

11 还原与整合

对生物学现象，可以化繁为简，进行还原；也可以化简为繁，进行整合。

本章以视觉为例，讲述还原和综合。视觉是复杂的，感知始于眼睛、最终成于大脑皮层，所以需要在多个层面研究。对颜色的感知，在眼睛中第一级感光细胞对色觉分辨的分子基础，可以看到还原的重要性。而对于点和线的认知，我们可以看到整合的重要性。

11.1 眼见不为实

眼睛是人类观察世界的重要器官，而科学家对眼睛的研究也是人类理解自身的渠道之一。不同方法和设备只能检测物质世界的部分特征。视觉系统并非照相机，而是对外界信号加工后获得对特定种属动物有意义的信息。现存的动物感觉系统是演化过程中选择的结果，有利于各种动物较为实用地快速获得和分析其常遇见的外界信息。眼和脑的局限导致我们的视觉系统不能完整和准确地反映外界的物理实际。因此，眼见并不一定为实。

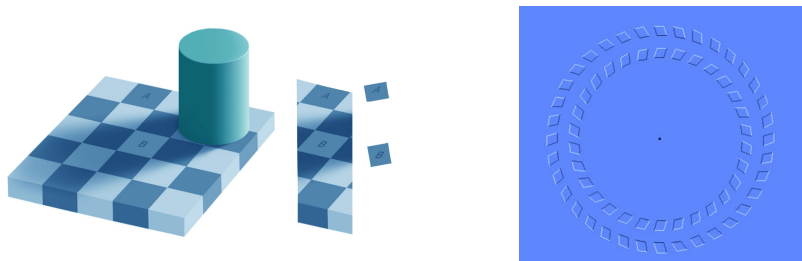


图 11-1 视错觉

左：A 和 B 所在的菱形物理上完全同样，但视觉认为菱形 A 的着色深于菱形 B
右：盯着中点，但头向前或向后运动，视觉认为两个圆相对运动

视错觉 (visual illusion) 有很多种，可以显示视觉系统不是客观的简单影射。绝大多数人都有视错觉，如果少数人没有这种视错觉，其中有些人反而可能是因为基因的变化导致的异常。视错觉都是我们的视觉系统处理信号所造成，其中有些机理不明。

11.2 视觉与光感

视觉与光感不同。植物有光感、有些细菌也有光感，但它们不能形成动物一样的视觉。

植物感光能力有时很奇妙。植物可以通过检测日光中不同波长的光、每日不同波长光照的时间，做出相应的季节性变化。已发现多个分子参与植物感光反应。植物的感光蛋白迄今只发现一种与动物的相似，即 cryptochromes，它在动物还用于生物钟。

动物界有多种不同眼睛和视觉系统，在进化中视觉系统独立地出现过四十多次。不同动物视觉特性不一样，如蜜蜂能感知偏振光。

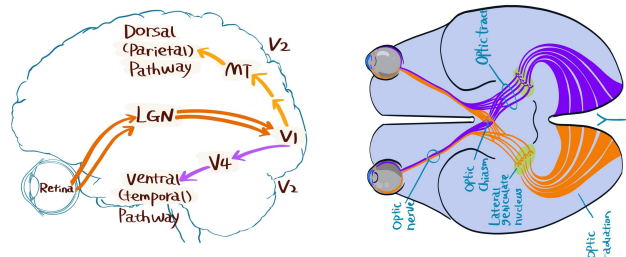


图 11-2 视觉通路

左：猴的视觉通路侧面观。视网膜，外侧膝状体 (LGN)，视觉区域 1 到 4，背侧通路、腹侧通路。右：人的视觉通路。视神经，视交叉，视放射，纹状皮层

人的视觉系统从位于外周的眼睛开始，眼睛的视网膜 (retina) 从外界获得信号后稍作

加工、传递到丘脑的外侧膝状体 (lateral geniculate nucleus, LGN)、再到大脑的视皮层 (visual cortex)，成为视觉通路。

人也有不形成视觉的感光系统。瞳孔对光反射指光强度增加时，我们的瞳孔缩小。这一反应既用了我们的视觉系统，也可能用了不能形成视觉的感光系统，如存在于视神经节细胞的 cryptochromes 和 melanopsin。

