

· 专论 ·

古紫质等光驱质子泵以及该类活性蛋白质与聚合物的功能复合材料*

王雅卓 马德旺 赵迎春 明 明 吴 佳 丁建东**

(聚合物分子工程国家重点实验室 复旦大学高分子科学系 上海 200433)

摘 要 将具有生物活性的蛋白质与具有良好加工和力学性能的合成高分子相结合制备高性能的杂化材料是材料科学一个新的生长点. 本专论聚焦于对具有光驱质子泵功能的两类活性蛋白质——细菌视紫红质(BR)与古紫质4(AR4)的研究, 其中BR作为一个著名的膜蛋白已有四十余年的研究历史, 而AR4则为我国科研人员十余年前所发现. 综述了AR4的研究, 并对AR4和BR进行了对比, 进一步介绍了光敏蛋白质(BR和AR4)与聚合物基质复合制备新型功能高分子材料的工作, 还介绍了该类光敏蛋白质的基因工程改造以及蛋白质/聚合物复合膜用于信息材料方面的探索工作. 论文总结了一系列创新成果, 如(1)在光敏蛋白质的质子泵机理方面, 提出了“弱偶联模型”并解释了AR4具有与BR相反的质子释放和提取时间顺序的内在机理; (2)光敏蛋白质与聚合物复合膜相关的高分子水凝胶和蛋白质聚集状态的研究, 并发现与均聚物和两亲性小分子不同, 两亲性嵌段共聚物可导致光敏蛋白质中间体的寿命有数量级的延长; (3)发展了光敏蛋白质与聚合物复合膜的制备技术, 所得到的材料不仅保持了光学活性, 其蛋白质的光学响应性能还得到进一步改善; (4)发现了含光敏蛋白质的紫膜强烈抗拒哺乳动物细胞黏附的新功能; (5)尝试将该蛋白质和聚合物的复合膜作为信息材料, 实现了全光宽带图像显示. 进一步展望了此类光敏蛋白质的后续研究和潜在的应用前景.

关键词 细菌视紫红质, 古紫质, 紫膜, 质子泵, 光电响应, 光色响应, 嵌段共聚物, 功能高分子材料, 复合材料, 信息功能材料

随着高分子科学与生命科学相关研究的不断深入, 利用各类非生命物质进行“仿生”或直接为医学服务研发新型生物材料成为交叉学科中的一个热点和重点^[1~5]. 本文从另外一个角度思考问题, 即是否可以利用某些离体后仍然保持活性的生物大分子为材料科学服务. 具有光电/光色响应性的合成高分子是功能高分子领域特别活跃的一个研究对象^[6~10]; 该专论同样涉及了光响应性高分子, 只是利用了天然的光敏蛋白质. 我们将含有视黄醛的光敏蛋白质与合成高分子复合, 期望利用经过千百万年进化的活性蛋白质所具有的独特光色响应和光电响应性能与聚合物自身良好的加工性能相结合, 研发出新型的功能高分子材料.

不同于大部分从事天然高分子研究的工作者侧重于非生理活性的结构性生物高分子^[11~13], 本研究专注于有生物活性的蛋白质. 我们所研究的

蛋白质来自于一类特殊的微生物. 这一类微生物广泛存在于自然界中, 它们生活在盐湖、盐沼、盐场和盐制品等高盐环境中, 是一类古细菌, 叫作嗜盐菌. 在某些嗜盐菌菌株的细胞膜上含有一种蛋白质, 叫作细菌视紫红质(bacteriorhodopsin), 简称菌紫质或BR. 自然条件下其所在的膜片呈现紫色, 因而被称为“紫膜”(purple membrane, PM). 紫膜由BR和一些天然脂质构成.

BR是一种跨膜蛋白质, 含有248个氨基酸残基, 其中在第216位赖氨酸上连有1个视黄醛分子, 它是为蛋白质行使生理功能而发挥重要作用的生色团辅基^[14]. BR是视黄醛家族的重要成员, 其对于可见光的敏感性正是来自于视黄醛辅基. 如图1所示, 光照条件下BR由基态经历K, L, M, N和O等一系列主要的光循环中间态最后重新回复到基态, 图中下标对应为BR基态及相应的

* 2012-02-27 收稿, 2012-03-27 修稿; 国家自然科学基金(基金号 50533010, 21034002 和 91127028)和国家重点基础研究发展计划(973计划, 项目号 2009CB930000 和 2011CB606203)资助.

** 通讯联系人, E-mail: jdding1@fudan.edu.cn

doi: 10.3724/SP.J.1105.2012.12051

中间态的最大吸收波长(以纳米为单位). BR 通过该光循环实施其质子泵功能. 在光循环过程中, BR 从细胞内侧提取 1 个质子,并向细胞外侧释放另外 1 个质子,其净结果是将 1 个质子从胞内侧泵出至胞外侧^[15]. 由于其独特的光化学循环和跨膜传输质子功能, BR 自上世纪 70 年代被发现以来一直受到科学界高度的关注^[16~33].

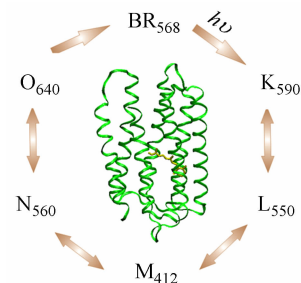


Fig. 1 Structure and photocycle of BR

The transmembrane protein is composed of 7 α -helices, and one retinal is covalently bound to the 216th lysine; After illumination, a photocycle is triggered with the intermediates represented by capitalized letters with the subscripts denoting the maximum absorption wavelengths in unit of nanometer.

菌紫质作为一种理想的功能蛋白质模型,吸引了许多研究者们对其分子结构和作用机理进行深入的探讨和研究,并开启和拓展了其作为活性物质介导的复合材料在信息存储等潜在应用方面的研究^[34~40].

在含有 7 个 α 螺旋结构的跨膜蛋白家族中,还存在着另一种视黄醛蛋白质,叫做古细菌视紫红质 (archaerhodopsin),简称古紫质或 AR. 这一类蛋白质于 1988 年首次在澳大利亚菌株中被发现^[41]. 由于历史的原因,AR 的研究大大滞后于 BR. 在视黄醛家族的众多成员中,只有古紫质 4 (AR4)由中国人发现并命名. 作者课题组近年来在 AR4 方面开展了一系列的研究工作. 因此,本专论在介绍细菌视紫红质和古紫质的同时,将对 AR4 有所侧重. 从现有文献来看,本文应是国际上 AR4 研究的首个全面综述.

1 AR4 的发现及其光驱质子泵的特点

古紫质首先从生长在澳大利亚盐湖中的嗜盐菌株细胞膜上分离得到. AR1 和 AR2 蛋白都具有质子泵功能,并且与 BR 具有 55% ~ 58% 的同源性^[42,43]. 它们所在的细胞膜呈现紫红色,这主要

是由于蛋白质周围除了磷脂以外还含有一种特殊的天然脂质——“玉红素”所导致,相应的膜片又被称为紫红膜. AR 中含有的视黄醛分子在光的作用下也可以发生异构化转变,并通过蛋白质内的质子通道向胞外侧定向地传送质子.

在该交叉课题的研究过程中,通过对所委托的地质矿产人员从西藏扎北盐湖中带回的盐颗粒表面所黏附的细菌进行筛选, Li、Xu 等在其中第 515 号样品中分离得到了一种菌株. 这种菌株不仅能表达视黄醛蛋白质,而且表达的蛋白质具有特殊性能,该菌株被命名为 xz515 (xz 为西藏的汉语拼音字母的简写)^[44],有时也直接称其为“中国嗜盐菌”(Chinese halobacteria)^[45,46]. 根据从该菌株所分离得到的膜片含有玉红素以及根据初步获得的部分氨基酸序列信息,判断所得到的蛋白质即为古紫质. 但是, xz515 一词在早期常被用来同时表示菌株和蛋白质^[44~47],在名称使用上存在一定的混淆,这与当时的研究程度和认识水平有关.

黄伟达等对上述新型蛋白质的 cDNA 进行了测序,获得其全部氨基酸顺序^[48]. 作者课题组进一步通过生物信息学分析,初步确定其蛋白质的基本空间结构,如图 2 所示. 图中螺旋下方的单个字母 A ~ G 代表 7 个螺旋,在圈或者框中的单个字母代表氨基酸残基. 通过生物信息学对比发现,该蛋白质与 BR 仅具有 59% 的序列相似性,而与古紫质更为接近,综合其它手段,我们确认其属于古紫质家族成员. 同时,该蛋白质的一级结构与先前发表的古紫质家族其它成员的一级结构以及相关性能有一定差别,并且其发现在 AR1、AR2、AR3 之后^[41~43,49],作者课题组在 2002 年建议将此新蛋白质命名为 AR4. 该命名于 2003 到 2006 年期间开始在国内外学术期刊公开和固定使用^[48,50,51]. 我们的命名以及本课题组的相关研究获得了学术界的认可和引用^[52~60]. 与 BR 类似^[61,62], AR4 也以三聚体的形式排布在膜片上^[63],蛋白质的氨基端处于胞外侧,羧基端处于胞内侧.

AR4 的独特之处在于中性条件下质子泵释放质子和提取质子的时间顺序与 BR 截然相反. 那么,如何检测这个时间顺序呢? 最常用的测量蛋白质质子泵行为的方法是染料法. 该方法利用了一类 pH 敏感染料,可以通过测量加入染料前后蛋白质在光激发后瞬间所引起溶液中染料的光吸收变化来探测蛋白质产生的质子浓度变化,从而

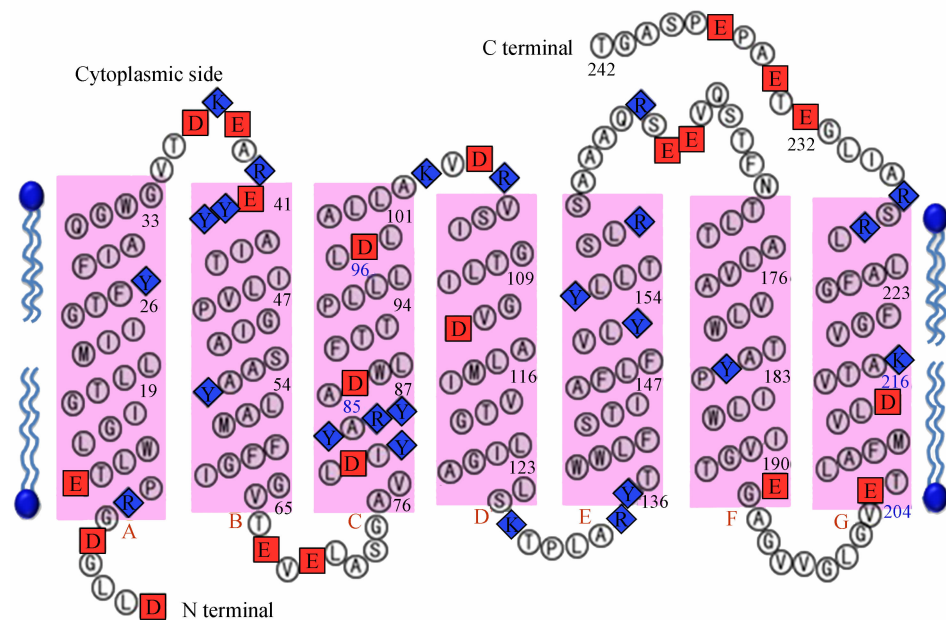


Fig. 2 Schematic presentation of the amino acid sequence of AR4 and the seven α -helix structure^[51]
(Adapted by permission of Elsevier)

反映蛋白质的质子泵行为,即质子释放和提取的先后顺序和动力学过程等^[64]. Pyranine 是用来观察这种质子泵动力学过程的理想染料之一,其在 456 nm 波长处的光吸收变化对体系酸碱变化最为敏感,而 BR 和 AR4 在该波长处被光激发前后的光吸收变化非常小. 如果蛋白质从周围介质中提取质子,则介质中的染料 pyranine 显示为瞬间

的光吸收增加;反之,如果蛋白质释放质子,则染料显示为瞬间的光吸收下降.

