



Af Per Nellemann

Spektraltuning og evolution Øjet og Lyset 15

For at energien i det elektromagnetiske spektrum kan omdannes til en nerveimpuls, som vi kan opfatte, må lyset nødvendigvis absorberes. Og der må indskydes en transducer efter foton fangsten, 'the photon catch'. Det foregår i specialiserede molekyler, synspigmenter, som findes i fotoreceptorerne.

Synspigmenterne tilhører en stor frugtbar familiegruppe af transmembran proteiner, som virker som receptor molekyler, der alle virker ved en aktivering af G- protein. Familien indeholder ikke bare synspigmenter, men også receptorer for acetylcholin, adrenalin, serotonin, dopamin, hormoner og utallige andre. Mekanismen er grundlæggende i organismens måde at forbinde de kemiske og de elektriske impulser. Man anslår, at 5 % af genomet og 50 % af den farmaceutiske industri er knyttet til G-proteinet. Mekanismen er så

effektiv, at den ikke alene er spredt i organismen, men også i vidt forskellige organismer, blot de er eukaryote, det vil sige, at de har en nucleus. Mekanismen er således stabil og også stabil i evolutionen.

Synspigmentet består af en proteindiel, opsin og et farvestof, en chromofor, som i særlig grad kan absorbere lys på grund af indholdet af dobbeltbindinger. Hos landpattedyr er chromoforen altid et aldehyd af vitamin A, retinal, som er bundet i en lomme i proteinet, der består af 7 α spiraler (helices). Når det violette synspigment aktiveres og bleges af lys, omlægges retinal fra en - cis form til en -trans form og G-proteinet aktiveres. Også brugen af retinal er stabilt i evolutionen, det er chromofor hos langt de fleste højerstående dyrearter, kun snegle, og enkelte fisk anvender andre chromoforer.

Transmissionen af det visuelle signal foregår ved en hyperpolarisation af stave og tappe, og transmissionen afviger herved fra den sædvanlige måde, sensoriske signaler overføres på, idet der foregår en depolarisering hos de fleste invertebrater.

Detaljer om en biokemiske kaskade, som fører til påvirkning af de bipolære ganglieceller og det videre

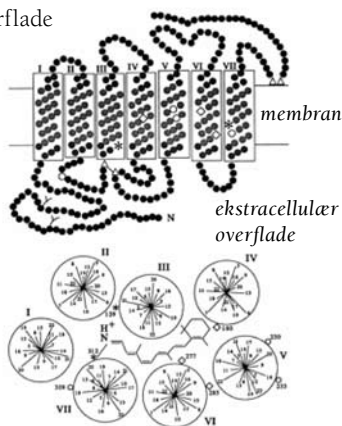
forløb til hjernen, ser man f.eks. hos Rodieck.

Når vi i det følgende taler om farvesynet hos forskellige dyrearter og organismer, menes der ikke nødvendigvis et farvesyn som vores, men ganske simpelt en proces, hvorved en organisme får oplysning om bølglængdesammensætningen af en visuel påvirkning.



Ved måling af pigmenters absorption, øl eller fotopigmenter, er koncentrationen og lagtykkelsen af betydning

cytoplasma-
overflade



De sidste 15 år har den molekylærgenetiske forskning i talrige dyrearter givet et pænt indblik i synspigmenternes struktur og deres store plads i evolutionen.

Det har vist sig, at der har været god overensstemmelse mellem synspigmenternes absorption bestemt ved ældre psykofysiske farveblandingsmetoder, Rushton fundus reflektometri, og nyere mikrodensitometriske målinger på den enkelte tap eller det enkelte isolerede synspigment.



Trilobit facetøjne. Filagt i fossil fra Kambrium (Marokko)

Vort menneskelige farvesystem består, som det er foreslået af molekylærbiologen Nathans og eksperimentalspsykologen Mollon, af et ældre og et fylogentisk yngre, som er overlejret det ældre. Det kunne man måske forudse ud fra ældre undersøgelser og den erfaring, at vi har dikromatisk farvesyn i den helt perifere del af retina og også i selve fovea. Et ældre i periferien og centralt i det yngre. Vi ser gult og blå i den mest perifere del af retina og rødt/grønt centralt. I selve fovea er vi blåblinde.