11.3 眼内的神经细胞

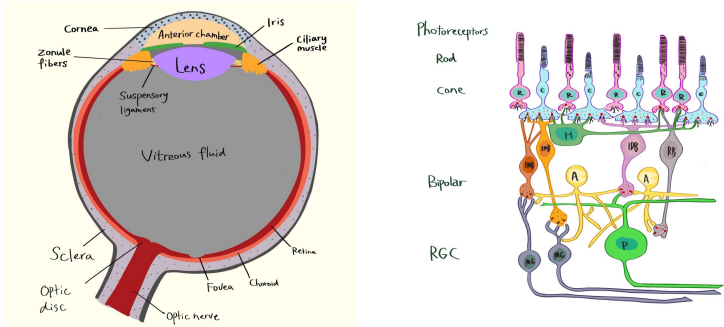


图 11-3 人眼和视网膜

左：眼球。前房，虹膜，晶状体，水晶体，视网膜，视盘，视神经。

右：视网膜示意图。视杆细胞，视锥细胞，双极细胞，视神经节细胞

眼睛由多种细胞组成。人的眼球从前到后有角膜、晶状体（英文更能反映其作用，称其为透镜 lens）、水晶体（vitreous body）、视网膜。视网膜神经细胞通过视神经（optic nerve）向脑投射。视网膜内有三级神经细胞传递光信号，第一级为感光细胞（photoreceptors），第二级为双极细胞（bipolar cells），第三级为视神经节细胞（retina ganglion cells, RGC）。视网膜还有不直接传递信息、而参与修饰加工的水平细胞（horizontal cells）和无长突细胞（amacrine cells）。

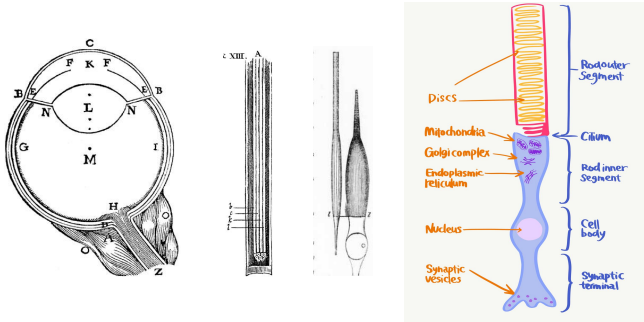


图 11-4 笛卡尔画的眼、视杆细胞，Schultz 的视杆细胞和视锥细胞，视杆细胞的结构

达芬奇曾对眼睛和视觉系统感兴趣。

笛卡尔（1596-1650）在 1637 年的《方法论》一书中曾显示眼睛的解剖、去世 12 年后出版的《论人》一书中绘制过视网膜上的神经细胞（后来称为视杆细胞）。笛卡尔也曾描绘过光通过眼睛晶状体投射到视网膜、视网膜收集的信息通过视神经从眼睛投射到大脑的过程。



图 11-5 Treviranus、Kolliker、Schultze

传统认为，人类的第一级感光细胞有两种：视杆细胞 (rods) 和视锥细胞 (cones)。1675 年 Anton van Leeuwenhoek (1632-1723) 就可能观察到了感光细胞，而一百多年后的 Gottfried Reinhold Treviranus (1776-1837) 描述了感光细胞。十九世纪，德国的 Rudolph Albert von Kolliker (1817-1905) 与 Max Schultze (1825-1874) 明确了视网膜细胞的分层和感光细胞。右图为 Schultze 所画的视杆和视锥细胞。

视杆细胞有一段较长的杆状部分，称为“外段” (outer segment)，起感光作用。视杆细胞的数量远多于视锥细胞：人类有 1.2 亿视杆细胞，而仅 6 百万视锥细胞。两种细胞在视网膜的分布不同，功能不同。位于视野正中的中央凹，只有密集排列的视锥细胞，没有视杆细胞。视杆细胞主要是感知明暗，视锥细胞感受不同的颜色，是辨别色觉的第一级细胞。

Hecht 等 (1942) 和 van der Velden (1946) 发现感光细胞对光的敏感性非常高，单个细胞就可以对单个光子有反应。他们的工作后来被 Stanford 大学的研究者用更精确的技术所验证 (Baylor, Lamb, Yau, 1979)。在认知上，人可感知 5 到 8 个光子。

德国海德堡大学生理学教授 Wilhelm Kühne (1837-1900) 在 1878 年发现：让兔子在暗室内注视阳光射入的窗口，一段时间后处死兔子，固定其视网膜，可看到窗子的印记。当时很轰动，以为这可以用来破案。如果被谋杀的人的视网膜能留下如此强烈的印记，找到凶手，就不怕凶杀现场没有证人，只要被谋杀的人最后一眼看见凶手就可以了。事实上，一般信号没这么强，这一发现并无实际应用价值。

11.4 视网膜的感光蛋白

1851 年，德国的 Heinrich Müller (1801-1858) 发现视网膜中视杆细胞呈红色，认为是血中红细胞的血红蛋白所造成 (Müller, 1851; Ripps, 2008)。