在中性条件下,光激发后 AR4 和 BR 的质子提取和释放的时间顺序相反,如图 3 所示. BR 先释放 1 个质子、再获取 1 个质子,呈现“快释放”的特征;而 AR4 在光激发后则先从介质中提取 1 个质子、再放出 1 个质子到外界环境中,呈现“慢释放”的特征.

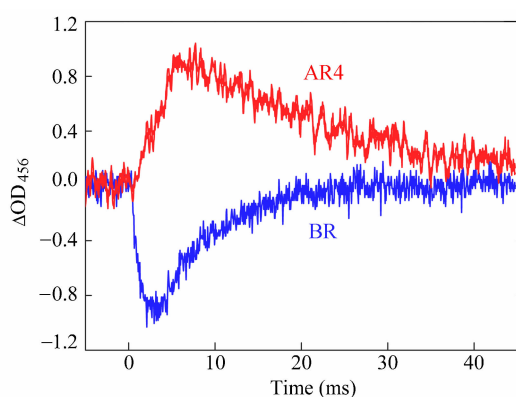


Fig. 3 Change of optical density at 456 nm, ΔOD_{456} , in the aqueous suspension of AR4 or BR at neutral pH versus time before and after illumination by a perpendicular beam of a camera photoflash

The absorption change obtained by the difference of OD values in the presence and absence of the pH-sensitive dye pyranine measures the transient change of medium pH, which indicates the time sequence of proton release and uptake of the retinal proteins in a photocycle.

2 AR4 的光驱质子泵机理与调控

为了探讨 AR4 的质子泵机理,需要测定一系列关键氨基酸的弱酸性或弱碱性基团的 pK_a 以及在光循环中 pK_a 的变化. 其中特别重要的基团是质子释放复合体 (proton release complex, 简称 PRC). PRC 在跨膜质子传递过程中主要扮演着向胞外侧放出质子的作用,所以也被称为质子释放基团,它是目前细菌视紫红质中尚存的不够了解的主要功能基团之一. PRC 由哪些残基组成至今并不完全清楚,研究者们认为它可能是由多个关键氨基酸残基及质子通道内部 (靠近胞外侧) 区域存在的一些水分子团共同发挥作用而完成质子释放功能. 通常情况下,由于在光循环过程中 PRC 在 M 态时泵出质子,所以研究者们可以通过 pH 滴定的方法在一系列不同 pH 条件下测量蛋白质的光驱质子泵的时间顺序,并根据发生反向的介质 pH 来确定 PRC 在 M 态的 pK_a 值^[14].

对于 AR4 这个新成员,原有的 pK_a 测量方法中所使用的染料的 pH 敏感范围并不适用. 因此,我们发展了测定相关 pK_a 的新方法. 结果显示,改进的方法不仅有利于 AR4 的研究,对 BR 等其它光驱质子泵的研究也将具有推动作用.

2.1 视黄醛蛋白质在基态和 M 态质子释放基团 pK_a 的新测定方法

2.1.1 pH 敏感染料法

国际上测量 BR 质子释放基团 pK_a 普遍采用的染料是图 3 中所采用的 pyranine. 该染料自身的 pK_a 在中性. 由于 AR4 中质子提取和释放的时间顺序的反转发生在碱性 pH 区间,所以 pyranine 不能满足实验需求,需要一种新的染料. 经过多次筛选,本课题组终于找到了对弱碱性环境敏感且适合含视黄醛蛋白质测量的染料——百里酚蓝(thymol blue),并检测了不同 pH 条件下 AR4 蛋白质泵的反应情况. 综合其它方法,我们首次提出相对于 BR, AR4 是一类内部关键基团发生“碱化”了的质子泵^[51].

2.1.2 光电化学响应法

由于染料法测量蛋白质的质子泵行为对蛋白质所处环境的要求较高,同时受染料自身敏感性的影响,该方法存在着固有的局限性. 因此,包括本课题组在内的相关研究者提出了光电化学响应法,以测量和反映视黄醛蛋白质的质子泵行为.

作者课题组在光电化学膜和光电化学电解池方法上均有发展. 光电化学响应法能够提高测量视黄醛蛋白质光驱质子泵行为的信噪比,更好地描述和定量该动力学过程. 研究者利用人工薄膜可制备出各式各样的光电仿生系统^[65],同时视黄醛蛋白质的定向和无规沉积膜还可以检测质子化基团的 pK_a 值^[66-70],该光电信号的测量也是分析和研究蛋白质泵功能动力学的有效方法. 在此基础上,本课题组提出了一种测量无规沉积膜光电信号的方法以确定质子释放基团在 M 态中的 pK_a 值^[71]. 该方法的原理是在光激发状态下,视黄醛蛋白可使周围环境发生瞬间酸化和碱化,瞬时质子转移可产生微弱的光电流,再由导电玻璃组成的电极之间形成光电压,从而产生光电信号;该方法可以反映视黄醛蛋白的质子泵动力学过程,从而可对其原理给出详尽的解释和分析. 我们还推导分析了光电信号的 3 个组分的理论公式,并得到实验验证^[71]. 该改进的方法突破了在宽泛的 pH 范围内和不同缓冲液体系中无法测量蛋白

质质子泵行为的经典难题,更实用和方便地用于数据的定量化拟合和分析,便于准确地确定 PRC 在 M 态的 pK_a 值.

本课题组采用光电化学响应法测量了 BR, AR4 以及一些化学添加剂作用下的蛋白质的光电信号,并做了进一步的分析. 我们的研究还发现,缓冲试剂和盐溶液对于蛋白质 M 态的 pK_a 值有降低作用,其中冠醚的影响效果较大,可以使中性条件下 AR4 的质子泵的时间顺序发生反向^[71].

Iwamoto 和 El-sayed 等在无规沉积膜的光电方法基础上做出了改进,提出了一种新的光电化学电解池的方法检测光引发的憎光视紫红质(phoborhodopsin, pR)和 BR 蛋白质在液态环境中的质子释放和提取行为^[72, 73]. 本课题组也独立地利用自行设计的光电化学电解池对野生 BR、AR4 进行了检测,同时检测了加入去垢剂 Triton 对它们的质子泵行为影响的状况,对质子释放基团的基态和 M 态的 pK_a 值也进行了相应的滴定^[74]. 该装置通过一个半透膜将蛋白质溶液和参比溶液分隔开,利用蛋白质在光激发下引起的质子释放和提取的不对称性导致 pH 敏感的导电玻璃电极电势变化,发生光电化学反应而形成光电信号. 该方法克服了光电测量法中部分蛋白质沉积膜无法测量的特殊情况,如去垢剂容易使蛋白沉积膜从导电玻璃上脱落等问题;同时该方法更直接地反映蛋白在天然液态环境下的质子泵功能,也便于其它添加剂引入后质子泵行为的直接测量,无须制备沉积蛋白膜就可以直接测量信号,并具有样品便于回收等优点.

2.2 AR4 质子泵机理的弱偶联模型

质子泵机理是菌紫质等光敏感蛋白质最为基本的分子生物学话题之一. BR 的质子泵机理已经研究得较为清楚;对于新发现的 AR4,在本课题组介入之前,其相应的机理等研究尚未开展,如何解释 AR4 与 BR 相反的质子释放和提取时间顺序成为一个亟待探讨的科学问题. 阐明这个问题首先需要对于 BR 的质子泵过程有一定的了解.

在光的激发下, BR 和 AR4 蛋白的视黄醛辅基产生异构化,接着伴随蛋白质内部关键基团的 pK_a 发生变化,蛋白质发生构象转变从而产生具有不同最大吸收峰值的一系列中间产物,并最终回复到基态,该过程也被称为光循环. 在光循环的过程中,质子传递的发生离不开关键基团之间的

质子化状态的相互影响和作用. Balashov 等提出了第 85 位的天冬氨酸 (D85) 与质子释放基团之间存在着一种复杂的偶联作用^[75]. 该偶联作用过程简要表述如下: 在光循环过程中, 当 D85 获取质子后瞬间导致 PRC 激发态 pK_a 相比于基态发生下降, 下降的幅度也即代表了 D85 与 PRC 之间的偶联力大小; 蛋白质中的质子释放基团发生去质子化将反过来提高 D85 的 pK_a , 反之亦然, 即二者之间的 pK_a 存在着一定的相互联系.

作者课题组在此模型基础上根据 AR4 的特殊质子泵行为提出了一种弱偶联模型来解释 AR4 在天然状态下有别于 BR 的相反质子泵时间顺序的机理^[51], 这个过程如图 4 所示. 在 BR 的光循环过程中, D85 的质子化导致质子释放基团的 pK_a 从基态的 9.7 下降到 M 态的 5.7, 偶联力为 4 个 pH 单位; 而与 BR 形成对比的是, 在 AR4 中 D85 的质子化导致 PRC 的 pK_a 从 10.4 降到 8.4, 只有 2 个 pH 单位. 正是由于 PRC 基团基态较高的 pK_a 和与 D85 之间较弱的偶联作用, 导致 AR4 在中性条件下 PRC 不能发生去质子化进而产生了慢释放的质子泵时间顺序. 我们的解释获得了同行的认可^[52,53,59]. 在中美合作过程中, Balashov 等还进一步指出 AR4 的一个特点: 尽管质子释放显著变缓, AR4 中的质子释放基团依然保持着释放质子以及促进完成光循环、回复初始态的生物功能^[51].