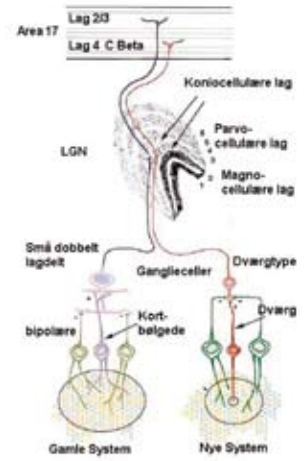
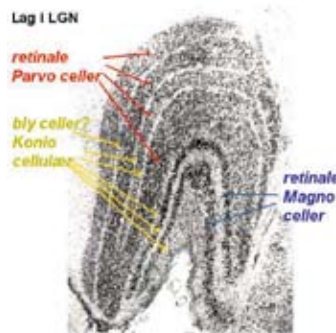
Den vigtigste egenskab ved synet, at se bevægelse og form, kan klares

med kun én type receptor, og den har følsomhed i det røde langbølgede område, 500-570 nm (LW), men de fleste pattedyr har to receptorer, er dikromater.

Så imellem de 'røde' receptorer er der en anden og mindre talrige receptorer med en følsomhed i det kortbølgede blå område < 500nm (SW), hos mennesker maksimum omkring 425 nm.

Rhodopsin, det tredje synspigment, er også gammelt, det har absorptionsmaximum omkring 500 nm. Det er stavenes synspigment, og det har ingen væsentlig betydning for farvesynet. Hovedfunktionen er jo god mørkefølsomhed.

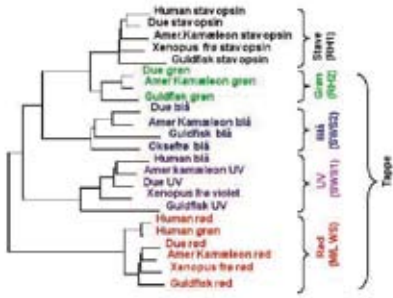
Rhodopsin er lidt yngre end



det 'røde' pigment, så det er kun i filmens og TV's verden, at sort/hvid kom først.

Med de to receptorer til registrering af kort og langbølget lys kan man opnå et basalt farvesyn ved at sammenligne mængden af lys, lysheden i de to bølgeområder. Man kan også bedømme, at et mørkt område ikke bare skyldes, at belysningen er nedsat, for da vil både den blå og røde receptor være mørk.

Dette gamle pattedyrs system har sikkert også sit eget anatomiske grundlag i det tidlige visuelle



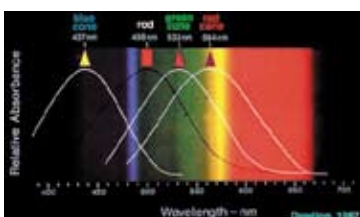
Basis grupper af Opsin

system, og det ses også videreført i primater. Signaler her overføres fra de 'blå' tappe til de 'blå' bipolarer dobbelt lagdelte gangliaceller. (eng. bistratified). Og derfra til de koniocellulære lag 3 og 4 i LGN (Corpus Geniculatum Laterale). Og herefter direkte til lag 2 og 3 i striat Cortex.

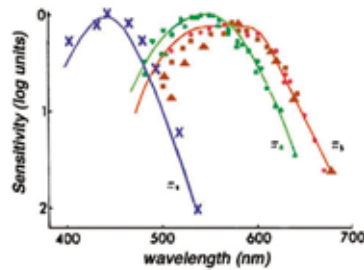
I det andet og nye system, som ses hos den gamle verdens primater, er den ene tap i 500-570 nm området erstattet med de nuværende rød og grønne tappe (Lang Middel bølge ~ 560nm, LW MW ~ 530nm). Lysmængden i de to tapyper sammenlignes, og signalerne overføres direkte til de små dværg (eng. Midget) bipolarer, dværg gangliaceller og de parvocellulære lag i LGN, som ender i lag 4C α i primær synscortex.

At dette system er nyt, kan ses blandt andet ved at aflæse strukturen på de røde og grønne pigmentgener. Disse gener er anbragt i et hovedhale tandem række på X-kromosomet og viser ~ 98 % DNA sekvens overensstemmelse af kodningen af intron, og såkaldte 3' side sekvenser.

