



“十二五”国家重点图书出版规划项目

光物理研究前沿系列

总主编 张杰

生物分子光子学 研究前沿

骆清铭 等 编著

*Advances in
Molecular
Biophotonics*



上海交通大学出版社
SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY PRESS



“十二五”国家重点图书出版规划项目

光物理研究前沿系列

总主编 张杰

生物分子光子学研究前沿

Advances in Molecular Biophotonics

骆清铭 等 编著



上海交通大学出版社
SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY PRESS

内容提要

本书是“十二五”国家重点图书出版规划项目“光物理研究前沿系列”之一,包括新型荧光蛋白标记技术、双光子分子探针、光调控神经环路、拉曼成像及其生物医学应用、超分辨定位成像、光声分子(功能)成像、活体小动物光学分子成像等前沿专题。

本书可供生物分子光子学相关研究领域的研究生及从业人员阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物分子光子学研究前沿/ 骆清铭等编著. —上海:
上海交通大学出版社, 2014
(光物理研究前沿系列/ 张杰主编)
ISBN 978-7-313-11756-4

I. ①生… II. ①骆… III. ①生物光学—研究 IV.
①Q63

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 157799 号

生物分子光子学研究前沿

编 著:	骆清铭 等	地 址:	上海市番禺路 951 号
出版发行:	上海交通大学出版社	电 话:	021-64071208
邮政编码:	200030		
出 版 人:	韩建民		
印 制:	山东鸿杰印务集团有限公司	经 销:	全国新华书店
开 本:	710 mm × 1000 mm 1/16	印 张:	33.5
字 数:	589 千字		
版 次:	2014 年 10 月第 1 版	印 次:	2014 年 10 月第 1 次印刷
书 号:	ISBN 978-7-313-11756-4/Q		
定 价:	145.00 元		

版权所有 侵权必究

告读者: 如发现本书有印装质量问题请与印刷厂质量科联系

联系电话: 0533-8510898

光物理研究前沿系列 丛书编委会

总主编

张 杰

(上海交通大学, 院士)

编 委

(按姓氏笔画排序)

- | | |
|-----|-----------------------|
| 刘伍明 | 中国科学院物理研究所, 研究员 |
| 许京军 | 南开大学, 教授 |
| 李儒新 | 中国科学院上海光学精密机械研究所, 研究员 |
| 张卫平 | 华东师范大学, 教授 |
| 陈良尧 | 复旦大学, 教授 |
| 陈险峰 | 上海交通大学, 教授 |
| 陈增兵 | 中国科学技术大学, 教授 |
| 金奎娟 | 中国科学院物理研究所, 研究员 |
| 骆清铭 | 华中科技大学, 教授 |
| 钱列加 | 上海交通大学, 教授 |
| 高克林 | 中国科学院武汉物理与数学研究所, 研究员 |
| 龚旗煌 | 北京大学, 院士 |
| 盛政明 | 上海交通大学, 教授 |
| 程 亚 | 中国科学院上海光学精密机械研究所, 研究员 |
| 童利民 | 浙江大学, 教授 |
| 曾和平 | 华东师范大学, 教授 |
| 曾绍群 | 华中科技大学, 教授 |
| 詹明生 | 中国科学院武汉物理与数学研究所, 研究员 |
| 潘建伟 | 中国科学技术大学, 院士 |
| 戴 宁 | 中国科学院上海技术物理研究所, 研究员 |
| 魏志义 | 中国科学院物理研究所, 研究员 |

分享光物理之美

经过三年时间的策划,在数十位活跃在光物理研究最前沿科学家的巨大努力和重量级资深科学家的倾情参与下,“光物理研究前沿系列”丛书中英文版终于同时面世了。

光物理是近代物理学中历史最悠久、同时也最具活力的领域之一,特别是激光问世以来,光学渗透到众多学科领域,光学自身的面貌不断发生着深刻的变化。与此同时,光物理的研究内容也从传统的光学与光谱学迅速扩展到光学与其他学科的交叉分支领域,逐渐形成了丰满的学科体系;层出不穷的光学诊断方法和技术发明推动了许多学科快速发展,并进一步演化为新的科学前沿,这也是光物理研究中最美的景象。