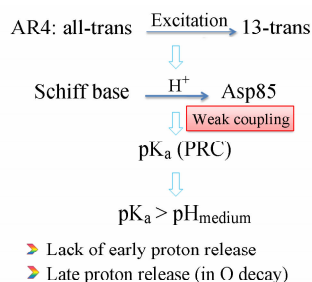


Fig. 4 Schematic presentation of weak coupling between the protonation of D85 and the decrease of pK_a of PRC in the M state of AR4^[51] (Adapted by permission of Elsevier)

2.3 导致 AR4 性能不同于 BR 的部分关键氨基酸的寻找

弱偶联模型虽然对于 AR4 不寻常的质子泵时间顺序给出了一定的解释, 但并没有指出到底是哪些氨基酸的差异导致了弱偶联的发生. 为了寻找这些关键氨基酸, 我们进一步通过对比 BR 与 AR4 残基的差异, 开展了相关的分子生物学研

究. 在 BR 类蛋白质的相关研究中, 基因突变是一种确定某氨基酸是否在光循环和质子泵中存在关键作用的常用技术手段. BR 质子释放基团是由若干氨基酸残基和水分子团共同参与组成的. 对这些关键氨基酸以及与水分子团氢键网络连接的氨基酸进行突变往往导致质子释放的时间顺序发生改变、受阻或者甚至导致在光循环过程中无法正常释放质子到外界环境中. 相关的突变体包括将 BR 中第 129 位赖氨酸替换为组氨酸的 BR-K129H 突变体, 将 BR 中第 82 位精氨酸替换为谷氨酰胺的 BR-R82Q 突变体, 将 BR 中第 85 位天冬氨酸替换为天冬酰胺的 BR-D85N 突变体, 将 BR 中第 194 位谷氨酸替换为谷氨酰胺的 BR-E194Q 突变体等等^[75-77].

作者课题组与 Huang 课题组合作进行基因工程点突变实验, 在原本不产生脱辅基蛋白但产生视黄醛的 L33 嗜盐菌株中重组表达野生 BR 及其定点突变体, 包括 K41E (第 41 位赖氨酸突变为天冬酰胺)、D102K (第 102 位天冬氨酸突变为赖氨酸)、P77D (第 77 位脯氨酸突变为天冬氨酸) 等. 之所以设计上述突变, 主要是因为 BR 与 AR4 中这些氨基酸位点呈现出差异, 因此, 这些突变是导致 AR4 与 BR 质子泵释放的时间顺序相反的“可疑”氨基酸. 研究表明, 第 41 位赖氨酸和第 102 位天冬氨酸的突变不能改变 BR 的质子泵时间顺序, 因此这两个位点不是导致对质子释放和提取时间顺序造成重大影响的关键氨基酸残基^[78]. 除了在基因工程宿主菌中表达野生性蛋白质以外, 作者课题组总共设计并通过与生命科学学院合作指导研究生表达了 BR 的 10 个点突变体^[79], 其中, 除了 D36C 以外均为新的突变体, 包括 K41E, K41D, P77D, D96V, D102K 和 D102E 这 6 个单点突变以及 K41E/D102K 和 K41D/D102E 这 2 个双点突变.

就调节质子泵的时间顺序而言, 效果特别显著的是 BR-P77D. 第 77 位脯氨酸刚好处于质子释放基团附近^[77], 因此我们推测, 它有可能对质子泵起着重要的作用^[51]. 我们的实验也表明, 相比于中性条件下 BR 的“快释放”以及 AR4 “慢释放”的质子释放和提取的时间顺序, BR-P77D 的质子泵行为正好介于 2 种之间, 呈现有趣的三组分特征, 即先释放、后提取、再释放, 该实验证实了第 77 位氨基酸可能是影响 AR4 质子释放动力学过程的重要氨基酸残基^[80], 对于导致 AR4 的“弱

偶联”效应很可能起到十分重要的作用. 我们切实体会到,如同化学合成对于研究物质的结构性能关系所起到的作用一样,基因工程点突变技术是通过比较氨基酸序列造成的蛋白质性能改变从而了解复杂生物大分子结构功能关系的有力手段.

2.4 去垢剂 Triton X-100 处理逆转 AR4 质子提取和释放时间顺序的新现象

菌紫质作为一种膜蛋白,在水中具有团聚的特征. 通常所得到的蛋白质其实都是较大的膜碎片,这样必然不利于将来提高材料的均匀性和分辨率. 为此,我们试图先从基础研究的角度得到较为分散的紫膜碎片,甚至为单个分散的蛋白质. 去垢剂或表面活性剂是研究膜蛋白的一种常用手段. 通过引入表面活性剂处理得到了单个蛋白质,并且意外发现,对于我们手中特有的 AR4 而言,蛋白质的聚集状态影响了质子泵的时间顺序.

胡坤生研究小组等发现表面活性剂 3-[(3-

胆酰胺丙基)-二乙胺]-丙磺酸 (3-[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate, CHAPS) 可用于溶解含有 BR 的紫膜,并利用原子力显微镜观察发现晶格经去垢剂处理后发生裂解,膜表面形成裂纹和凹陷^[81]. 我们则意外发现表面活性剂对于含有 AR4 的紫红膜功能有特别的作用. Triton X-100 (学名聚乙二醇辛基苯基醚) 是一种常用的增溶膜蛋白的温和性非离子型表面活性剂,它具有亲水和疏水两性结构. 经过增溶后,蛋白周围的脂质被 Triton 替换;由于此时蛋白质的天然基因序列并未改变,这有助于我们研究脂环境对蛋白的质子泵功能以及光循环等性质的影响. 我们意外发现,经过 Triton 充分处理后的 AR4 蛋白在中性条件下发生质子泵时间顺序的反向,如图 5 所示;但与之形成对比的是, Triton 却不能使 BR 蛋白在中性条件下质子泵的时间顺序发生反向^[82].

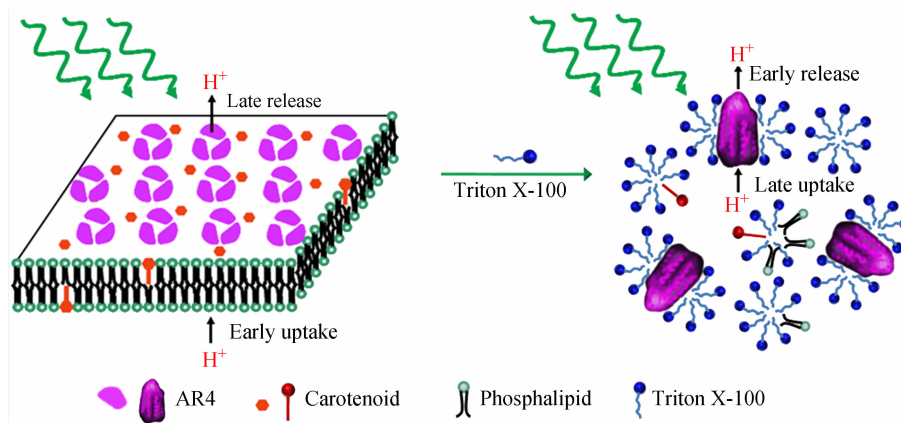


Fig. 5 Schematic presentation of the time order of light-induced proton release and uptake in AR4 assemblies (left) in the claret membrane (CM) and monomers (right) dissolved by Triton X-100. AR4 assemblies in CM exhibit proton uptake preceding proton release at neutral pH, while proton release precedes proton uptake in AR4 monomers.

这一意外现象引起了我们的兴趣,并对此进行深入的研究. 我们发现, Triton 可以使 BR 和 AR4 中质子释放基团 (PRC) 的基态和 M 态的 pK_a 均发生下降. 由于 AR4 中 PRC 在光循环中 M 态的 pK_a 值下降到 7.0 以下,所以在中性条件下表现为质子释放时间顺序的反转;而 BR 中 PRC 在 M 态的 pK_a 在 Triton 处理前后均小于 7.0,所以质子泵的时间顺序不变,均为“快释放”. 除此之外, Triton 对于 BR 和 AR4 的光循环还有一些共同的影响特性,如可以延长 M 态的衰减时间和减少 O 态组分的累积等等. 这些与蛋白质被增溶

后的单体化有关,导致蛋白质分子之间缺少协同效应而改变了光循环等特征.

足量的 Triton 加入后, AR4 所在的紫红膜被解体, AR4 呈现单体状态,同时蛋白内部关键基团的 pK_a 受到影响^[74] (在视黄醛蛋白质研究领域,所谓单体就是单独存在而不是聚集在一起的蛋白质,这个术语与高分子科学中习惯的单体的涵义不同). 文献中通常采用三聚体 (trimer) 来描述细菌视紫红质的聚集状态;而我们认为,从来没有人分离得到独立的三聚体,在紫膜和紫红膜中,蛋白质均以三聚体的六方堆积状态存在,并不表

明蛋白质本身就是以三聚体存在,这与血红蛋白的四聚体是不同的概念,因此,我们建议采用聚集体(assembly)予以区分单独存在的蛋白质单体(monomer 在这里实际上是代表被脂所包围的单个蛋白质分子)^[82].

AR4 的单体在光循环过程中的一系列 pK_a 首次总结如图 6 所示. 在经过 Triton 处理后得到

的 AR4 单体中 PRC 在基态和 M 态的 pK_a 均发生下降(M 态降至 5.2),且 D85 与 PRC 之间仍保持弱耦联作用,这导致在中性条件下光循环过程中 PRC 的亲水能力不足($pK_a < 7$)并导致其被迫失去质子,因此表现为光照后先释放再提取的质子泵时间顺序.