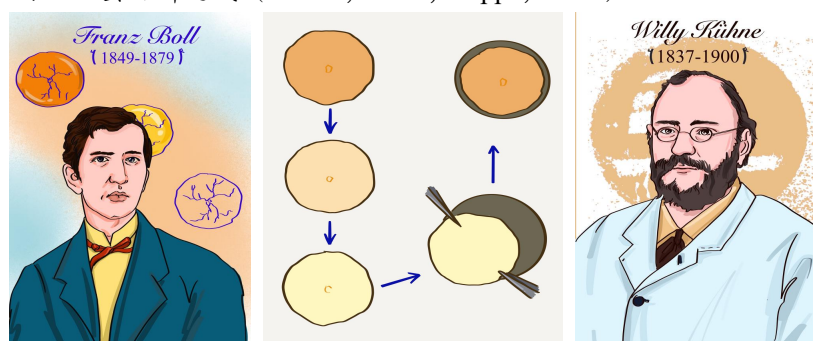


图 11-6 Böll，视网膜的漂泊和复原，Kühne

1877 年，德国生理学家 Franz Böll (1849-1879) 发现，在暗中视杆细胞为红色，见光 20 秒后变成黄色、60 秒后成为无色，他的解释是视杆细胞中存在色素，他称为“红色物质”，见光后起反应而漂白，在暗处 2 小时后复原为红色。他排除了死亡与漂白的关系、也排除了血液与漂白的关系。Böll 提出视杆细胞外段含特殊的物质，通过光化学过程，将信号传到大脑 (Böll, 1871; Wolf, 2001; Ripps, 2008)。可惜 Böll 发表论文后因肺结核而不能继续工作，30 岁英年早逝。

Böll 的论文发表后不久，德国海德堡的 Kühne 开始继续其研究。Kühne 以前曾发现胰蛋白酶，而 1877 至 1882 年间集中时间和精力研究视网膜，发表 22 篇相关的论文 (Kühne, 1879, 1882; Wolf, 2001)。Kühne 将 Böll 的视杆色素称为“视紫” (visual purple)，Kühne 发现光漂白后视杆细胞的在黑暗中还原为紫色还需要另一种细胞：视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelium, RPE)。只有在 RPE 存在的情况下，被光漂白的视杆细胞才能在暗中重新成为紫色。还发现漂白和复原都无需血液循环，从死的动物取出的视网膜也能重复这一过程，肯定与血红蛋白无关 (Wolf, 2001)。

Kühne 发明了提取视紫的方法：在明矾溶液中，视网膜和 RPE 分开，视网膜硬化，容易分离视网膜，然后加入胆盐溶液，视杆细胞溶解后，视紫被释放到溶液中。因视紫对热的

敏感、不能通过半透膜、但可溶于硫酸铵，Kühne 推测它是蛋白质。Kühne 发现视紫分子本身就对光有反应，能被光漂白。他明确提出：光能解构视紫，光化学反应产物刺激视神经(Wolf, 2001)。Kühne 的工作将人类对视觉的理解推进到分子水平，并落实到特定分子。Kühne 发现的视紫，是世界上第一次发现细胞膜上的蛋白 rhodopsin，中译为“视紫红质”。

既然视紫蛋白是蛋白质，那么就是多个氨基酸按特定顺序连接而成。二十世纪，经过多个实验室的研究，逐步获得视紫光蛋白的氨基酸部分序列。经过不同科学家长期努力，到 1983 年美国的 Paul Hargrave (1938-) 和苏联的 Yuri Ovchinnikov (1934-1988) 分别通过分离肽段，经过分析最后获得了牛视紫蛋白的全长氨基酸序列。

当时已知如果连续出现 20 个左右的疏水氨基酸，就可以组成跨细胞膜的 α 螺旋，从视紫蛋白的氨基酸序列可推测出七个跨膜区域，即所谓的“七重跨膜蛋白”。在生物化学上，先发现一些受体（如肾上腺素能受体）与 G 蛋白偶联，所谓“GPCR”（G 蛋白偶联受体），对感光细胞的研究也发现视紫光蛋白是 GPCR。视紫蛋白是被光子激活的 GPCR，而肾上腺素能受体等是被化学分子激活的 GPCR，这些七重跨膜的 GPCR 在本质上相似。

了解视紫蛋白一级结构（氨基酸序列）后，进一步需要知道其三维的空间结构。视紫蛋白与其他跨细胞膜的蛋白质一样，以前很难通过 X 线衍射分析其晶体结构。1997 年，日本的 Kimura 等用冷冻电镜在 3 埃的分辨率解析了细菌视紫蛋白的结构 (Kimura *et al.*, 1997)。1999 年，法国科学家在 1.9 埃分辨率解析了细菌视紫蛋白的三维结构 (Belrhali *et al.*, 1999)。这些结果都清晰地显示了七重跨膜区域。2000 年，美国与日本科学家解析了眼中视紫蛋白的三维结构，并显示了视黄醛的结合位点 (Palczewski *et al.*, 2000)。