近年来,随着我国科研实力的大幅增强,不少实验室都做出了国际水平的研究成果,我国科学家在 *Nature*, *Science*, *Physical Review Letters* 等国际顶级学术期刊上发表的论文数量已经在全世界占据了相当的份额,同时,国际顶级的综述类学术刊物也邀请我国科学家撰写了大批综述性论文。但是,令人遗憾的是,面向高年级大学生、研究生以及青年学者,介绍我国光物理科学前沿研究成果的专著还比较少,这也将成为制约我国光物理前沿研究未来发展的瓶颈。

出于这个原因,当上海交通大学出版社邀我作为主编,筹划组织编写一套“光物理研究前沿系列”丛书的时候,我欣然同意。我们的目标是编写一套给高年级大学生、研究生和青年学者阅读的中文入门读物,介绍国内外光物理前沿研究的最新进展。本丛书首批包括《强场激光物理研究前沿》《精密激光光谱学研究前沿》《非线性光学研究前沿》《纳米光子学研究前沿》《量子光学研究前沿》《超快光学研究前沿》《凝聚态光学研究前沿》《生物分子光子学研究前沿》等八个分册。每个分册包含了若干该领域的前沿研究专题,几十位活跃在光物理研究最前沿的作者均来自中国重要大学和科研院所。我们希望能以此为契机,汇集最有价值的研究资源,以供有建树的光物理科学家展示自身的研究成果;进而形成良好的学习和借鉴氛围,为高年级大学生、研究生以及青年学者提供学术交流的

平台。在每个分册的开始,我们都邀请了重量级资深科学家作序,介绍每个主题的精华,目的是想与大家一起分享光物理最前沿令人震撼的美。

强场激光物理对应的激光场强具有非常宽的范围,因而包含了极为丰富的非线性物理。强场激光物理及相关前沿新方向是现代物理学乃至现代科学中最重要的前沿之一,不仅有重大的科学意义,而且对国家战略高新技术与交叉学科领域也有重要的推动作用。

——摘自《强场激光物理研究前沿》的序

测量是物理学的基础。在物理学中,原子、分子和光学物理领域比其他任何学科都能更加有力地说明这一点。精密测量是原子、分子和光物理的一个重要分支:它提供了深入了解物理基本定律的重要方法,激励了科学技术前沿的发展,并且推动了许多社会意义重大的革命性应用。

——摘自叶军院士为《精密激光光谱学研究前沿》所作的序

激光的发明,引导出很多新的学科,对我们今天的科学技术以及日常生活都产生了重大影响。其中最重要的学科之一就是非线性光学,它对半个世纪以来科技的发展起了十分重要的作用。

——摘自沈元壤院士为《非线性光学研究前沿》所作的序

纳米光子学融合了光子学和当代纳米技术,研究纳米尺度下光与物质相互作用的机理和效应,在高速信息传输和处理、新能源以及生物医学等领域都有重要的应用。因此,纳米光子学既是国家层面的重点科技战略,又为科技产业发展注入了新的源动力。

——摘自张翔院士为《纳米光子学研究前沿》所作的序

量子信息科学的重大意义在于它的发展不仅仅具有诱人的应用前景,还在于它使得我们意识到:量子其实是信息的载体,而且对某些应用来说也许是最好的载体。我们再次发现,在量子信息科学的发展中,量子光学仍然扮演了重要的角色。这包括人们对光子纠缠操纵能力的逐步提升,光子系统在光量子计算、量子通信和量子精密测量等诸多方面的应用。

——摘自潘建伟院士为《量子光学研究前沿》所作的序

超快光学是随着超短脉冲激光的出现而诞生,并随着飞秒激光技术的迅猛发展而快速发展起来的。它始终与超快现象研究相互促进、共同发展。超快现象研究的需求带动了超快光学的发展,超快光学的进步又促进了超快现象研究范围的扩展和深度的提升。