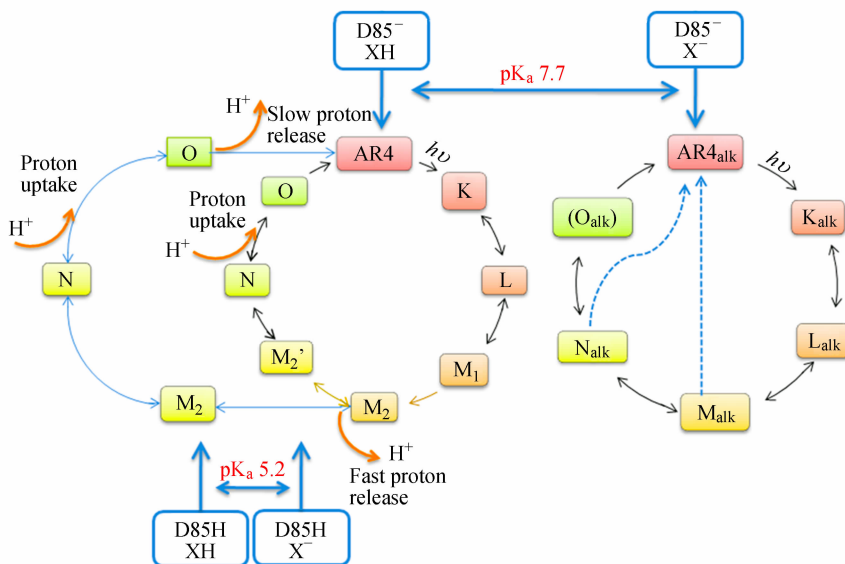


Fig. 6 Schematic presentation of photochemical reaction (with single capital letters indicating the intermediates in the photocycle) and proton transport (orange arrows) of AR4 monomer

At the normal pH, a proton is released to the extracellular side at the M state, and then another proton is taken up from the cytoplasmic side at the O state. At very low pH ($pH < pK_a$ of PRC in the M state), proton release cannot occur before proton uptake. At very high pH ($pH > pK_a$ of PRC in the unphotolyzed state), O intermediate is shunt during the photocycle. The subscripts "alk" denotes the states with respect to the red-shifted form of the pigment in the alkaline pH. The pK_a of PRC in the M state of monomeric pigment drops significant to induce early proton release at neutral pH.

参照 AR4 与 BR 的序列以互相“比对”的方式所作的基因突变研究以及对 AR4 聚集态和单体所作的对比研究显示,AR4 与 BR 质子泵过程中的质子释放和质子提取的时间顺序相反可能是 AR4 质子释放通道内关键酸碱氨基酸的不同以及脂环境的区别等因素所共同作用的结果.

2.5 蛋白脂质体制备时的 pH 影响最终质子泵自组装后蛋白质取向的新现象

不论 BR 还是 AR4,它们都是跨膜蛋白质,具备两亲性,可以与天然或合成的两亲性物质进行自组装.脂质体是指由磷脂双分子层组成的囊泡结构.由于 BR 是一种典型的膜蛋白且具有离体的生物活性,研究者们将 BR 与其它脂质进行自组装,并对其性质进行了广泛的研究^[83~88].BR 进入脂质体后所形成的蛋白脂质体中,绝大多数

(约 90%)的蛋白分子具有相同的取向,但是,自组装的方向刚好与其在天然细胞膜中的方向相反,即 N 端反而朝向脂质体的内部,而 C 端朝向脂质体的外部.持续光照下,由于光敏蛋白质的定向质子传输发生累积,脂质体的外部可以感应到 pH 碱化的信号,而内部将产生持续酸化,质子泵内外产生质子浓度差,直到累积到一定程度后, H^+ 向脂质体外部发生扩散并最终达到平衡.

为了研究 AR4 在自组装进入脂质体后的取向行为,我们课题组利用卵磷脂 EPC 同样制备了含 AR4 的脂质体^[50],经过检测发现持续光照下脂质体外部也产生了碱化现象,证实 AR4 同 BR 一样,在自组装时倾向于呈现反向分布.有趣的是,我们发现,制备含蛋白的二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC)脂质体时的介质 pH 对于最终的蛋白在

脂质体膜上的择优取向特性有重要影响:在中性条件下得到的含 BR 脂质体表现为与天然膜相比“反向”的取向行为,而在酸性条件下,自组装得到的 BR 脂质体则表现为与天然膜相比“正常”的取向行为(即 N 端倾向于朝向脂质体外侧),与多数条件下 BR 离子体组装膜的取向性相反^[88]。我们推测,这可能与 BR 所在膜片中所含有的脂质的空间结构和荷电性有关。

3 视黄醛蛋白质与聚合物的复合材料

3.1 光敏蛋白质/聚合物复合材料的制备方法

由于视黄醛类蛋白质本身不具备良好的加工性能和力学性能,通常需要与高分子结合制备光敏复合材料。聚乙烯醇(PVA)和聚丙烯酰胺等由于具有较好的水溶性,可以通过与 BR 混合后的水溶液经浇铸干燥后成膜^[89,90]。另外,也可以采用原位聚合的方法形成交联网络以包裹蛋白质,如丙烯酰胺单体与 BR 混合并添加交联剂和引发剂后,可通过聚合反应形成原位复合的聚丙烯酰胺凝胶基的功能复合膜。

不仅水溶性的合成高分子可以用来复合视黄醛蛋白质,明胶等结构性天然高分子也可以被用来包裹这些光敏的活性蛋白质^[28,91,92]。不仅如此,我们还尝试将 BR 直接通过化学反应交联在分子基质当中,以提高其稳定性,可以抵抗强碱等不利环境。我们将交联剂 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)加入明胶/蛋白混合溶液进行直接交联固化反应,再经过干燥成膜可以得到较为均匀的复合膜^[93]。

总结利用高分子复合光敏蛋白质的方法共有 3 种^[94,95]:(1)溶剂浇注、物理包裹蛋白质法;(2)原位聚合、物理包裹活性蛋白质法;(3)原位聚合且与蛋白质共价交联法。

3.2 复合本身对于活性蛋白质性能的影响

为了将具有离体活性的蛋白质制备成具有器件和产品功能性的材料,一般引入聚合物基质来增强蛋白质的成膜性和力学性能,但是复合本身不得导致蛋白质变性失活。与视黄醛蛋白质复合的基质材料通常选用具有良好生物相容性的高分子材料,这样做是为了在制作成膜过程中不使蛋白质发生变性,同时维持蛋白质长时间的离体活性和光学性能。

由于视黄醛蛋白质独具的耐酸碱和耐失水等

性能^[34],在聚合物复合膜干燥以后,蛋白质也不会丧失活性。不仅如此,M 中间体的寿命还显著延长,这为相应材料作为信息材料使用时提高中间体浓度从而提高衍射效应等带来了益处。

为了进一步提高蛋白质的存储寿命,有时也在制备过程中加入适量的碱性溶液或缓冲液以调节 pH 值。由于蛋白质在失水环境和碱性环境中具有延缓光循环的特性,制备复合膜可以辅助提高 M 中间体的寿命。

3.3 利用 BR 基因工程突变体与聚合物复合制备相关功能材料

提高 M 中间体寿命的另外一种重要手段是在了解质子泵机理的前提下设计基因工程点突变,通过改变部分关键氨基酸从而大大延缓光敏蛋白质的光循环。已知第 96 位天冬氨酸(D96)为质子受体,即从胞内侧接受 1 个质子,并且最终将这个质子提供给(失去质子后的)视黄醛与蛋白质相连的 Schiff 碱基;针对该位点的突变使得 BR 潜在地有望应用于信息存储等领域^[96~98]。BR-D96N 和 BR-D96V 的设计意图就是针对 BR 第 96 位天冬氨酸残基实施有效突变(N 为天冬酰胺,V 为缬氨酸)从而延长光敏蛋白质的 M 中间体寿命。其中,突变体 D96V 为作者课题组新设计引入的点突变^[98]。它与 D96N 的效果大体相仿,但是其中间体寿命对于含水量更加敏感。

3.4 两亲性高分子对于光敏感蛋白质性能的独特影响

我们特别考察了高分子类表面活性剂对于光敏感蛋白质的影响。我们选择了常见的两亲性嵌段共聚物聚氧乙烯-*b*-聚氧丙烯-*b*-聚氧乙烯,即 PEO-PPO-PEO(商品名为 Pluronic,具有 F127、P123 等若干系列)。结果意外发现,达到一定浓度以后该两亲性高分子化合物虽然并不能像小分子表面活性剂 Triton X-100 那样使得 BR 分散成单体,质子释放和提取顺序也没有受到影响,但是却大大延长了 BR 中间体的寿命。原来几十毫秒的弛豫时间现在可以达到 0.5 h,如此跨越多个数量级的性能提高是罕见的。我们发现在高含水环境下 BR 具有如此显著的长期存储效果(图 7),为三维存储材料的制备提供了很好的借鉴和启示^[99]。

上述现象不仅在聚合物形成的物理水凝胶中存在,在化学交联得到的水凝胶中依然得以保持。本课题组研究了一种嵌段共聚物大分子 F127-DA

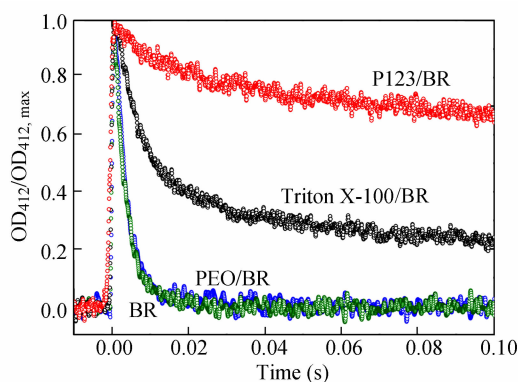


Fig. 7 Kinetics of M decay of BR with the indicated chemical additives in 10 mmol/L PBS

The molar ratios of chemical molecule/BR were kept as 750; All samples were measured at pH 7.0^[99] (Adapted by permission of The Royal Society of Chemistry).

对 BR 突变体的包埋水凝胶材料. F127-DA 是 F127 经过丙烯酰化形成的大单体; 将其与 BR-D96N 混合, 然后通过光交联反应可以得到一种高水含量的含有 BR 的复合材料^[100]. 由于 Pluronic 系列大分子作为添加剂对光敏蛋白质具有改性作用, 同时可以显著延长 BR 蛋白质 M 中间态的寿命, 再结合 BR-D96N 基因工程点突变的自身优良性质, 所得到的材料实现了高含水量体系中的最长的光致变色弛豫时间.

与该共聚物对 BR 的显著延长 3 个数量级相比, F127 对 AR4 的 M 中间体的延长时间为 1 个数量级, 这可能与脂分子玉红素对 AR4 的独特“保护”作用有关, 玉红素对 AR4 存在一定的稳定作用^[101].

经研究发现, 单纯地加入聚氧乙烯 PEO 一类均聚物则达不到使光敏蛋白质中间体的寿命明显延长的效果, 如图 7 所示. 作者课题组进一步探讨了只有两亲性高分子特别强烈地促进光驱质子泵的 M 中间体寿命延长的相关机理. 综合运用多种手段, 最终认为, 两亲性嵌段共聚物 Pluronic 既不会像小分子去垢剂 Triton 那样直接“溶解”紫膜或紫红膜; 又与 PEO 等均聚物不同, Pluronic 分子可以部分插入脂双层, 并且在紫膜或紫红膜的表面可以形成胶束, 如图 8 所示. 当表面胶束浓度较大时, 犹如在紫膜或紫红膜表面增加了一个聚合物涂层, 从而在高水环境中实现了类似光敏蛋白质/聚合物干态复合膜的延长 M 中间体的效果. 高水含量下容易实现 pH 等参量的调控, 我们的工作为研究和应用光敏蛋白质提供了一种新的途径. 该方法为制备信息复合材料提供了一种生物大分子(光敏蛋白质)与两亲性合成高分子相结合的独特技术, 同时, 也意外发现了一种新的改变蛋白质功能的自组装体系.