11.5 维生素 A 与光化学

动物感光细胞的光化学反应不仅需要蛋白质，还需要其他分子。

十九世纪 Kühne 研究发现了视网膜的漂白过程，从紫色、橘黄色、黄色到无色，但黄色不可能是视紫物质造成的，应该有另外一个分子，其吸收波长短于视紫物质 (Wolf, 2001)。后来的研究揭示黄色是视紫蛋白结合了全反型视黄醛所致。

视黄醛的发现与夜盲症以及维生素 A 有关。几千年前人们就注意到有些人在暗光下视力不如一般的人，而且发现有些夜盲与营养相关 (Wolf, 2001)。希波克拉底 (公元前 460-325) 曾建议夜盲症患者吃肝脏。1913 年，威斯康辛大学的 Elmer McCollum 与 Marguerite Davis、耶鲁大学的 Thomas Osborne 与 Lafayette Mendel 在研究老鼠生长需要的营养因素过程中发现维生素 A。1925 年，丹麦哥本哈根大学卫生研究所的 Fridericia 与 Holm 证明维生素 A 参与视光漂白后在暗中的复原，并提出这可能解释维生素 A 与夜盲症的关系。Yudkin 于 1931 年证明视网膜含维生素 A。

犹太裔美国科学家 George Wald (1906-1997) 于 1927 年在纽约大学毕业后进入哥伦比亚大学，研究生第一年听过摩尔根和 Selig Hecht (1892-1947) 的课，后选 Hecht 为导师。犹太裔的 Hecht 当时是世界著名视觉生理学家，1919 年曾提出光感受的基本过程：光敏感物质 S，经光解后为 P 和 A，在暗中复原为 S (Hecht, 1919)。Wald 研究生课题是果蝇视觉，发现果蝇与人的视觉有相似之处，1932 年获博士学位 (Dowling, 2002)。Wald 到德国做博士后，分别师从 Otto Warburg (1883-1970，因研究细胞氧化还原过程的机制而获 1931 年诺贝尔生理奖)、Paul Karrer (1889-1971，因研究胡萝卜素及其与维生素 A 的关系获 1937 年诺贝尔化学奖)、和 Otto Meyerhof (1884-1951，因研究糖酵解而获 1922 年诺贝尔生理奖)。Wald 在三个实验室学习了不同的思想和分析方法 (Dowling, 2002)。Wald 研究生期间学习的领域成为他以后研究方向：视觉，而博士后期间学习的是他进行研究所需要的方法：生物化学。他的研究是视觉的生物化学，分析参与视觉的分子、以及分子在视觉过程中的变化。Wald 在 Warburg 实验室学会用光谱分析，发现与视紫蛋白相连的分子可能是维生素 A。Warburg 建议 Wald 师从做胡萝卜素的 Karrer，Wald 在 Karrer 实验室检测了牛、羊、猪的视网膜，确认都含维生素 A (Wald, 1933)。他再到德国犹太科学家 Meyerhof 实验室，发现在

暗中和光照后的视网膜，维生素 A 相关的分子有所不同，并能双向改变，从而提出视循环 (visual cycle) 学说。

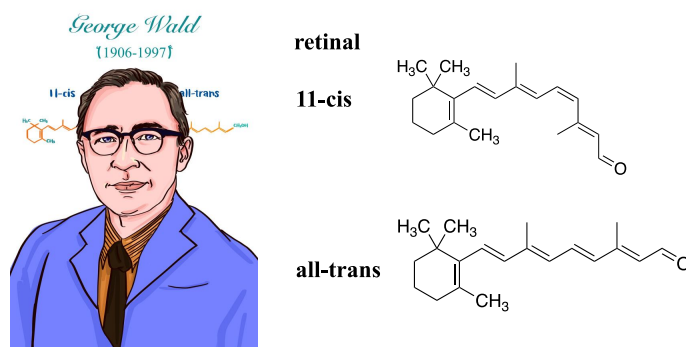


图 11-7 Wald 及其发现的视黄醛循环

1934 年 Wald 回到美国，从此在哈佛大学继续研究维生素 A 与视觉的关系 (Wald, 1935, 1968)，他和同事几十年的工作推进了对视网膜光化学的理解，他们发现的视循环就是视网膜有视黄醛的两种光学异构体，全反型 (all-trans retinal) 与 11 顺型 (11-cis retinal)。在黑暗时，11 顺视黄醛与视紫蛋白形成共价键结合，结合位点是视杆光蛋白中赖氨酸的一个，这一构型稳定；而光照时，11 顺视黄醛变构为全反型视黄醛，脱离视紫蛋白，随光照与否，两种视黄醛循环变化。

视循环也称视紫蛋白循环、或视黄醛循环，目前仍有研究 (Smith, 2010)，视黄醛顺反光学异构的速度很快，在 10^{-13} 秒内发生。光化学变化也不仅仅是一步，而有多步。