——摘自侯洵院士为《超快光学研究前沿》所作的序

光与凝聚态物质相互作用是光物理学科的重要研究内容之一。一般说来,凝聚态光学研究包括两个方面。一方面激光作为一种性能优异的探针,可用于研究凝聚态物质的结构和运动规律。另一方面,通过凝聚态光学研究可以发现新的物质状态和新的运动规律,这些新发现可用于产生新的光源、新的探测器和多种其他器件。

——摘自杨国桢院士为《凝聚态光学研究前沿》所作的序

光物理的研究领域包罗万象,但从书规模有限,不可能面面俱到。作者和出版社已经尽了最大的努力,希望能从浩瀚广阔的光物理成就的海洋中选取最漂亮的“前沿浪花”结集成册。目前八个分册的阵容中,既有光物理研究领域的经典方向,也有近十年来发展迅猛的前沿方向;既有主要介绍科学进展的内容,也有主要介绍新技术的章节。然而,本丛书远不能代表光物理发展前沿的全部,更何况光物理研究前沿也处在日新月异的快速变化中,所以出版本丛书的目的就是抛砖引玉,希望能够吸引更多的年轻人走入光物理的科学殿堂,领略光物理之美。

当我掩上厚厚的书稿,准备送出付印之际,感慨万千。转眼间三年时间过去了,许多在三年前还认为只是个美好梦想的事情,现在变成了现实。作为主要策划者及丛书主编的我,对这套书有特殊的感情。可以说,本丛书凝聚了两代中国光物理学家多年来对世界科学发展的贡献和感情!为此,我要特别感谢丛书的所有作者,他们都是活跃在光物理研究最前沿的科学家。尽管他们每天的时间分配都是以分秒来计算的,但是,他们仍然抽出了大量的时间,撰写了各自前沿领域的进展。作为一个在光物理领域从业多年的科学家,我对他们非常了解,也非常敬佩他们的责任感与使命感。正是出于对科研和教育的强烈责任感和使命感,促使他们从繁忙的研究工作中抽出宝贵时间,甚至牺牲了很多与家人团聚的时间,撰写了各分册,对本丛书作出了至关重要的贡献。我还要感谢丛书的全部编委,他们不仅承担了写作的任务,还承担了策划组稿、审校稿件的繁重任务,是

他们的努力,构架了本丛书有机结构和宏大涉猎,保证了本丛书的质量。感谢美国科学院院士沈元壤先生为本丛书策划所作的努力,沈先生早年写就的《非线性光学》已经成为非线性光学研究的经典之作,他在“非线性光学五十年”的序言中,更是深入浅出地回顾和展望了非线性光学的发展脉络。感谢中国科学院院士杨国桢先生给予本丛书策划和出版的帮助,多年来,杨先生引领、见证了凝聚态光学研究的发展。他为《凝聚态光学研究前沿》所作的序言见解精辟,同时为凝聚态光学研究指出了未来的新前沿。感谢中国科学院院士侯洵先生为《超快光学研究前沿》作序,侯先生为中国超快光学的发展作出了奠基性的贡献,二十多年前,他访问英国时对超快光学领域进展的精辟点评,我至今犹在耳边。他们三位都是我老师辈的先生,从我还是学生的时候起,就从他们撰写的论文和学术专著中向他们学习,从他们的言传身教中向他们学习,多年来,我向他们学到了很多很多,至今他们也还是我的老师。

感谢美国科学院院士叶军先生为《精密激光光谱学研究前沿》作序,他是上海交通大学的校友,也是我交往多年的好朋友。他在精密测量、冷分子物理和冷原子光钟等方面的开拓性研究工作,至今都是光物理领域的重要里程碑。感谢美国国家工程院院士张翔先生为《纳米光子学研究前沿》作序,他在光学超材料方面的杰出成果在国际上引起了很大反响。感谢中国科学院院士潘建伟先生为《量子光学研究前沿》作序,作为我国最年轻的院士之一,他在量子通信前沿和应用方面所做出的杰出成果,让量子通信不再神秘。在本丛书中,我与他们联袂作序,用我们的共同努力,用我们各自对光物理前沿的理解和积淀,努力向读者介绍本丛书试图展现的光物理之美,希望能成为各自分册的点睛之笔。