Når man ser på andre dyrearter, erfarer man hurtigt, at nutidens hvirveldyr varierer kolossalt i forfining af deres farvesyn, tætheden og fordelingen af tappene, men også deres antal og ikke mindst synspigmenternes absorptionsmaksima. Cambridge biologen Bowmaker anslår, at der er 5 fylogenetiske familier fra begyndelsen af den vertebrale evolution for 450-500 millioner år siden, den kambriske eksplosion. De



tidlige kæbeløse fisk i den senere Devon tide har givetvis haft disse synspigmenter. På det lave niveau har hvirveldyrene de to forfædre (eng. ancestor) pigmenter og rhodopsin, som vi har været inde på. I det andet derpunkt har vi kyllinger med seks synspigmenter. Fire tap pigmenter (rød/grøn LW, blå-grøn MW, blå SW og Violet ultraviolet V/UV) et rhodopsin og pinopsin, et synspigment, som er knyttet til corpus pineale, som falder lidt udenfor.



Spectral sensitivity of the S-cone, M-cone and L-cone. Combined results from various authors using different methods including retinal densitometry from Rushton (green), microspectrometry from Brown and Wald (red) and increment threshold (producing artificial monochromasy from Blakely (black) and increment threshold measurements from Wald (blue)) (from Mollon, R. A. and Mart, W. M. (Ed) Adlers Physiology of the Eye, Clinical Application, St. Louis: The C. V. Mosby Company, 1987.

Øjets spektrale sensitivitet afhænger af fotopigmenternes absorption. Der er god overensstemmelse mellem absorptionskurverne bestemt direkte, ved fundus reflektometri og klassisk 'colour matching' som det ses i kurverne her.

Mennesker og deres nære primatslætning i den gamle verden står på denne måde på et mellemstadium med de 4 retinale synspigmenter.

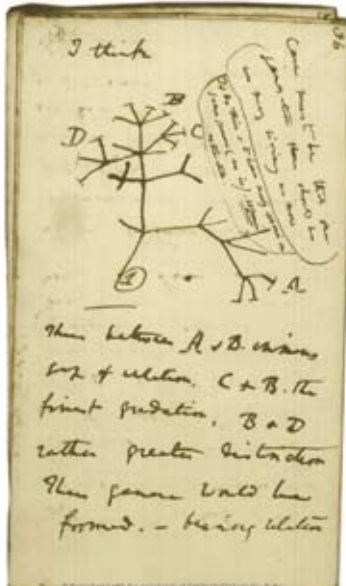
Når der kun er et gen, der koder for > 500nm pigment hos langt de fleste primater i den nye verden, Sydamerika og hos alle pattedyr, kan vi formode, at den rød/grønne genduplikation hos den gamle verdens primater fandt sted for 30-40 millioner år siden. Det vil sige kort efter at den geologiske adskillelse mellem Afrika og Sydamerika fandt sted.

Men hvordan går det til, at synspigmenternes protein kan regulere, tune, absorptionsbølgelængden af den fælles retinalchromofor.

Retinal uden protein har et absorptionsmaksimum på 440 nm i organisk opløsning, men med protein omgivelsen kan spændvidden ændres til mellem 425 til 560 nm.

Hemmeligheden ligger i en ændring af de elektrostatiske omgivelser ved retinal.

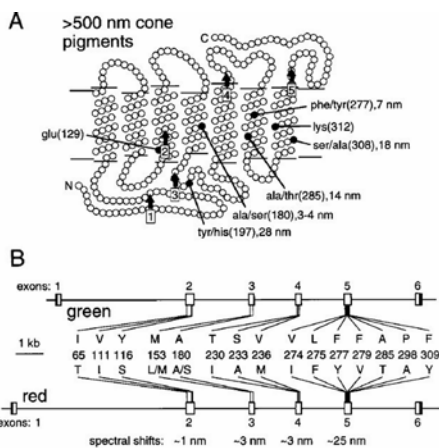
Proteinet forbinder retinal med lysin i centrum af det syvende transmembran segment ved en Schiff base binding (R1R2C=N-R3). I pigmenter med absorptionsmaksimum > 440 nm er Schiffbasen positivt ladet med en proton. Alle hvirveldyrs synspigmenter



Darwins originale skitse til forgreninger i dyre artenes udvikling. (Natural museum, Cambridge).

bærer derfor glutamat som balance mod-ion i det tredje transmembran segment.