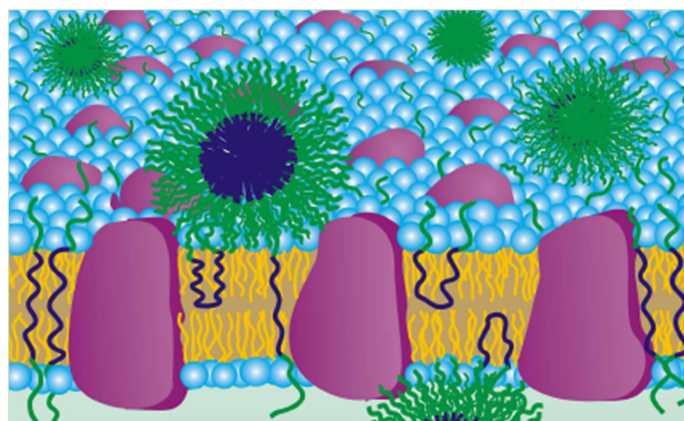


Fig. 8 Schematic presentation of the system of amphiphilic synthetic polymers and BR biomacromolecules

The hydrophobic PPO blocks are supposed to be inserted into the lipid bilayers; the hydrophilic PEO blocks and also the attached micelles cover the surfaces of the purple membranes; The proteins under water eventually experience a local polymeric coating, reminiscent of a BR/polymer film, which explains the effect of the amphiphilic polymers on the prolongation of the M decay of retinal proteins.

4 视黄醛蛋白质/聚合物复合膜作为信息材料的尝试

显然, 视黄醛蛋白质/聚合物复合膜的一个可

能的应用在于太阳能电池. 考虑到强烈太阳光照射下蛋白质会由于高温而部分或全部变性, 以及与其它非生命物质材料在价格等方面的竞争, 在太阳能电池领域的潜在应用仍有待观察. 光驱质

子泵的主要潜在用途在于利用其光色响应进行信息材料的研究. 这是由于 BR 等蛋白质具备初始响应快速^[102] (视黄醛异构化在皮秒数量级)、现比于大部分活性蛋白质高度稳定且可重复循环至少一百万次以上的优点^[34], BR 等视黄醛蛋白质还具有特殊的光致变色、光致双折射等优异性能. 以下仅对作者课题组与复旦大学生命科学院和信息学科合作所从事的部分探索进行总结.

4.1 基于蛋白质光致变色性能进行信息存储的尝试

视黄醛蛋白质的光致变色特性如图 9 所示. 在黄绿光的激发下, 视黄醛发生异构化转变, 从而使 BR 或重组 AR4 蛋白的吸收峰从 570 nm 左右发生转换为 410 nm 左右 (即 M 中间体的吸收特征), 蛋白质颜色发生变化, 即发生所谓光致变色现象.

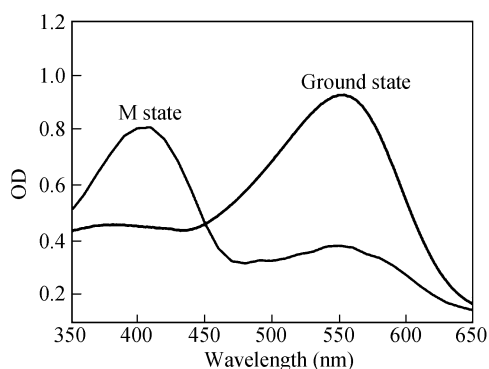


Fig. 9 Absorption spectra of recombinant AR4/PVA composite film in ground and M state as indicated^[103]
(Permission of Acta Polymerica Sinica)

利用这种光致变色的特性, 理论上可以进行信息存储和信息处理. 许多研究者都致力于探索 BR 介导的高分子复合材料在信息存储和光处理等方面应用的可能性, 最关键的一部分工作即是提高材料的光存储寿命和图像的分辨率, 其中包括利用基因改良的方法延长蛋白质关键氨基酸获取质子的时间以优化材料的最终存储寿命. 图 10 展示了 BR-D96V 突变体与合成高分子的复合膜经过掩膜遮盖成像后瞬间记录下来的具有特殊图案的光信息存储材料. 如果使用 M 中间体吸收峰对应波长的光子以照射, 图案信息还可以被擦除^[101].

4.2 基于蛋白质光致双折射等进行光信息处理的尝试

复旦大学信息学院赵有源课题组与作者课题组等合作进一步研究了上述 BR 突变体材料的光

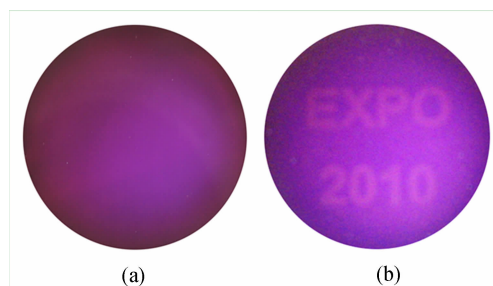


Fig. 10 Global image of BR-D96V/PVA composite film before (a) and after (b) illumination with halogen light
The image in (b) was captured 5 s after removal of a PET mask with the pattern "EXPO 2010"^[79].

学特性, 并对我们制备的 BR 突变体复合膜的光学折射参数等指标进行了测量^[104~106]. 对菌紫质与聚合物复合膜样品采用多种波长的激光器进行辐照, 根据吸收光谱变化筛选出光致变色性能较强的样品, 提供进一步实验使用. 赵有源课题组组装了一台可以作 Z 扫描的光学非线性性质测量装置, 对菌紫质与聚合物复合膜样品测试了各混合比例的样品光致非线性吸收与光致非线性折射率系数及类型.

在以上工作的基础上, 针对菌紫质与聚合物复合膜样品对光强灵敏的特点, 改进光学系统以适应菌紫质与聚合物复合膜的光致双折射性质的测试和光学图像显示系统, 测试装置和测量结果如图 11 所示.

图 11(b) 的原始图像被投影在 BR/高分子复合膜上. 如果只有探测光, 而没有泵浦光, 在经过正交的起偏器和检偏器以后, 仅得到黑色背景 (在获得(b)图时, 去除了检偏器, 才使得原始图像显示出来). 但即使在正交偏振的情况下, 如果在侧翼加入泵浦光, 且偏振方向与起偏器和检偏器均成 45° 角, 由于存在线偏振光诱导的 BR 双折射现象, 图像仍然得以显示 (见(c)图). 与现有的光诱导双折射材料相比, BR 材料具有光致双折射率高且具有在整个可见光波段均可以实现显示的优点^[104].

通过不同学科的合作研究, 我们还将光偏振技术和泵浦-探测光技术结合, 达到使图像增强、减弱、擦除以及正象和负象等显示结果. 进一步结合光致双折射技术, 获得了宽带光开关效应, 部分结果如图 12 所示. 这种基于光敏蛋白质与合成聚合物复合膜的开关不仅具有全光开关性质, 还对传输光束颜色和波束形状具有选择性^[105].

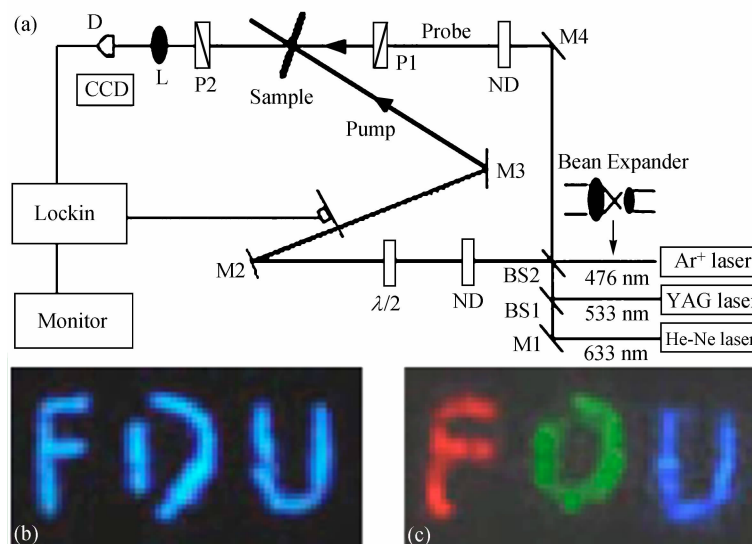


Fig. 11 (a) Experimental setup for investigation of photoinduced anisotropy in a BR/PVA composite film and corresponding image display; (b) Original image and (c) displayed image by three wavelengths (476, 533, and 633 nm) of probing beams with intensities of 0.22, 0.88 and 0.44 mW/cm^2
Pumping beam: 476 nm, 7 mW/cm^2 [104] (Adapted by permission of The American Institute of Physics)

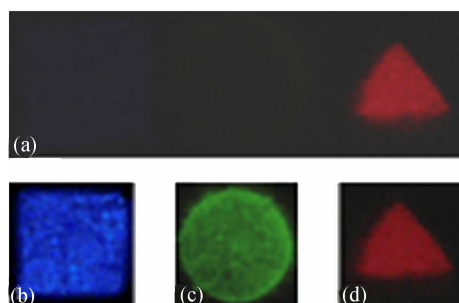


Fig. 12 Photographs of the transporting beam switched with different shapes and wavelengths based on BR/PVA composite films: (a) red triangle, 633 nm, (b) blue square, 476 nm, (c) green circle, 533 nm, (d) red triangle, 633 nm [105] (Adapted by permission of Chinese Physical Society)

5 视黄醛蛋白质微阵列的制备和抗拒哺乳动物细胞黏附新功能的发现

5.1 综合基因工程等技术制备紫膜的微阵列

通过基因工程技术我们还以半胱氨酸取代细胞膜内侧的第36位天冬氨酸. 该操作使得主要带负电荷的膜蛋白胞内侧表面获得一个巯基活性位点, 有助于该蛋白质在外接直流电源下向阳极定向沉积并与金表面共价连接; 同时为了加强蛋白沉积膜的光电信号和提高稳定性, 我们还利用交

联剂将紫膜各层之间化学交联; 最后将不含有金图案表面沉积的紫膜通过 Triton 淋洗除去. 我们用这种方法获得了由含 BR-D36C 蛋白质的紫膜与金表面共价反应连接制备的紫膜光感微阵列 [107]. 在条件满足的情况下, 该种含有微图案的 BR 阵列技术理论上还可以构成独特排布的微米甚至纳米电路设计模块, 产生以单点为单元的独立光电信号.