在上述多步光化学变化中，光照使视紫红质活化，结合其下游的异源三聚体 G 蛋白复合体，复合体有三个亚基 (α , β , γ)，被激活后解离的 G α 亚基激活磷酸二酯酶，后者降解 cGMP (Arshavsky 等, 2002)。在脊椎动物视网膜，感光细胞的关键，是第二信使分子是 cGMP。1985 年苏联科学院生物物理研究所的 Fesenko 等用膜片钳技术证明，胞内 cGMP 开放视杆细胞的阳离子通道，使钠离子和钙离子流入细胞内，形成暗电流使感光细胞在黑暗中处于相对去极化状态。

感光细胞在电生理有几个特点：一般神经细胞被刺激时多半被激活，产生动作电位。而脊椎类的感光细胞，首先不能产生动作电位；其次，在被光刺激的时候，不是被激活，而是被抑制。在黑暗中，感光细胞释放神经递质谷氨酸。在大脑中谷氨酸一般只兴奋下级神经细胞，而视网膜感光细胞释放的谷氨酸对下级的双极细胞有两种不同的作用，兴奋或抑制，这取决于双极细胞表面不同的谷氨酸受体。被谷氨酸兴奋的双极细胞，在光照后因为感光细胞释放谷氨酸的减少而相对被抑制；而被谷氨酸抑制的双极细胞，在光照后因为谷氨酸减少而相对被兴奋。

11.6 色觉的三原色假说

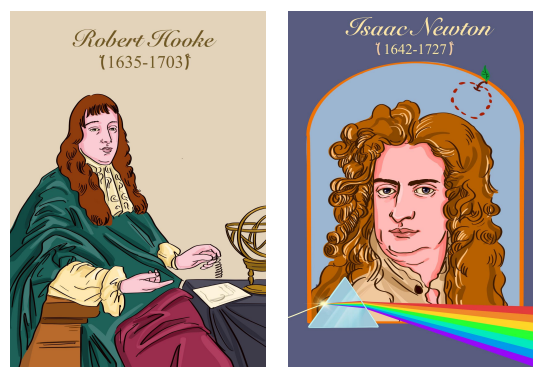


图 11-10 麦克斯韦和赫姆霍兹

英国科学家胡克 (Robert Hooke, 1635-1703, 弹性定律的提出者) 于 1665 年提出: 光照到视网膜的角度不同导致不同的颜色。胡克对色觉的推想是错的, 而其长期竞争对手牛顿有关色觉的想法在原则上是对的。

牛顿 (1642-1727) 与胡克因为万有引力和光学有过多个优先权的争论。牛顿可能因此等胡克去世以后, 才在 1704 年发表《光学》一书。从物理学角度, 大家熟知牛顿于 1672 年曾用三棱镜研究颜色的光学特征。从生物学角度, 牛顿知道色觉是神经系统对外界的反应, 他提出: “May not the harmony and discord of colours arise from the proportions of the vibrations propagated through the fibres of the optick nerves into the brain”, 光振荡以不同比例作用于视神经, 传入大脑而导致人对色的感觉不同。在感觉神经生物学, 牛顿也有先驱的想法。

三原色最初由 George Palmer (aka George Giros de Gentilly, 1746-1826) 于 1777 年提出: “每束光由三种、也仅有三种组成, 黄、红、蓝……视网膜表面有三种不同的颗粒, 类似于三种光; 每种颗粒为相应的光束所动”。其中, 有关光只有三种成分的物理学理解是错误的, 而对视网膜的假设与现在的理解有相通性。



图 11-8 胡克和牛顿

英国科学家 Thomas Young (1773-1829) 于 1801 年宣读、1802 年发表的“光和色的理论”。在引用了牛顿在《光学》中对颜色和色觉的讨论后, Young 提出, 在视网膜的光敏感点不可能含无穷的颗粒, 每一颗粒与对应的光同步振荡, 所以需要提出有限的颗粒数, 比如三原色, 红、黄、蓝。每一种的振荡或多或少偏离完全同步。视神经的每根纤维可能有三部分, 分别对一种原色敏感。至于为什么是这三种颜色, 他当时只是猜测性地将三种原色分布在可见光较广的范围内。

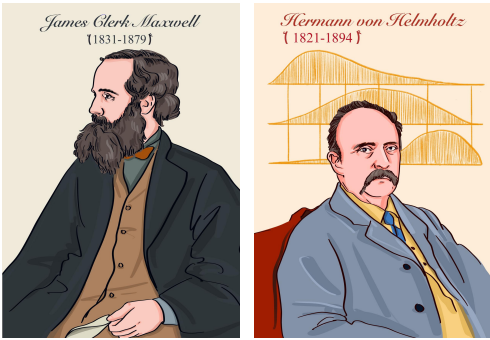


图 11-9 Palmer 和 Young

英国物理学家麦克斯韦 (James Clerk Maxwell, 1831-1879) 和德国生理学家赫姆霍兹 (Hermann von Helmholtz, 1821-1894) 发展了 Young 的色觉理论。麦克斯韦还在 1861 年显示了彩色照相的可能。

