

Экспериментальное исследование процесса релаксации йодопсина *in vivo*.*Джус А.С.¹, Миланич А.И.^{1,2}*¹Московский физико-технический институт (государственный университет)²Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН

Человеческий глаз является важнейшим органом чувств человека и основным источником информации о внешнем мире, поскольку зрительная информация составляет более 80% всей информации от органов чувств. Хотя человеческий глаз хорошо изучен с медицинской точки зрения, многие аспекты зрительного восприятия исследованы недостаточно, следовательно, понимание механизмов зрительного восприятия требует изучения и уточнения.

Согласно современным представлениям, цветное зрение основано на обратимой фотохимической реакции разложения йодопсина под воздействием света. У человека существует 3 типа колбочек и три типа йодопсина, ответственных за восприятие красного (R), зеленого (G) и синего (B) цвета. Данная работа посвящена исследованию процесса изомеризации этой хромоформной группы белков (йодопсинов) в транс-форму при поглощении света (так называемое «выгорание» йодопсина), и дальнейшего восстановления разных типов йодопсина в глазу человека.

Априори нельзя утверждать, что скорость восстановления йодопсинов разных типов колбочек одна и та же. Но, прямое измерение скорости восстановления йодопсина человека прежде не проводилось, хотя известны некоторые работы на мышах [1] схожей направленности.

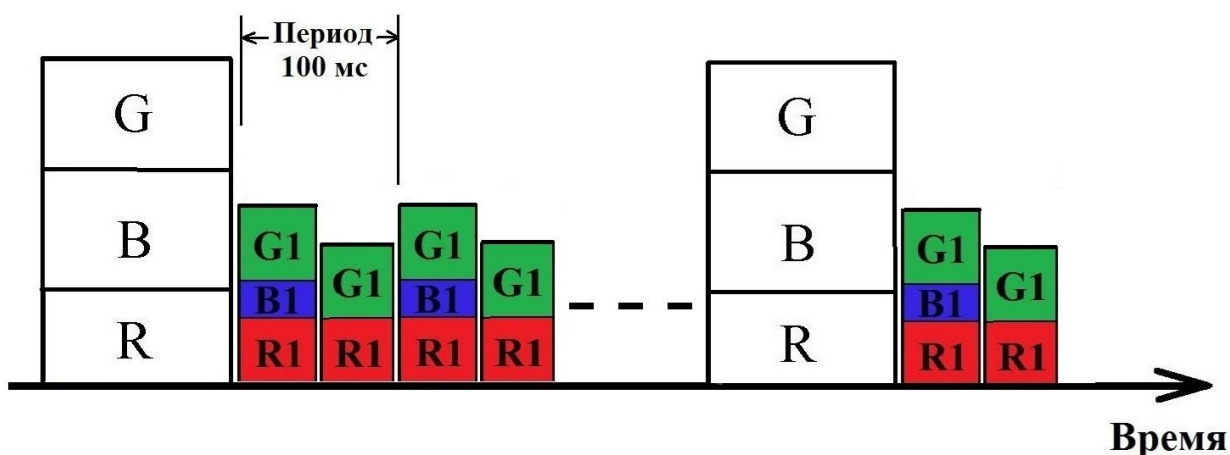


Рис.1 Последовательность импульсов при тестировании

Для исследований был разработан экспериментальный стенд, который инициировал «выгорание» всех типов йодопсина за счет мощной вспышки белого света, а

затем без задержки, глаз тестировался цветными быстроменяющимися импульсами с установленной в начале эксперимента и далее постоянной частотой, состав цвета которых варьировался по изложенному в [2] методу (см. рис. 1). Соотношение цветов светодиода корректировалось по градициям серого при условии $R = G = B$.

Экспериментальный стенд был реализован на базе микроконтроллера Atmega 8 и RGB-светодиода (см. рис. 2).

