозг

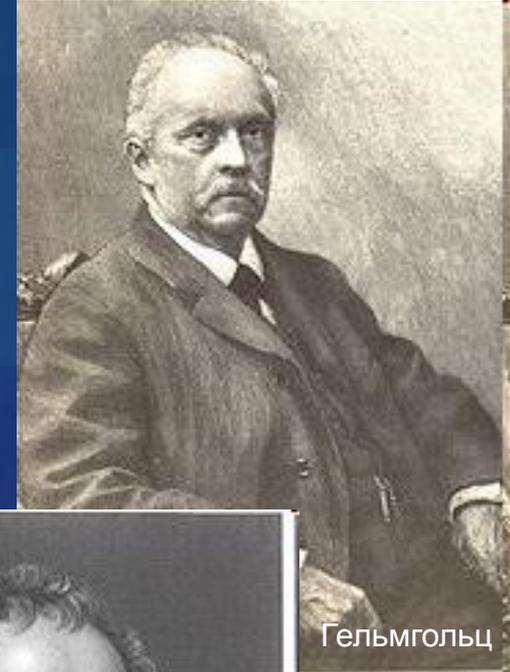
# Трехкомпонентная теория

- ⌘ Впервые гипотезу о механизме цветового зрения высказал **М. В. Ломоносов**: «о трёх материях дна ока»
- ⌘ в 1756 г. сформулировал трехсоставную (трехцветную) теорию восприятия цветов
- ⌘ в глазу имеются три вида приемников лучистой энергии (колбочек), воспринимающих **красную** (длинноволновую), **желтую** (средневолновую) и **голубую** (коротковолновую) части видимого спектра
- ⌘ Подобные гипотезы были также выдвинуты в Англии Томасом Юнгом в 1807 г., в Германии - Гельмгольцем в 1852 г., и за основные цвета были приняты **красный, зеленый и синий**

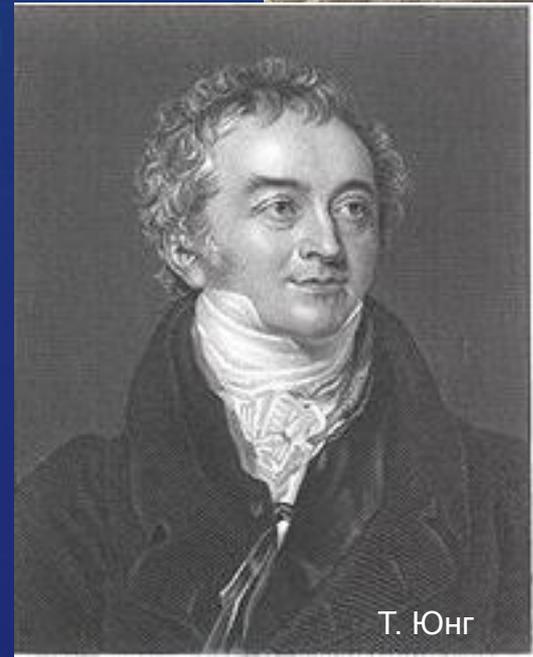


# Трехкомпонентная теория

- ✧ основывается на принципе трихроматического смешения
- ✧ три типа колбочек (чувствительны к **красному, зеленому и синему цвету**) работают как независимые рецепторные системы
- ✧ сравнивая интенсивность сигналов от трех типов колбочек, зрительная сенсорная система производит **«виртуальное аддитивное смешение»** и вычисляет истинный цвет
- ✧ **Аддитивное смешение цветов** - слияние в один цвет нескольких световых излучений, соответствующих разным цветам, при их попадании на близкие участки сетчатки
- ✧ Авторы теории - **М.В.Ломоносов, Томас Юнг, Герман Людвиг Фердинанд Гельмгольц, Джеймс Максвелл**