赫姆霍兹对光的生理学有深入和细致的讨论, 还研究了视神经的电生理。对于色觉, 他发展了 Young 的理论, 提出有三种视神经, 分别对红、绿、紫最敏感, 各种颜色的光对这三种视神经有不同程度的激活, 导致不同的色觉。他指出理论上无法确定哪三个颜色是三原

色，可能需要通过分析色盲的情况来确定。

在瑞典工作的芬兰生理学家 Ragnar Granit (1900-1991) 在动物的实验发现不同的视锥细胞可能分别对应不同颜色 (Granit, 1941, 1943, 1945)。

人的视锥细胞到底有几种、分别对什么波长最敏感，直到 1964 年才由美国霍普金斯大学的科学家所确定 (Marks *et al.*, 1964)。人类三种视锥细胞最为敏感的波长分别为: 564 nm、533 nm 和 437 nm。它们分别接近黄、绿和紫，而没有对红色最为敏感的细胞，现在称它们为长 (L)、中 (M)、短 (S) 波的视锥细胞。不同的动物色觉细胞种类不同，所含光蛋白 (opsins) 敏感的波长也不同。果蝇有对紫外线敏感的感光细胞。

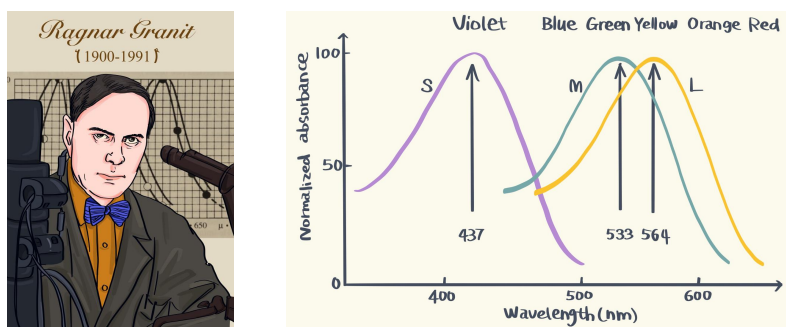


图 11-11 Granit 和人类视锥细胞的波长感应谱

11.7 色觉的分子基础

Wald 研究过不同色觉的细胞，发现它们都用视黄醛，但所用的光蛋白不同。那么，如何找到人类对不同颜色反应的光蛋白？1980 年代初期，Jeremy Nathans (1958-) 在 Stanford 大学做研究生，导师为 David Hogness。Hogness 从 1960 年代末起研究果蝇发育的分子生物学，并不断推广果蝇分子生物学技术，但 Nathans 加入 Hogness 实验室的研究，是分析人类的色觉蛋白基因，而且坚持在果蝇实验室研究人的基因。

Hargrave 和 Ovchinnikov (1934-1988) 分析获得了牛视紫蛋白的全长氨基酸序列后，怎样才能拿到色觉的光蛋白呢？

1983 年，Nathan 与 Hogness 清晰地介绍了他们的策略。他们推测感光蛋白（我们这里姑且称为视锥光蛋白，因为应该是存在于视锥细胞中）与视紫蛋白有部分序列相似性，所以可以通过视紫蛋白找到视锥光蛋白。Nathans 的研究用了四步。第一步，通过已知的牛视紫蛋白部分序列，找到其编码的 cDNA 而预测其全长蛋白质的氨基酸序列；第二步，用牛的视紫蛋白基因寻找人的视紫蛋白基因；第三步，用视紫蛋白基因寻找视锥光蛋白的基因；第四步，确定每个视锥光蛋白对应的颜色。

Nathans 的第一步是用分子生物学技术，而 Hargrave 和 Ovchinnikov 是用生物化学方法。生物化学分离纯化貌似比较老，但到今天都很有用，有时还起不可替代的作用。掌握生物化学方法比较难，有了分子生物学以后，在有些方面可以替代一些（但非全部）生物化学的方法。比如，在得知部分氨基酸序列的情况下，制备 DNA 探针，筛选含全长基因的 DNA 文库而找到相应的全长基因。Nathans 和 Hogness 依据 Hargrave 等 (1982) 报道的牛视紫蛋白部分序列，制备 DNA 探针，通过筛选获得编码视紫蛋白的 cDNA，得以推测视紫蛋白全长氨基酸序列。

第二步，Nathans 用牛视紫蛋白基因的序列设计探针，在人的 cDNA 文库中寻找人的视紫蛋白。假设牛视紫蛋白的一段序列是 TAGTACTACTTGT，那么人的视紫蛋白相应这一段可能有些差别，但非百分之百相同。通过降低杂交对顺序相似程度的要求，用牛的视紫蛋白基因做探针来找人的视紫蛋白基因。Nathans 称他用了自己的“种系发生细胞”制造人基因文