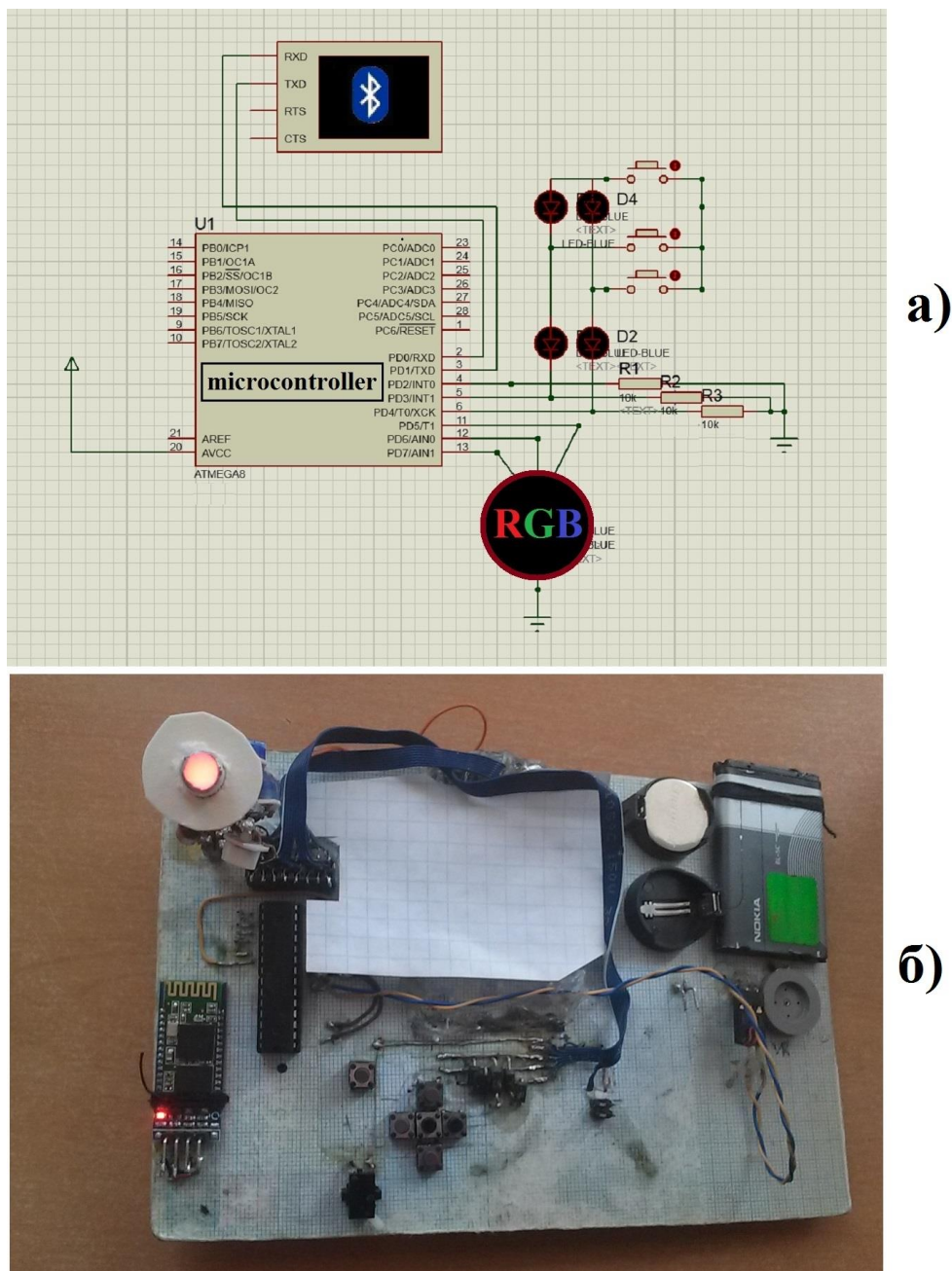


Рис. 2 Принципиальная схема устройства а) и его реализация в виде стенда б)