Гельмгольц



Т. Юнг

# Теория оппонентных цветов

- ↳ любой цвет можно однозначно описать, указав его положение на двух шкалах - «**синий-желтый**», «**красный-зеленый**»
- ↳ цвета, лежащие на полюсах этих шкал, называют **оппонентными**
- ↳ теория **подтверждается** тем, что в сетчатке, латеральных колленчатых телах и коре существуют нейроны, которые:
  - **возбуждаются**, если их рецептивное поле освещают красным светом и **тормозятся**, если свет зеленый
  - возбуждаются при действии **желтого** цвета и тормозятся при действии **синего**

# Теория оппонентных цветов

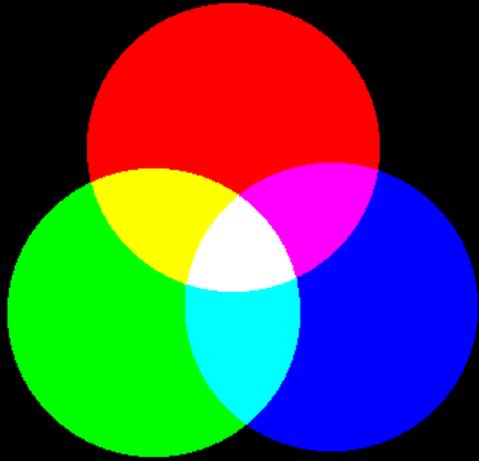
- ⌘ Предполагается, что **сравнивая степень возбуждения нейронов «красно-зеленой» и «желто-синей» системы**, зрительная сенсорная система может **вычислить цветовые характеристики света**
- ⌘ Автор теории - **Эвальд Геринг**
- ⌘ Её развили **Давид Хьюбл** и **Торстен Вайзел** -получили Нобелевскую премию 1981 года за своё открытие
- ⌘ Согласно теории Э. Геринга, в колбочках есть вещества, чувствительные к **бело-черному, красно-зеленому и желто-синему** излучениям
- ⌘ В опытах, где микроэлектродом отводили импульсы ганглиозных клеток сетчатки животных при освещении монохроматическим светом, обнаружили, что разряды большинства нейронов (**доминаторов**) возникают при действии любого цвета
- ⌘ В других ганглиозных клетках (**модуляторах**) импульсы возникают при освещении только одним цветом
- ⌘ Выявлено **7 типов модуляторов**, оптимально реагирующих на свет с разной длиной волны (от 400 до 600 нм)

# Теория оппонентных цветов

- & Давид Хьюбл и Торстен Вайзел предположили, что в мозг поступает информация вовсе не о красном (R), зелёном (G) и синем (B) цветах (теория цвета Юнга-Гельмгольца)
- & Мозг получает информацию о разнице яркости - белого ( $Y_{\max}$ ) и чёрного ( $Y_{\min}$ ), о разнице зелёного и красного цветов ( $G - R$ ), о разнице синего и жёлтого цветов ( $B - \text{yellow}$ ), а жёлтый цвет ( $\text{yellow} = R + G$ ) есть сумма красного и зелёного цветов, где R, G и B - яркости цветовых составляющих: красного - R, зелёного - G, и синего - B
- & Имеем систему уравнений -
  - $K_{ч-б} = Y_{\max} - Y_{\min}$
  - $K_{gr} = G - R$
  - $K_{brg} = B - R - G$
 где  $K_{ч-б}$ ,  $K_{gr}$ ,  $K_{brg}$  - функции коэффициентов баланса белого для любого освещения
- & Практически это выражается в том, что люди воспринимают цвет предметов одинаково при разных источниках освещения

- существуют **экспериментальные доказательства** обеих теорий
- трехкомпонентная теория адекватно описывает **механизмы цветовосприятия на уровне фоторецепторов сетчатки**
- теория оппонентных цветов – **механизмы цветовосприятия на уровне нейронных сетей**

# RGB теория



**Red + Green = Yellow**

**Red + Blue = Magenta**

**Green + Blue = Cyan**

Источники красного, зеленого и синего света используются для определения практически любого воспринимаемого цвета

например отсутствие зеленого – это маджента (ярко розовый, пурпурный)

отсутствие красного - голубой, и т. д.