最后,我想感谢上海交通大学出版社韩建民社长及编辑团队,他们付出了巨大的努力,使梦想成为现实。令人欣喜的是,在上海交通大学出版社和德古意特出版社的合力打造下,这套丛书前两册的英文版将作为“中国学术出版走出去”的第一波,同步在海外发行。在此,我祝愿这套丛书成为“中国学术出版走出去”第一波中最美的一朵“浪花”! 让我们一起分享光物理之美!



2014年10月于飞越太平洋的飞机上

目 录

I 新型荧光蛋白标记技术/ 张智红 骆清铭	1
1.1 引言	3
1.2 荧光蛋白及其突变体	4
1.2.1 色彩斑斓的荧光蛋白	4
1.2.2 大斯托克斯位移荧光蛋白	8
1.2.3 光激活与光转换荧光蛋白	9
1.2.4 光敏感荧光蛋白	10
1.2.5 计时荧光蛋白	11
1.3 报告型荧光蛋白探针	12
1.3.1 活细胞内的蛋白质示踪	12
1.3.2 活细胞内基因表达的监控	15
1.3.3 光转换和光激活荧光蛋白探针的生物学应用	16
1.4 功能型荧光蛋白探针	18
1.4.1 氧化还原型探针	18
1.4.2 ATP 荧光蛋白探针	21
1.4.3 pH 探针	22
1.4.4 电压敏感性探针	24
1.4.5 钙探针	26
1.4.6 汞离子探针	29
1.4.7 铜离子探针	29
1.4.8 锌离子探针	30
1.5 荧光共振能量转移型探针	31
1.5.1 荧光共振能量转移(FRET)简介	31
1.5.2 FRET 成像技术在细胞生物学研究中的应用	33
1.5.3 分子内 FRET 探针	34
1.5.4 分子间 FRET 探针	38

1.6	基于荧光蛋白的双分子荧光互补技术	40
1.6.1	双分子荧光互补检测方法的建立	40
1.6.2	双分子荧光互补技术的特点	42
1.6.3	双分子荧光互补技术的应用	44
1.6.4	基于荧光的蛋白相互作用研究方法的量化检测	45
1.6.5	双分子荧光互补技术的限制因素	46
1.6.6	BiFC 的发展与应用展望	46
1.7	荧光蛋白标记在活体肿瘤光学成像中的应用	47
1.7.1	基于内源性荧光蛋白标记的活体肿瘤光学成像	47
1.7.2	基于荧光蛋白的靶向性探针用于活体肿瘤光学成像	54
1.7.3	展望	58
1.8	荧光蛋白转基因小鼠在活体免疫光学成像中的应用	58
1.8.1	荧光蛋白标记的转基因动物模型	58
1.8.2	荧光蛋白标记的病原微生物在感染免疫成像中的应用	63
	参考文献	68
2	双光子分子探针/ 李 昱 董小虎 刘志洪 秦金贵	95
2.1	双光子吸收概论	97
2.1.1	双光子吸收效应的基本概念	97
2.1.2	双光子吸收效应的测试方法	99
2.1.3	双光子吸收效应的应用简介	102
2.2	有机双光子吸收材料的分子设计与结构类型	106
2.2.1	一维不对称偶极 D- π -A 结构的分子	106
2.2.2	一维对称结构的双光子吸收分子	109
2.2.3	卟啉及类卟啉等二维平面型双光子吸收化合物	114
2.2.4	多维枝型双光子吸收化合物	118
2.3	双光子分子探针的研究进展	121
2.3.1	荧光探针的识别机理	122
2.3.2	用于双光子成像的传统荧光探针	123
2.3.3	常用于双光子荧光探针的荧光团	125
2.3.4	双光子荧光探针的研究进展	127
2.3.5	双光子分子探针研究展望	165
	参考文献	167