Сам эксперимент измерения времени восстановления йодопсина выглядит следующим образом: глаз засвечивается белым светом интенсивности (RGB=255,255,255) в течении 1 секунды, а далее подается базовый цвет (например, зеленый RGB=0,200,0) длительностью 0,05 сек. и по окончанию импульса подается, например, зеленый

смешанный с «тусклым» синим (RGB=0,200,15) длительностью 0,05 сек. затем последовательность повторяется до момента обнаружения мигания испытуемым (от 4 секунд до 0.7 секунды). В этот момент человек должен нажать на кнопку и цикл повторяется начиная с засветки белым, но с увеличенной компонентой синего. Фактор субъективности определения момента начала мигания - основной источник ошибок. Даже на явно выраженном мигании нажатие происходит не ранее чем через 700 мс, которые при обработке результатов вычитались как естественная задержка. Таким образом, по серии из 15-20 испытаний можно установить кривую восстановления йодопсина соответствующего цвета. Оптимальная для данного эксперимента оказалась частота 10 герц, т.к. чувствительность глаза к интенсивности находится на плато от 5-ти до 30-ти герц, что было проверено дополнительными экспериментами. При более высоких частотах (больше 10 герц), испытуемым начинают «мерещиться» мигания даже без добавления тестового цвета, что существенно увеличивает ошибку.

Эксперименты проводились на студентах МФТИ. Было установлено, что в области фотооптики полное восстановление йодопсина происходит за 3-4 секунды. Характерная кривая восстановления, построенная программой Excel, экстраполируется зависимостью $y=C*x^{-1.25}$, где Y-время нажатия на кнопку в миллисекундах, X-интенсивность синего цвета в RGB (Рис. 4) .

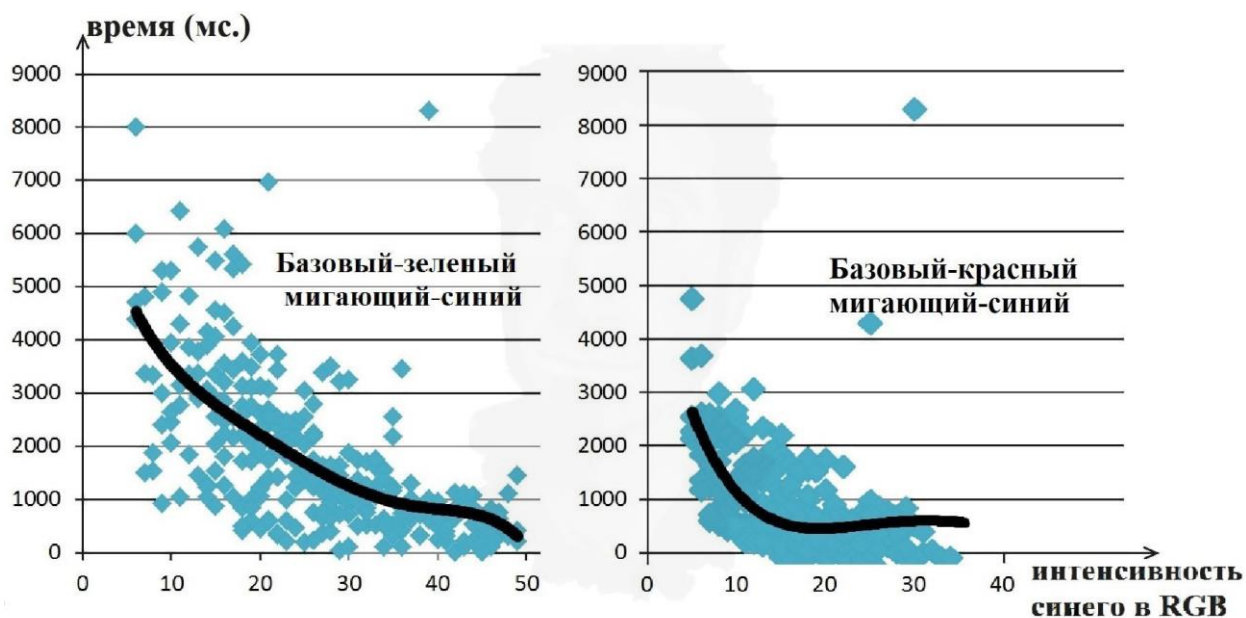


Рис. 3 Зависимость времени восстановления йодопсина от интенсивности тестового синего на фоне зеленого и красного цвета.