Den positive ladning på den protonholdige Schiffbase kan forskydes gennem alternerende resonans-strukturer mellem dobbelt og enkeltbindinger. De såkaldte π -elektroner medvirker hertil, for de er lokaliseret i molecule orbitaler, som er fælles for hele kæden og ringsystemet. En større forskydning medfører et rød skift altså mod højere bølgelængder, og



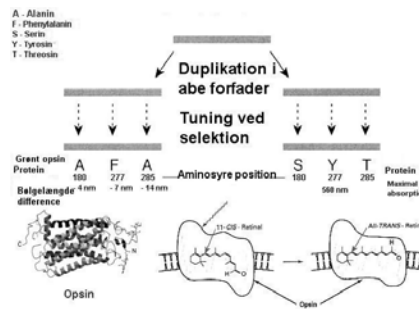
A. De aminosyrer som har med den spektrale tuning >500 nm i tappigmenter. De fem intron lokalisationer ses med pile over boksen. De tre vigtigste lokalisationer for isomorfe pigmenter er 180, 277 og 285.

B. Strukturen af de humane røde og grønne pigmentgener. De åbne bokse viser koderegioner og lukkede bokse viser non-koderegioner. Nederst ses de middel spektralskift om svarer til den kumulative effekt af aminosyre differencer indenfor hvert exon.



en formindskelse af forskydningen medfører et blå skift mod lavere bølgelængder. I kemien går rødforskydningen under navnet 'bathokromt skift', og det er fra kemien kendt, at polyener kan få et bathokromt skift med en længere kæde.

Apoproteinet kan derfor modulere de elektroniske omgivelser ved retinal at ændre de aminosyrer, som er placeret i sidekæderne. De kan være neutrale eller have en elektrisk ladning.

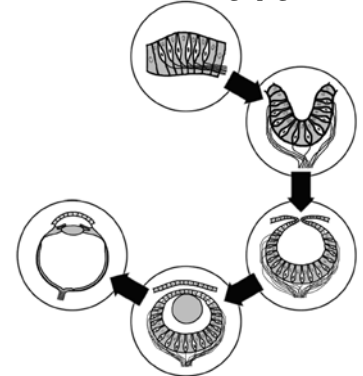


Inden for >500nm tappigmenterne er der tre positioner i polypeptidkæden, som har særlig effekt på den spektrale tuning, -180, 277 og 285. Og de udgør hovedparten af de spektrale skift mellem de humane røde og grønne pigmenter.

I position 180 er en enkel ombytning mellem aminosyrerne serin og alanin en almindelig variant i den humane samling af gener, hvor 60 % af de røde pigmentgener koder for serin og 40 % for alanin.

Disse procenter afspejler sig også i den måde, man blander farver på i Rayleigh farvesynstesten. Når en spektral gul farve skal matches med et lys bestående af en blanding af spektral grønne og røde lys, så vil de 60 % af mændene, som har serin

i position 180 i deres røde pigment behøve mindre rødt lys i farveblandingen end de 40 %, som bærer alanin. Det skyldes, at det serinholdige pigment er rødt forskudt 3-4 nm i forhold til alaninholdigt pigment.



Udviklingen fra overfadede pigmentceller til et kameralignende øje (linse, blænde og bagvægsreceptorer) har Dan-Erik Nilsson i Lund anslået til at kunne finde sted på mindre end 400.000 generationer, altså en overraskende stor hastighed.

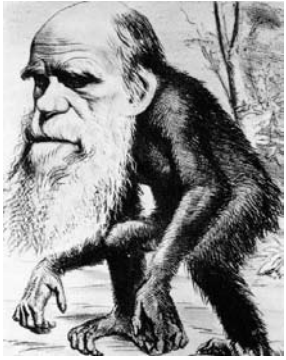
Spændende er det, at biokemi og synsindtryk passer sammen.

Det forholder sig noget enklere med position 180 i det grønne pigment. Her kodes mindst 90 % for alanin.

Hvorfor vi har præcis de tappigmenter, som har absorptionsmaksimum ved ~425, ~530 og ~560 nm og ikke et helt andet sæt bølgelængder. Og hvorfor ligger de røde og grønne kurver så tæt i forhold til det blå absorptionspektrum? Det må jo hænge sammen med den lethed, hvormed et absorptionskift kan foregå ved mutation og det selektive tryk for at vedligeholde den spektrale adskillelse i de nuværende tappigmenter. Nathans gør opmærksom på, at der ikke er en væsentlig forbedring af evnen til at skelne, diskriminere farver ved for eksempel at bringe det grønne pigment tættere på det blå.