5.2 紫膜的抗细胞黏附功能

作者课题组还进行了紫膜微阵列在生物材料方面的探索 [108~115], 我们出于好奇, 尝试在 BR 光敏生物材料表面培养 MC3T3-E1 (鼠成骨细胞前体细胞), 结果意外发现了视黄醛蛋白质的新功能 [116]. 图 13 所示为在含有紫膜共价连接的微阵列表面接种哺乳细胞 MC3T3-E1 的效果. 经过 8 h 的细胞培养并去除不黏附的细胞后, 可以看到在紫膜以外的区域细胞可以良好黏附, 而紫膜所占据的区域则明显抗黏附. AR4 所在的紫红膜也有一定的抵抗细胞黏附的功能. 我们进一步推测, 该抗黏附效果也可解释为光敏蛋白质存在一种天然“自清洁”效应, 对于相关嗜盐菌发挥功能、避免干扰有重要作用. 这种抗拒哺乳动物细胞黏附的暂新的效应为探索光功能蛋白质对细胞行为的调控提供了新的研究空间.

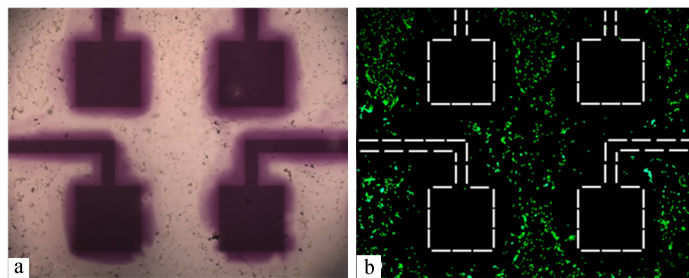


Fig. 13 Optical graphs of purple membrane (PM) microarray cultured with MC3T3-E1 cells: (a) bright field and (b) fluorescent images

The bright-field (a) and fluorescent (b) images were taken 8 h after cell seeding. Unattached cells were removed by rinsing with PBS before imaging. The purple regions in (a) indicate PM patches linked to gold pixels; the dashed line in (b) indicates the position of gold pixels. The Live/Dead staining made live cells in green and dead cells in red observed in the fluorescent mode.

6 总结与展望

本文对视黄醛膜蛋白的研究进行了评述,尤其是本课题组近年来在古紫质 4 和视紫质的光循环、质子泵机理以及与其它化学物质(尤其是嵌段共聚物)的自组装方面进行了总结,并对光敏蛋白质与高分子材料复合制备新型功能材料给予介绍了。

BR 作为一种典型的功能化膜蛋白以及一种离子泵传递模型得到了广泛的关注. 我们课题组对于 AR4 质子泵机理的探讨也取得了一定进展,例如:提出了弱偶联模型揭示 AR4 在中性条件下质子释放和提取的时间顺序与常见的 BR 正好相反的机理^[51],并发现第 77 位氨基酸残基是导致 AR4 弱偶联的重要因素^[80]. 但是, BR-P77D 的突变毕竟还没有彻底扭转质子泵的时间顺序,尚未完全达到 AR4 的效果. 因此,到底那些氨基酸导致了 AR4 与 BR 的差异仍然没有最终解决. 需要通过基因工程突变等手段进一步予以探讨. 此外, AR4 的空间结构迄今为止还只是通过生物信息学手段与 BR 的比较而从理论上予以初步预测,最终解析 AR4 空间结构的任务尚未完成. 将蛋白质等大分子的计算机模拟^[117-128]与视黄醛蛋白质的结构功能研究相结合也是一个重要的切入点.

作为一种在中国发现的新型视黄醛蛋白质, AR4 显示了独特的光电响应性质,如中性条件下相反的质子释放和质子提取的时间顺序,其特殊的脂质环境以及其不同于 BR 的某些氨基酸序列对于人们深化认识视黄醛蛋白质有重要借鉴作用;此外,从功能材料的角度, AR4 也作为我国具

有自主知识产权的独特蛋白质仍值得深入研究.

古紫质与菌紫质还提供了一种独特的自组装单元,尤其是两亲性嵌段共聚物显著影响上述蛋白质光功能的发现提供了该类功能性生物大分子与天然高分子组装复合的话题^[99,100]. 这类组装体的突出优点是具备光电响应和光色响应功能. 两亲性嵌段共聚物与两亲性小分子以及均聚高分子对于视黄醛蛋白质性能的影响差异显著,只有两亲性高分子能极大延长视黄醛蛋白质在高水含量环境中的中间体寿命,这些发现揭示了高分子的独到魅力,也提供了合成聚合物与活性生物大分子相互作用的新的研究空间.

在功能材料应用方面,利用高分子的良好加工性能制备蛋白复合膜和凝胶化材料也将为其潜在的应用奠定一定的基础. 但是,中间体的寿命和衍射效率依然有待提高. 如何在全息存储、防伪,乃至“蛋白质计算机”等领域找到真正的商业应用,是一个极具挑战的课题. 以 BR 等光驱质子泵制备的微阵列有待进一步研究,如何提高空间分辨率、如何实现单个像素的检测等,仍然有待深化. 该类聚合物基复合膜的制备、封装、存储等也都还有继续研究和优化的必要.

视黄醛蛋白质的光电响应特性为拓展其在能源材料方面的应用提供了一种可能. 最近,中国科学院化学研究所江雷课题组对于包括 BR 在内的不同仿生光电转换系统予以了总结^[33]. 虽然相关研究还面临诸多困难,但仍然值得探索. 我们认为,有必要寻求恰当的新的组合手段.

Boyden 课题组在 Nature 上发表的论文拓展了光驱质子泵的应用领域^[52]. 他们将 AR 的基因

转入神经细胞并在其中表达,这样就可以通过光控制光驱质子泵产生质子信号,再通过质子信号控制神经功能,最终实现了神经功能的非接触式的光功能调控^[52](该论文两度引用了我们对于AR4的光循环和质子泵的研究工作^[51]).古紫质、视紫质这些经过千百万年进化得来的光敏感生物大分子有时会在其它领域的基础研究中凸显妙用.

视黄醛蛋白质对不同种类哺乳动物细胞的抗黏附效果和作用机理为这个来自于微生物的蛋白质用于生物材料领域开启了新的可能性.尤其是将其特殊的性质与微阵列技术相结合有可能展现

美好前景.目前,利用图案化表面研究细胞与材料相互作用是生物材料与再生医学领域的重大课题,我们课题组近年来也取得了一定的进展^[129~134].在这个材料技术中,抗细胞黏附的背景基材十分重要.据我们所知,到目前为止,紫膜是唯一具备光电、光色响应特性的抗细胞黏附的材料.因此,利用古紫质和菌紫质等天然光敏分子进行细胞与材料相互作用(包含干细胞分化)等方面的探索将开启一个新的研究方向.基于生物大分子的光感应阵列器件的微制备和检测也有可能为未来特种生物芯片的研究带来新的启示.

REFERENCES

- Xie Laiyong(谢来勇), Hong Fei(鸿飞), Liu Jianhong(刘剑洪), Zhang Guangzhao(张广照), Wu Chi(吴奇). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (9): 1020 ~ 1025
- Zhang Yanxia(张燕霞), Yu Qian(于谦), Wu Zhaoqiang(武照强), Zhou Feng(周峰), Li Xin(李鑫), Chen Hong(陈红). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (6): 622 ~ 627
- She Wenchuan(余汶川), Luo kui(罗奎), He Bin(何斌), Ai Hua(艾华), Gu Zhongwei(顾忠伟). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (2): 157 ~ 165
- Chen Jingxiao(陈荆晓), Wang Huiyuan(王慧媛), Xu Xiaoding(许小丁), Chen Weihai(陈巍海), Zhang Xianzheng(张先正). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (8): 799 ~ 811
- Zhang Chunqiu(张春秋), Luo Quan(罗全), Liu Junqiu(刘俊秋). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (9): 1020 ~ 1025
- Zhou G, Cheng Y X, Wang L X, Jing X B, Wang F S. *Macromolecules*, 2005, 38: 2148 ~ 2153
- Yang L G, Chen L, Bai R, Yang F, Wang M, Chen H Z. *Solar Energy Materials & Solar cells*, 2007, 91: 1110 ~ 1119
- Cao Y, Parker I D, Yu G, Zhang C, Heeger A J. *Nature*, 1997, 397: 414 ~ 417
- Liu Lulin(柳露林), Song Wenli(宋文利), Zhang Zhiyong(张志勇), Sun Pengfei(孙鹏飞), Lu Xiaomei(卢晓梅), Fan Quli(范曲立), Huang Wei(黄维). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (7): 724 ~ 728
- Zhao Ruiyang(赵瑞阳), Zhang Wensi(张文思), Ma Yuguang(马於光). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011(9): 985 ~ 1000
- Lü Ang(吕昂), Zhang Lina(张俐娜). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2007, (10): 937 ~ 944
- Shi Xiaowen(施晓文), Li Xiaoxia(李晓霞), Du Yumin(杜予民). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (1): 1 ~ 11
- Wen Jianchuan(文建川), Yao Jinrong(姚晋荣), Shao Zhengzhong(邵正中). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2011, (1): 12 ~ 23
- Lanyi J K. *Annu Rev Physiol*, 2004, 66: 665 ~ 688
- Lozier R, Bogomolni R A, Stoerkenius W. *Biophys J*, 1975, 15: 955 ~ 962
- Oesterhelt D, Stoerkenius W. *Nat New Biol*, 1971, 233: 149 ~ 152
- Khorana H G, Gerber G E, Herlihy W C, Gray C P, Anderegg R J, Nihei K, Biemann K. *Proc Natl Acad Sci US*, 1979, 76: 5046 ~ 5050
- Kimura Y, Vassilyev D G, Miyazawa A, Kidera A, Matsushima M, Mitsuoka K, Murata K, Hirai T, Fujiyoshi Y. *Nature*, 1997, 389: 206 ~ 211
- Luecke H, Schobert B, Richter H T, Cartailler J P, Lanyi J K. *J Mol Biol*, 1999, 291: 899 ~ 911
- Balashov S P, Imasheva E S, Govindjee R, Ebrey T G. *Biophys J*, 1996, 70: 473 ~ 481
- Robertson B, Lukashov E P. *Biophys J*, 1995, 68: 1507 ~ 1517
- Joh N H, Min A, Faham S, Whitelegge J P, Yang D, Woods Jr V L, Bowie J U. *Nature*, 2008, 453(79): 1266 ~ 1270
- Prokhorenko V I, Nagy A M, Waschuk S A, Brown L S, Birge R R, Miller R J D. *Science*, 2006, 313(5791): 1257 ~ 1261
- Gong Qinggan(龚勤敢), Zhao Youyuan(赵有源), Huang Yuhua(黄玉华), Cheng Linbing(陈凌冰), Li Fuming(李富铭), Liu Jian(刘坚), Ding Jiandong(丁建东), Li Qingguo(李庆国). *Acta Biophysica Sinica*(生物物理学报), 1999, 15(1): 137 ~ 143
- Huang Yuhua(黄玉华), Zhao Youyuan(赵有源), Ouyang Xiaoping(欧阳晓平), Gong Qinggan(龚勤敢), Yang Qun(杨群), Cheng Linbing(陈凌冰), Li Fuming(李富铭), Zhang Zhongbin(张忠宾), Liu Jian(刘坚), Ding Jiandong(丁建东), Li Qingguo(李庆国). *J Optoelectronics Laser*(光电子激光), 1999, 10: 37 ~ 39
- Huang Y H, Zhao Y Y, Zhang Z B, Ouyang X P, Gong Q G, Yang Q, Cheng L B, Li F M, Liu J, Ding J D, Li Q G. *Chin Phys Lett*, 2000, 17(4): 301 ~ 303