3 光调控神经环路/ 刘 楠	177
3.1 光遗传学技术	180
3.1.1 光遗传学技术的历史	181
3.1.2 光遗传学技术的优势	182
3.1.3 光敏感蛋白	183
3.2 光遗传学技术研究的步骤	190
3.2.1 细胞特异性标记方法	190
3.2.2 病毒转染	194
3.2.3 构建光神经界面	196
3.2.4 光刺激参数选择	198
3.2.5 电生理记录及行为学	200
3.3 光分子探针解读神经环路的工作机制	202
3.3.1 光遗传学技术对神经环路信息编码机制的研究	202
3.3.2 光分子探针技术推动脑连接组学研究发展	207
3.4 光分子探针探究神经环路如何调控认知与行为	208
3.4.1 运动	208
3.4.2 感觉	212
3.4.3 记忆	215
3.4.4 情感	219
3.4.5 犒赏	220
3.5 光分子探针定位神经环路异常与疾病的关系	222
3.5.1 中枢神经系统疾病	222
3.5.2 光遗传学技术在外周神经系统、心血管系统、细胞生物学及 模式动物研究中的应用	224
3.6 用于神经科学的光学探针技术	232
3.6.1 光学探针技术	232
3.6.2 用于光遗传学技术的探针——光电极阵列	234
3.6.3 用于实验和临床的光遗传学装置	237
参考文献	238
4 拉曼成像及其生物医学应用/ 陈 涛 黄岩谊	249
4.1 引言	251
4.1.1 拉曼散射的发现与发展	251

4.1.2	作为分子检测手段的拉曼散射	253
4.1.3	相干拉曼散射在分子成像中的应用	254
4.2	拉曼散射基本原理	255
4.2.1	光散射过程的一般概念	255
4.2.2	拉曼散射原理	256
4.3	拉曼光谱仪	260
4.3.1	光源	260
4.3.2	激发和采集	261
4.3.3	分光单元	262
4.3.4	光谱记录	262
4.4	拉曼成像	263
4.5	相干拉曼散射	264
4.5.1	相干拉曼散射原理	265
4.5.2	应用于显微术的 CARS 与 SRS	270
4.5.3	CRS 显微术的发展	274
4.5.4	CRS 研究实例	277
4.5.5	拉曼诱导克尔效应(Raman-induced Kerr effect,RIKE)	279
4.5.6	相干拉曼成像面临的挑战和展望	280
4.6	拉曼成像总结	281
	参考文献	282
5	超分辨定位成像/ 黄振立 王伊娜 龙 帆 胡 哲 赵泽宇	287
5.1	引言	289
5.1.1	光学显微镜的分辨率极限	289
5.1.2	超分辨定位成像简介	292
5.2	超分辨定位成像中的荧光探针	294
5.2.1	简介	294
5.2.2	单分子发光的控制	298
5.2.3	荧光探针的选取	299
5.3	超分辨定位成像的方法和装置	302
5.3.1	超分辨定位成像方法	302
5.3.2	超分辨定位显微镜的基本装置	304

5.3.3 超分辨定位显微镜的高级装置	309
5.4 超分辨定位成像中的图像处理	311
5.4.1 空间分辨率的决定因素	311
5.4.2 单分子定位方法	313
5.4.3 图像处理	317
5.5 超分辨定位成像的应用	319
5.5.1 二维成像	319
5.5.2 三维成像	320
5.6 结论与展望	321
参考文献	322
 6 光声分子(功能)成像/ 邢 达 杨思华	329
6.1 引言	331
6.2 光声成像原理、算法及系统	334
6.2.1 光声成像原理	334
6.2.2 光声信号的激发	334
6.2.3 光声扫描方式及其成像算法	341
6.2.4 光声成像系统	346
6.2.5 涉及的特殊问题	359
6.3 国内外状况	363
6.3.1 国外研究现状	363
6.3.2 国内研究现状	371
6.4 应用发展趋势	383
6.4.1 光声微循环成像及肿瘤早期检测和治疗监控的应用研究	384
6.4.2 活体光声血液功能参数(血氧及碳氧饱和度)检测的应用 研究	390
6.4.3 血管内易损斑块的光声组分识别与成像的应用研究	392
6.4.4 热声成像低密度异物检测的应用研究	395
6.4.5 热声成像在乳腺癌检测中的应用研究	397
参考文献	399