Analysen blev foretaget ud fra den gamle ske 'line element' analyse, som Helmholtz anvendte for at bevise trikromteori. Helmholtz fandt på denne måde, at der var 3 primærfarver og ikke fire eller fem. Der er kontinuitet bagud. Gigant forskning gøres på skuldrene (sv.aksler) af giganter.

Der har derimod oprindeligt været en stor selektiv fordel ved at have adskilte kort og langbølgede pigmentgener i genomet.



Samtidig karrikatur af Charles Darwin.



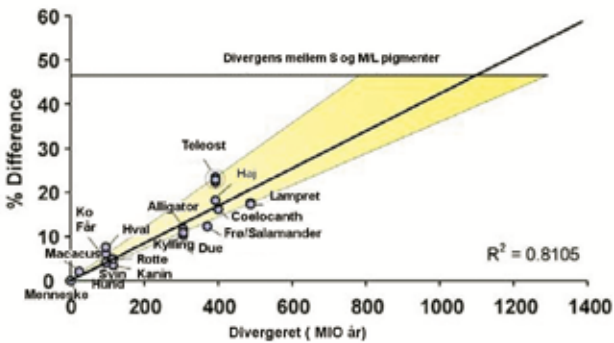
Aktuelt foregår der en voldsom udvikling af opsiner hos ciklinder i de østafrikanske søer, Malwi, Tankyunika og Viktoria. Hænger denne udvikling sammen med nye arter i niche områder og ændret pigmentering?

Det har vist sig, at kun syv aminosyre ændringer har været nødvendige for at få en difference på 30 nm mellem det mellem- og langbølgede fotopigment, og at ydermere kun to ændringer var ansvarlige for hovedparten af skiftet.

På denne måde kan man registrere den moleculære divergens i fotopigmenterne og få et udtryk for evolutionstiden. Et sådant forsøg på at kalibrere det genetisk-moleculære ur har man gjort med rhodopsin.

Den procentvise forskel mellem human rhodopsin og forskellige dyrearter afbildes som en funktion af den tid, der er gået ud fra den sandsynlige forudsætning, at hvert dyr og menneske har en fælles forfader. Denne sammenhæng er nærmest retlinet, som det kunne forventes, hvis forskellene faktisk skyldtes en genetisk drift, som foregik med konstant hastighed. Linien svarer nogenlunde til en ændring på 4 % per 100 år. Efter denne skala skulle adskillelsen mellem det blå S og grøn/røde L/M tap pigment være mere end 1.000 millioner år. Og det svarer vel til tidspunktet, da de første forstadier til egentlige øjne kom til syne. Det ville være naturligt, at kun en receptortype kom først. Og umiddelbart herefter kom sikkert duplikationen af genet og divergensen i spektralt adskilte pigmenter. Netop fordi fordelene er så store ved et udvidet spektralområde for både jæger og byttedyr. Selv uden et tilknyttet netværk af nerver til at videregive bølglængdeoplysningen. Men der må også være et stort selektivt pres for at udvikle nerveretværket. Så man kan sige, at farvesynet i hvert fald i en enkel form må være lige så gammelt som synet selv.

Referencer: www.oftalmolog.com



Udvikling af opsiner fra hvirveldyrenes tilsynekost til forekomsten hos mennesker.

Referencer specielt vedrørende denne artikel.

Dacey, DM : Parallel pathways for spectral coding in primate retina. Ann.Rev.Neuosci.
 Land MF, Nilsson D-E: AnimalEyes. Oxford Univ. Press Oxford.2002
 Mollon, JD : Opsins and Option. P NAS .96, 4743-4745, 1999.
 Nathans J : Evolution and Physiology of Human Color Vision.:Insights from Molecular Genetic Studies. Neuron, 24,299-312, 1999.
 Nassau,K The Physics and Cemistry of Color: the 15 mechanisms. 247-280. I The Science of Color sec ed. Ed. Shevell.S K . Optical Society of America. 2003
 Neitz, J , Neitz,M: Color Vision.Almost Reason Enough for Having Eyes.
 Optics &Photonics News, OSA. Jan.2001 26-31.
 Neitz, J , Neitz,M: Molecular genetics of color vision-defects. Arch Ophthal.118, 691-700,2001
 Trezise EO, Collin SP: Opsins: Evolution in waiting. Curr.Biol. 19,94-96,2005.
 Yokoyma S. : Molecular genetic basis of adaptiv selection: Examples from color vision in Vertebrates. Annu Rev. Genet. 1997, 331, 315-336.