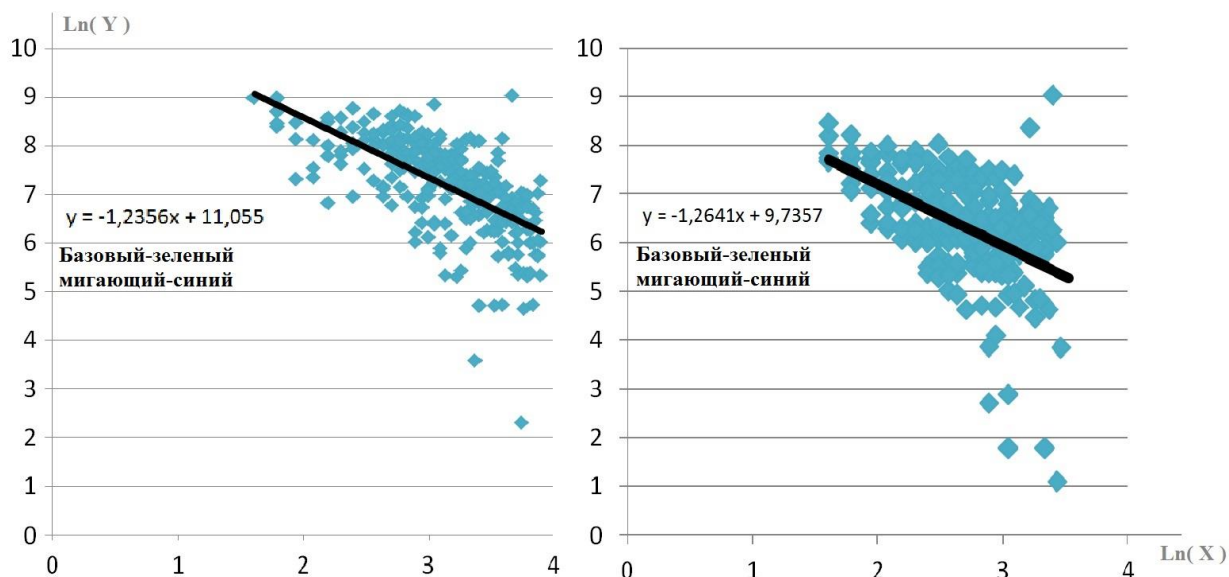


Рис. 4 Зависимость времени восстановления в логарифмических координатах (наклон кривых: $K=-1.25$)

Таким образом, предложена и опробована новая методика исследования динамики изменения йодопсина *in vivo* и сконструирован экспериментальный стенд, позволяющий проводить цветовые тесты на глазе человека. Выполнено тестирование глаза и исследован характер восстановления йодопсина. Тестирование студентов МФТИ выявило следующие закономерности: характерное время полного восстановления йодопсина (в области фотоопии) составляет 3-4 секунды. Синее мигание на красном фоне становится заметным для испытуемого раньше, чем на зеленом фоне.

Данные результаты носят предварительный характер и исследования будут продолжены.

Литература

1. Adams R.A., Liu X., Williams D.S., Newton A.C. Differential spatial and temporal phosphorylation of the visual receptor, rhodopsin, at two primary phosphorylation sites in mice exposed to light // *Biochem. J.* – 2003 – **374** - pp. 537–543 (Printed in Great Britain)
2. Миланич А.И. Способ определения цветного зрения в численном виде и устройство для его реализации // Патент РФ № 2499543 от 04.02.2011