图 11-12 Nathans

库的 DNA。Nathan 和 Hogness 于 1984 年报道找到人的视紫蛋白基因，其氨基酸序列与牛的视紫蛋白相似性为 93.4%。

第三步，用人的视紫蛋白基因 DNA 做探针，寻找视锥光蛋白的基因。这是基于推测视锥光蛋白也应该与视紫蛋白有一部分序列相似性。这样也是用人的视紫蛋白基因做探针，通过低保真度杂交，找到其他三个基因。Nathans 等 (1986) 发现它们编码的基因相互有高度的相似性，而与视紫蛋白的相似性仅 41%。

如何确定这三个基因相对应什么颜色？Nathan 等在 1986 年的第二篇《科学》论文报道，根据色盲患者 DNA 片段异常和相应于 Nathans 获得的基因的分析，从而确定了基因与色觉的对应关系。这是人类遗传学与分子生物学相结合的成功范例。这一系列漂亮的工作为色觉分子研究的里程碑。

11.8 还原

色觉的第一级，发生在视网膜的三种视锥细胞，它们分别对不同的颜色有最大的反应，相应三个最佳波长，这并非一般所谓红绿蓝的三原色，而黄绿紫是真正的三原色。

视锥细胞中参与感光反应的是视锥光蛋白与视黄醛，其中吸收光的是视黄醛，但视锥光蛋白影响其对不同颜色的反应。人的视网膜有三种视锥光蛋白，其基因于 1986 年获得，基础工作是首先通过生物化学方法，先获得了视紫蛋白的部分序列。一般各种颜色的光，以不同比例刺激三种视锥细胞，信号在视网膜加工后，传入大脑，再经过更复杂的加工，而获得高级的认知。

对色觉的第一级分子理解是否完结，并未确定。以前认为感光细胞只有第一级的视杆细胞和视锥细胞，1998 年发现视网膜第三级的视神经节细胞中，有少数细胞含另一种光蛋白：melanopsin (视黑蛋白) (Provencio *et al.*, 1998, 2000)。这些细胞可能参加光感 (Hattar *et al.*, 2002; Berson *et al.*, 2002)。而 2012 年底 Stanford 大学心理系学者提出人视网膜在边缘区域可能有对三色以外第四色敏感的细胞 (Horiguchi *et al.*, 2012)，也许是含 melanopsin 的细胞。其后的研究发现，光蛋白可能在一些细胞和系统里其的作用与感光无关 (Senthilan *et al.*, 2012)，可能演化过程中，其作用也不一定是从感光开始的。生物有很多奥秘，即使在分子层面也不一定就一时能完全清楚。

分子层面并非色觉研究的终点，大脑对色觉的理解还有更深、更多的机理，包括人类目前还不知道的奥秘。

11.9 整合：视网膜

视觉认知是逐步整合的结果。

视网膜神经信息传递的三级细胞（感光细胞、双极细胞、视神经节细胞）有整合，视网膜内还有其他细胞（如水平细胞、无突细胞）也参与调节、整合。

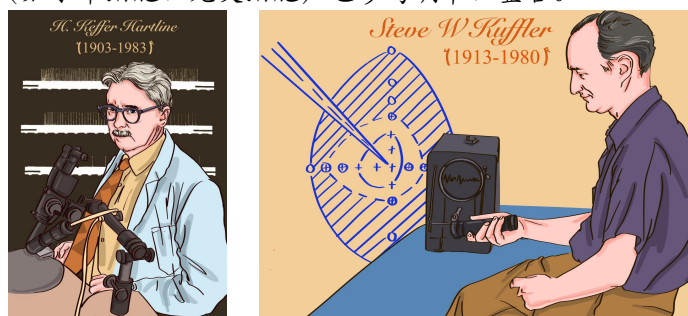


图 11-13 Hartline 及其 on 和 off 反应视神经，Kuffler 及其 on-center 细胞

美国生理学家 Keffer Hartline (1903-1983) 于 1932 年记录到马蹄蟹单根视神经的动作电位，发现视觉刺激强弱影响其发放频率，但不影响其形状 (Hartline and Graham, 1932)。

更多的脊椎动物视神经研究显示,有些视神经对恒定的光照有稳定的反应,有些对给光有反应 (on response),有些视神经是撤光的时候反应最强 (off response),有些视神经是给光和撤光的时候反应都强 (on-off response),有些视神经只对撤光有反应,光线的运动也能影响一些视神经的反应 (Hartline, 1938, 1940a, 1940b)。Hartline 称:“单个神经细胞不会独立行动,视觉系统所有单位行动的整合才能产生视觉”(Hartline, 1942)。