7 活体小动物光学分子成像/ 邓 勇 杨孝全 骆清铭	409
7.1 光在生物组织中的传输模型	411
7.1.1 引言	411
7.1.2 光子输运方程	412
7.1.3 光子输运方程的扩散近似方法	416
7.1.4 光子输运方程的蒙特卡罗方法	422
7.2 扩散光学断层成像	439
7.2.1 引言	439
7.2.2 扩散光学断层成像模式	440
7.2.3 扩散光学断层图像重建方法	443
7.2.4 在生物医学研究中的实际应用	460
7.3 小动物活体光学分子成像	462
7.3.1 引言	462
7.3.2 平面式荧光分子成像	463
7.3.3 荧光分子断层成像	468
7.3.4 生物发光断层成像	476
7.4 多模式小动物活体分子成像	480
7.4.1 引言	480
7.4.2 多模式分子成像系统	481
7.4.3 基于多模式的光学分子图像重建和多模式图像融合	485
7.4.4 在生物医学研究中的应用	497
参考文献	502
索引	517



新型荧光蛋白标记技术

张智红 骆清铭

1.1 引言

水母来源的绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)和珊瑚或海葵来源的红色荧光蛋白及其突变体作为标记分子和报告分子,已被广泛应用于基因表达调控、蛋白质空间定位、生物分子之间相互作用、肿瘤生长与新生血管形成、遗传发育等生命活动重要分子事件的动态监测与可视化研究,以及新药的药效评价和作用机理研究,为活细胞和活体内研究生物分子的功能与动态变化,提供了有效的工具。基于荧光蛋白的遗传编码型分子探针具有准确的亚细胞定位能力、良好的生物相容性,以及光学信号分子不会随着细胞的分裂而减少等特点,使得在活细胞和活体内长时程(数天至数月)动态监测细胞的命运分子事件成为可能。2008年诺贝尔化学奖授予给在绿色荧光蛋白的发现和生物学应用方面作出杰出贡献的三位科学家——下村修(Osamu Shimomura)、马丁·沙尔菲(Martin Chalfie)和钱永健(Roger Y. Tsien)。

新型荧光蛋白的发现与其突变体的产生,以及功能型荧光蛋白探针的发展与优化,极大地推动了现代生物学的发展,并已广泛地应用于生物学的众多研究领域。以荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)、荧光漂白后恢复(fluorescence recovery after photobleaching, FRAP)、荧光激活后重分布(fluorescence redistribution after photoactivation, FRAPa)、荧光关联谱(fluorescence correlation spectroscopy, FCS)、荧光寿命成像(fluorescence lifetime imaging microscopy, FLIM)、双分子荧光互补(biomolecular fluorescence complementation, BiFC)等为代表的光学显微成像技术,与基于荧光蛋白的功能型分子探针相结合,揭开了活细胞内动态研究生物分子的新篇章,探索出大量生物学的新知识。其中,FRET技术作为1.0~10.0 nm距离范围内的“光学尺”,在蛋白质功能研究中应用最为广泛。基于FRET原理设计的分子探针,用于动态监测蛋白质间相互作用的空间距离、蛋白酶活化、蛋白质构象变化等,已成为研究活细胞内信号传导过程中蛋白质分子事件的常规手段。在活体肿瘤光学成像研究方面,以绿色荧光蛋白和红色荧光蛋白及其突变体作为肿瘤细胞的标记物^[1],在小动物体内对肿瘤的生长、转移与治疗过程进行长时程的动态光学成像监测^[2],为肿瘤的分子机制研究和新药筛选与评价提供了非常有价值的研究手段。在活体免疫应答研究方面,利用绿色荧光蛋白转基因小鼠和双光子显微成像技术,在活体内动态研究嗜中性粒细胞抵抗病原体的免疫响应机制^[3],动