- 27 Huang Yuhua(黄玉华), Zhao Youyuan(赵有源), Gong Qinggan(龚勤敢), Yang Qun(杨群), Cheng Linbing(陈凌冰), Li Fuming(李富铭), Liu Jian(刘坚), Ding Jiandong(丁建东), Li Qingguo(李庆国). *Chin J Lasers*(中国激光), 2000, 27(2): 187 ~ 192
- 28 Liang B, Li L Q, Li M L, Li B F, Jiang L. In: Lewis K L, Meerholz K. Eds. *Proceedings of The Society of Photo-optical Instrumentation Engineers*. San Jose: SPIE-Int Soc Optical Engineering, 2000, 4104: 64 ~ 70
- 29 Xiang Y, Zhang J, Liu Y, Guo Z B, Lu S F. *J Membrane Sci*, 2011, 367: 325 ~ 331
- 30 Huang Yuhua(黄玉华), Zhao Youyuan(赵有源), Ouyang Xiaoping(欧阳晓平), Gong Qinggan(龚勤敢), Yang Qun(杨群), Cheng Lingbing(陈凌冰), Li Fuming(李富铭), Zhang Zhongbin(张忠宾), Liu Jian(刘坚), Ding Jiandong(丁建东), Li Qingguo(李庆国). *Acta Opt Sinica*(光学学报), 2001, 21(1): 106 ~ 110
- 31 Huang Y H, Zhao Y Y, Ouyang X P, Li F M, Ding J D, Li Q G. *Chin Phys Lett*, 2003, 20(6): 959 ~ 961
- 32 Zeng L Y, Wu A G, Wang Y Z, Pu S L, Ding J D. *Microsc Res Techniq*, 2012, 36(11): 724 ~ 728
- 33 Tian Y, Jiang L. *Sci China Chem*, 2011, 54: 603 ~ 610
- 34 Hampp N. *Chem Rev*, 2000, 100: 1755 ~ 1776
- 35 Chen Deliang(陈德亮), Hu Kunsheng(胡坤生). *Acta Biophysica Sinica*(生物物理学报), 2001, 17: 441 ~ 448
- 36 Miyasaka T, Koyama K. *Appl Opti*, 1993, 32: 6371 ~ 6379
- 37 Birge R R, Gillespie N B, Izaguirre, E W, Kusnetzow A, Lawrence A F, Singh D, Song Q W, Schmidt E, Stuart J A, Seetharaman S, Wise K J. *J Phys Chem B*, 1999, 103: 10746 ~ 10766
- 38 Li M L, Li B F, Jiang L. *Langmuir*, 2000, 16: 5503 ~ 5505
- 39 Yao Baoli(姚保利), Li Baofang(李宝芳), Li Xingchang(李兴长). *Prog Biochem. Biophys*(生物化学与生物物理进展), 2001, 28: 844 ~ 847
- 40 Zheng Yuan(郑媛), Yao Baoli(姚保利), Wang Yingli(王英利), Lei Ming(雷铭). *Science in China-Series A*(中国科学-A 辑), 2002, 32: 481 ~ 486
- 41 Mukohata Y, Sugiyama Y, Ihara K, Yoshida M. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988, 151: 1339 ~ 1345
- 42 Enami N, Yoshimura K, Murakami M, Okumura H, Ihara K, Kouyama T. *J Mol Biol*, 2006, 358: 675 ~ 685
- 43 Lukashov E P, Govindjee R, Kono M, Ebrey T G, Sugiyama Y, Mukohata Y. *Photochem Photobiol*, 1994, 60: 69 ~ 75
- 44 Wang H, Zhan S X, Sun Q G, Xu D Q, Zhao W, Huang W D, Li Q G. *Chin Sci Bull*, 2000, 45(12): 1108 ~ 1113
- 45 Li Q G, Sun Q A, Zhao W, Wang H, Xu D Q. *Biochim Biophys Acta-Biomembr*, 2000, 1466: 260 ~ 266
- 46 Lu M, Balashov S P, Ebrey T G, Liu J, Huang L, Wang Y, Huang W D, Ding J D, Li Q G. *Biophys J*, 2001, 80: 2730 ~ 2730
- 47 Brown L S. *Biochemistry*(Moscow), 2001, 66: 1546 ~ 1554
- 48 Wang Yiran(王奕然), Hong Jie(洪洁), Ming Ming(明明), Ding Jiandong(丁建东), Li Qingguo(李庆国), Huang Weida(黄伟达). *J Fudan Univ*(复旦大学学报), 2003, 42: 576 ~ 583
- 49 Ihara K, Umemura T, Katagiri I, Kitajima-Ihara T, Sugiyama Y, Kimura Y, Mukohata Y. *J Mol Biol*, 1999, 285: 163 ~ 174
- 50 Wu J, Huang L, Liu J, Ming M, Li Q G, Ding J D. *Chin J Chem*, 2005, 23: 330 ~ 333
- 51 Ming M, Lu M, Balashov S P, Ebrey T G, Li Q G, Ding J D. *Biophys J*, 2006, 90: 3322 ~ 3332
- 52 Chow B Y, Han X, Dobry A S, Qian X F, Chuong A S, Li M J, Henninger M A, Belfort G M, Lin Y X, Monahan P E, Boyden E S. *Nature*, 2010, 463: 98 ~ 102
- 53 Wada T, Shimono K, Kikukawa T, Hato M, Shinya N, Kim S Y, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Tamogami J, Miyauchi S, Jung K H, Kamo N, Yokoyama S. *J Mol Biol*, 2011, 411: 986 ~ 998
- 54 Gao W Y, Yu Z W, *Chin J Chem*, 2008, 26: 1596 ~ 1600
- 55 Tao N, Cheng J, Wei L, Yue J C. *Langmuir*, 2009, 25: 5747 ~ 5752
- 56 Kikukawa T, Shimono K, Tamogami J, Miyauchi S, Kim S Y, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Jung K H, Yokoyama S, Kamo N. *Biochemistry*, 2011, 50: 8888 ~ 8898
- 57 Ozga K, Reshak A H, Berdowski J, Tylczynski Z, Wojciechowski A, Slezak A, Kityk I V. *Mater Lett*, 2011, 65: 1734 ~ 1736
- 58 Taran M, Monazah A, Asadi N. *Int J Biol. Macromol*, 2011, 49: 955 ~ 957
- 59 Yoshimura K, Kouyama T. *J Mol Biol*, 2008, 375: 1267 ~ 1281
- 60 Lobasso S, Lopalco P, Vitale R, Saponetti M S, Capitanio G, Mangini V, Milano F, Trotta M, Corcelli A. *Photochem Photobiol*, doi:10.1111/j.1751-1097.2012.01089.x
- 61 Henderson R, Unwin P N. *Nature*, 1975, 257: 28 ~ 32
- 62 Wu A G, Jia Z H, Schaper A, Noll F, Hampp N A. *Langmuir*, 2006, 22: 5213 ~ 5216
- 63 Tang L, Sun Q A, Li Q G, Huang Y B, Wei Q Q, Zhang Y, Hu J, Zhang Z H, Li M Q, Yang F J. *Chin Sci Bull*, 2001, 46: 1897 ~ 1900
- 64 Zimanyi L, Varo G, Chang M, Ni B F, Needleman R, Lanyi J K. *Biochemistry*, 1992, 31: 8535 ~ 8543
- 65 Yao B L, Wang Y L, Hu K S, Chen D L, Zheng Y, Lei M. *Photochem Photobiol*, 2002, 76(5): 545 ~ 548
- 66 Tamogami J, Kikukawa T, Miyauchi S, Muneyuki E, Kamo N. *Photochem Photobiol*, 2009, 85: 578 ~ 589
- 67 Robertson B, Lukashov E P. *Biophys J*, 1995, 68: 1507 ~ 1517