## Хромофорная – ауксохромная теория цветности



ВИТТ  
Отто Николаус

1876г Отто Николаус Витт

### Хромофоры

группы атомов (-CH=CH-, -CH=N-, -N=N-, =C=O и др.), сообщающие окрашенность органическому веществу

### Ауксохромы

группы атомов (-OH, -NH<sub>2</sub>, -SH и др.), сообщающие окрашенному веществу способность закрепляться на тканях, усиливающие и часто углубляющие цвет красящего вещества

## Электронная теория цветности

1915 г В. А. Измаильский

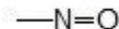
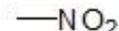
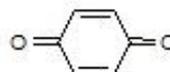
- истинное строение красителей описывается не классической структурной формулой, а отвечает некоторому промежуточному состоянию, названному позднее *мезомерным*. Для этого состояния характерна *делокализация связей* и зарядов атомов в молекуле.

В.А.Измаильский

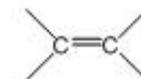
## Хромофоры

(греч. *хромо* – цвет, *форео* – несу)

СИЛЬНЫЕ



слабые



## Ауксохромы

(греч. *ауксо* – увеличивать)

-OH, -NH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>3</sub>, -SH

Согласно современной электронной теории цветности органических соединений, разработанной в трудах В. А. Измаильского (с 1913 г.), Адамса, Розенштейна (1914 г.), Льюиса (1916 г.), Дилтея, Визингера (1928 г.) и других учёных, способность поглощать свет определяется наличием достаточно длинной цепочки сопряжённых двойных связей и присоединённых к ней электронодонорных (поставляющих электроны) и электроноакцепторных (принимающих

Хромофорно-ауксохромная теория оказала большое влияние на развитие химии красителей. На ее основе была создана классификация красителей (по хромофорам), выявлен ряд общих закономерностей зависимости между характером, числом и положением хромофоров и ауксохромов и цветом красителей, предсказана возможность синтеза большого числа новых окрашенных соединений.

- для образования интенсивно окрашенных соединений необходимо, чтобы наряду с ненасыщенными заместителями, такими, как нитро-, карбонильная и другие группы, в соединении присутствовали и такие заместители, как окси- и аминокгруппы.

# ИМПУЛЬСНЫЙ ФОТОЛИЗ

Для изучения быстрых химических реакций.

-струевые, релаксационные и импульсные.

**-Струевые методы** основаны на смешении реагирующих веществ за короткий промежуток времени и наблюдении за реакцией одним из аналитических методов, например по спектрам поглощения. Максимальным разрешающим временем струевых методов является 1 мс.

**-Релаксационные методы** основаны на том, что систему выводят из состояния равновесия, например при помощи внешнего параметра — температуры, давления, электрического поля, а затем изучают возвращение системы к новому положению равновесия. Интервал времени, доступный измерению релаксационными методами, достигает  $10^{-12}$  с, хотя некоторые из этих методов имеют меньшее разрешение; метод температурного скачка — до  $10^{-7}$  с, метод скачка давления — до  $10^{-5}$  с.

**-Импульсный фотолиз и импульсный радиолиз.** Основаны на получении мощного светового импульса или жесткого излучения за короткий промежуток времени, которые воздействуют на химическую систему и приводят к созданию больших концентраций реакционно-способных молекул.

**-Отличие от релаксационных методов** заключается в том, что под действием мощных световых, рентгеновских или  $\gamma$ -излучений происходят коренные изменения системы.

-Импульсные методы применяются для изучения свободных радикалов, ион радикалов, ионов, а также различных промежуточных продуктов и состояний, которые образуются в ходе фотохимических превращений.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