- 68 Wang J P, Yoo S K, Song L, El-Sayed M A. *J Phys Chem B*, 1997, 101: 3420 ~ 3423
- 69 Wang J P, Song L, Yoo S K, El-Sayed M A. *J Phys Chem B*, 1997, 101: 10599 ~ 10604
- 70 Koyama K, Sumi M, Kamo N, Lanyi J K. *Biochemistry and Bioenergetics*, 1998, 46: 289 ~ 292
- 71 Wu J, Ma D W, Wang Y Z, Ming M, Balashov S P, Ding J D. *J Phys Chem B*, 2009, 113: 4482 ~ 4491
- 72 Iwamoto M, Shimono K, Sumi M, Koyama K, Kamo N. *J Phys Chem B*, 1999, 103: 10311 ~ 10315
- 73 Chu L K, Yen C W, El-Sayed M A. *Biosens Bioelectron*, 2010, 26: 620 ~ 626
- 74 Wang Y Z, Wu J, Ming M, Zhao Y C, Ding J D. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2012, 76: 250 ~ 256
- 75 Balashov S P. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1460: 75 ~ 94
- 76 Govindjee R, Imasheva E, Misra S, Balashov S P, Ebrey T G, Chen N, Menick D R, Crouch R K. *Biophys J*, 1997, 72(2): TU396 ~ TU396
- 77 Garczarek F, Brown L S, Lanyi J K, Gerwert K. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 3633 ~ 3638
- 78 Zhao Y C, Wang Y Z, Ma D W, Wu J, Huang W D, Ding J D. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75: 1364 ~ 1370
- 79 Zhao Yingchun(赵迎春). Effects of mutagenesis on functions of bacteriorhodopsin and corresponding protein-based functional materials(基因突变对细菌视紫红质功能的影响及相关功能材料研究). Doctoral Dissertation of Fudan University(复旦大学博士学位论文), 2011
- 80 Wang Y Z, Zhao Y C, Ming M, Wu J, Huang W D, Ding J D. *Photochem Photobiol*, doi:10.1111/j.1751-1097.2012.01146.x
- 81 Li H, Chen D L, Hu K S, Han B S. *Chin Sci Bull*, 2003, 48: 573 ~ 576
- 82 Ming M, Wang Y Z, Wu J, Ma D W, Li Q G, Ding J D. *FEBS Lett*, 2006, 580: 6749 ~ 6753
- 83 Ollivon M, Lesieur S, Grabielle-Madelmont C, Paternostre M. *Biochim Biophys Acta-Biomembr*, 2000, 1508: 34 ~ 50
- 84 Kalmbach R, Chizhov I, Schumacher M C, Friedrich T, Bamberg E, Engelhard M. *J Mol Biol*, 2007, 371: 639 ~ 648
- 85 Cladera J, Rigaud J L, Villaverde J, Dunach M. *Eur J Biochem*, 1997, 243: 798 ~ 804
- 86 Freisleben H J, Zwicker K, Jezek P, John G, Bettin-Bogutzki A, Ring K, Nawroth T. *Chem Phys Lipids*, 1995, 78: 137 ~ 147
- 87 Liu Jian(刘坚), Zhu Yue(朱悦), Li Qingguo(李庆国), Ding Jiandong(丁建东). *J Fudan Univ(复旦大学学报)*, 1999, 38(5): 549 ~ 552
- 88 Huang Li(黄力), Ming Ming(明明), Liu Jia(刘嘉), Liu Jian(刘坚), Li Qingguo(李庆国), Ding Jiandong(丁建东). *Acta Biochimica et Biophysica Sinica(生物化学与生物物理学报)*, 2003, 35: 391 ~ 395
- 89 Ming Ming(明明), Liu Jia(刘嘉), Huang Li(黄力), Liu Jian(刘坚), Li Qingguo(李庆国), Ding Jiandong(丁建东). *J Funct Polym(功能高分子学报)*, 2003, 16(3): 405 ~ 411
- 90 Liu Jia(刘嘉), Ming Ming(明明), Liu Jian(刘坚), Huang Li(黄力), Li Qingguo(李庆国), Ding Jiandong(丁建东). *Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 2002, 60(12): 2209 ~ 2213
- 91 Weetall H H, Druzhko A B. *Curr Appl Phys*, 2003, 3(2-3): 281 ~ 291
- 92 Korchemskaya E, Burykin N, de Lera A, Alvarez R, Pirutin S, Druzhko A. *Photochem Photobiol*, 2005, 81(4): 920 ~ 923
- 93 Wang Y Z, Wu J, Ma D W, Ding J D. *Sci China Chem*, 2011, 54: 405 ~ 409
- 94 Ding J D, Ming M, Ma D W, Huang W D, Hong J, Li Q G. Chinese patent, ZL200510028918.8. 2008-06-18
- 95 Ding J D, Wu J. Chinese patent, ZL200710044244. X. 2012-02-08
- 96 Zeisel D, Hampp N. *J Phys Chem*, 1992, 96: 7788 ~ 7792
- 97 Liang B, Li B F, Zhang J P, Jiang L. *New J Chem*, 2002, 26: 1049 ~ 1053
- 98 Zhao Y C, Ming M, Hong J, Ma D W, Wu J, Li Q G, Huang W D, Ding J D. *Chin Sci Bull*, 2010, 55: 3825 ~ 3830
- 99 Ma D W, Wang Y Z, Wu J, Zhao Y C, Ming M, Ding J D. *Soft Matter*, 2010, 6: 4920 ~ 4930
- 100 Ma D W, Zhao Y C, Wu J, Cui T, Ding J D. *Soft Matter*, 2009, 5: 4635 ~ 4637
- 101 Ma Dewang(马德旺). Effects of synthetic polymers on functions of retinal proteins and related polymer/protein functional materials(合成高分子对视黄醛膜蛋白功能的影响及相应功能材料的研究). Doctoral Dissertation of Fudan University(复旦大学博士学位论文), 2010
- 102 Lu Junjun(陆俊珺), Ming Ming(明明), Yang Yi(杨毅), Wu Jia(吴佳), Li Bo(李波), Ding Jiandong(丁建东), Li Qingguo(李庆国), Qian Shixiong(钱士雄). *Acta Biochim Biophys Sin(生物化学与生物物理学报)*, 2004, 36(11): 724 ~ 728
- 103 Ma Dewang(马德旺), Ming Ming(明明), Hong Jie(洪洁), Wu Jia(吴佳), Li Qingguo(李庆国), Huang Weida(黄伟达), Ding Jiandong(丁建东). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2006, (9): 1078 ~ 1082
- 104 Wei L, Luo J, Zhu J, Lu M, Zhao Y Y, Ma D W, Ding J D. *Appl Phys Lett*, 2007, 90: 173902-1-173902-3
- 105 Wei L, Teng X L, Lu M, Zhao Y Y, Ma D W, Ding J D. *Chin Phys Lett*, 2007, 24(12): 3356 ~ 3359
- 106 Teng X L, Lu M, Zhao Y Y, Ma D W, Zhao Y C, Ding J D, Huang W D. *Appl Phys Lett*, 2010, 97: 071109(071109-1 ~ 071109-3)
- 107 Zhao Y C, Wu J, Huang W D, Ding J D. *Chin J Chem*, 2012, 30: 491 ~ 495
- 108 Sun J G, Graeter S V, Yu L, Duan S F, Spatz J P, Ding J D. *Biomacromolecules*, 2008, 9: 2569 ~ 2572
- 109 Sun J G, Tang J, Ding J D. *Chin Sci Bull*, 2009, 54: 3154 ~ 3159
- 110 Lai Y X, Xie C, Zhang Z, Lu W Y, Ding J D. *Biomaterials*, 2010, 31: 4809 ~ 4817
- 111 Zhang Z, Lai Y X, Yu L, Ding J D. *Biomaterials*, 2010, 31: 7873 ~ 7882
- 112 Huang J H, Ding J D. *Soft Matter*, 2010, 6: 3395 ~ 3401
- 113 Liu P, Sun J G, Huang J H, Peng R, Tang J, Ding J D. *Nanoscale*, 2010, 2: 122 ~ 127

- 114 Chang G T, Li C, Lu W Y, Ding J D. *Macromol Biosci*, 2010, 10:1248 ~ 1256
- 115 Zhang Z, Ni J, Chen L, Yu L, Xu J W, Ding J D. *Biomaterials*, 2011, 32:4725 ~ 4736
- 116 Zhao Y C, Ding J D. *Chin Sci Bull*, 2012, 57:234 ~ 237
- 117 Chaumont A, Baer M, Mathias G, Marx D. *ChemPhysChem*, 2008, 9:2751 ~ 2758
- 118 Chen Y T, Zhang Q, Ding J D. *J Chem Phys*, 2004, 120:3467 ~ 3474
- 119 Cui T, Ding J D, Chen J Y. *Macromolecules*, 2006, 39:5540 ~ 5545
- 120 Lu W Q, Ding J D. *Macromolecules*, 2006, 39:7433 ~ 7440
- 121 Ji S C, Ding J D. *Langmuir*, 2006, 22:553 ~ 559
- 122 Chen Y T, Zhang Q, Ding J D. *J Chem Phys*, 2006, 124:184903(1-8)
- 123 Luo Z L, Ding J D, Zhou Y Q. *Biophys J*, 2007, 93:2152 ~ 2161
- 124 Chen Y T, Zhou Y Q, Ding J D. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2007, 69:58 ~ 68
- 125 Luo Z L, Ding J D, Zhou Y Q. *J Chem Phys*, 2008, 128:225103(1-8)
- 126 Cui T, Ding J D, Chen J Y. *Phys Rev E*, 2008, 78:061802(1-7)
- 127 Chen Yantao(陈彦涛), Ding Jiandong(丁建东). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2009, (12):1238 ~ 1244
- 128 Chen Yantao(陈彦涛), Ding Jiandong(丁建东). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2010, (7):918 ~ 923
- 129 Huang J H, Grater S V, Corbellin F, Rinck S, Bock E, Kemkemer R, Kessler H, Ding J D, Spatz J P. *Nano Lett*, 2009, 9:1111 ~ 1116
- 130 Tang J, Peng R, Ding J D. *Biomaterials*, 2010, 31:2470 ~ 2476
- 131 Liu P, Ding J D. *Langmuir*, 2010, 26:492 ~ 497
- 132 Yan C, Sun J G, Ding J D. *Biomaterials*, 2011, 32:3931 ~ 3938
- 133 Peng R, Yao X, Ding J D. *Biomaterials*, 2011, 32:8048 ~ 8057
- 134 Pan Z, Yan C, Peng R, Zhao Y C, He Y, Ding J D. *Biomaterials*, 2012, 33:1730 ~ 1735

LIGHT-DRIVEN PROTON PUMPS OF ARCHAERHODOPSIN AND BACTERIORHODOPSIN AND POLYMER-MATRIX COMPOSITE MATERIALS OF THOSE FUNCTIONAL PROTEINS

Ya-zhuo Wang, De-wang Ma, Ying-chun Zhao, Ming Ming, Jia Wu, Jian-dong Ding

(*State Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Department of Macromolecular Science, Fudan University, Shanghai 200433*)

Abstract Combination of biomacromolecules with biological activity and conventional synthetic polymers with good mechanical and processing properties to prepare hybrid materials is a new branch in Material Science. This paper summarizes the investigations of two light-driven proton pumps, bacteriorhodopsin (BR) and archaerhodopsin 4 (AR4), with emphasis of the work by the authors' group and their cooperators in the latest decade. While BR was found forty years ago, AR4 is relatively new and was found by Chinese researchers one decade ago. In this first review about AR4, the authors made comparison between AR4 and BR, introduced their work of preparation of composite films composed of these retinal proteins and polymers. The review summarizes a series of the achievements by the authors and their cooperators, for instance: (1) revealing the mechanism of the light-driven proton pump in AR4 and putting forward a "weak-coupling model"; (2) finding that gellable amphiphilic polymers could enhance the relaxation time of AR4 and BR very significantly; (3) developing techniques of encapsulating BR and AR4 into polymeric hydrogels; (4) finding that a purple membrane containing retinal proteins can resist adhesion of mammalian cells; (5) a successful information recording based upon protein-polymer composite films. Finally, the future research and potential applications of the retinal proteins and corresponding functional materials are prospected.

Keywords Bacteriorhodopsin (BR), Archaerhodopsin (AR), Purple membrane, Proton pump, Photoelectric response, Photochromic response, Block copolymer, Functional polymeric material, Composite material, Information material