Stephen Kuffler (1903-1980) 研究猫的视网膜时发现, RGC 的感受野不是简单的对光反应,而有特定模式。有些 RGC 的感受野是中心为 On 反应、周边为 Off 反应 (称为“On 中心”感受野)。有些相反,中心为 Off 反应、周围 On 反应 (称为“Off 中心”感受野),而且用光同时刺激中心和周边区域可以抑制神经元的反应 (Kuffler, 1953)。英国的 Horace Barlow (1921-, 达尔文的曾孙) 研究蛙的视网膜得到类似发现 (Barlow, 1953; Barlow, FitzHugh and Kuffler, 1957)。这些发现显示视觉传递到 RGC 时经过了视觉加工处理。

哺乳动物的 RGC 送出神经纤维投射到外侧膝状体 (LGN), 双侧各有一个 LGN, 分六层, 2、3、5 层接受同侧视网膜的 RGC 投射, 1、4、6 接受对侧视网膜的 RGC 投射。LGN 的神经投射到大脑皮层枕叶的初级视皮层 (V1)。

11.10 视皮层研究的基础

对初级视皮层的研究,是神经信息整合为认知的一次突破。加拿大旅美科学家 David Hubel (1926-2013) 和瑞典旅美科学家 Torsten Wiesel (1924-) 的合作为核心内容 (Hubel and Wiesel, 1998, 2005)。1958 年, Wiesel 是霍普金斯大学眼科研究所 Kuffler 的博士后, Hubel 来加入生理系 Vernon Mountcastle (1918-2015) 实验室,但因生理系拥挤安排不过来, Kuffler 建议 Hubel 与 Wiesel 合作九个月等空间。这一合作延续 25 年,而且前五年就已硕果累累。Kuffler 和 Barlow 等已经研究视网膜的信号, Hubel 和 Wiesel 研究视皮层。

在技术上, Kuffler 的合作者发明了较好的仪器 (Talbot and Kuffler, 1952), 可以固定头和眼睛,而且可以局部给光刺激视网膜较小的区域,改进了此前常用的弥散给光。Hubel 本人发明了用钨丝电极记录皮层电位 (Hubel, 1957), 很快成为皮层电生理研究的常用工具,它的尖足够小 (直径 0.5 到 0.05 微米) 可以较好记录单细胞放电,而柔韧性足够强,相对不易断。Hubel 还发明了微推进器,将微电极插入脑内 (Hubel, 1959)。工欲善其事必先利其器的 Hubel 综合多种实验方法,设计建立了研究途径:发明电极,用微推进器将之插入视皮层,用 Talbot 和 Kuffler 发明的仪器局部给光刺激视网膜后记录视皮层的信号,然后用电流损毁电极所在部位,电生理实验完成后可以通过解剖观察损毁部位而确定电极插入的部位 (Hubel, 1959)。

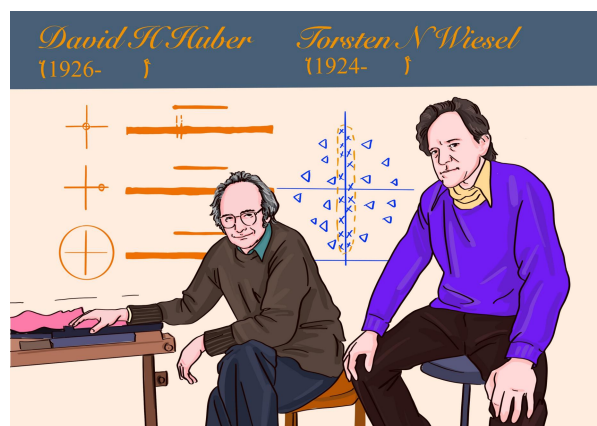


图 11-14 Hubel 和 Wiesel

在科学上, Mountcastle 在体躯感觉皮层的研究是 Hubel 和 Wiesel 研究的基础之一。Mountcastle 发现了皮层功能柱 (cortical columns): 功能柱垂直于皮层表面,其中不同层的神经细胞都对同样的体躯部位产生感觉反应 (Mountcastle, 1957, 1997)。他当时可以分四

种感觉模式：皮肤的毛发位移、皮肤压力、深部压力和关节转动。他发现功能柱内部的神经元都对同一种感觉刺激起反应，而不对其他起反应 (Mountcastle, 1957)。当时已有对皮层纵切的实验，它们对皮层功能影响很小 (Lorente De Nó, 1949; Sperry, Minor and Myers, 1955)，Mountcastle 推测这些是由于对纵向功能柱影响较小的缘故。

人的大脑皮层约 2600 平方厘米，从脑膜紧邻的第一层到邻接脑室的第六层，其中功能柱从第 2 层到第 6 层，每个功能微柱 (minicolumn) 一般含 80-100 个神经元 (纹状皮层 2.5 倍于此)，多个微柱组成直径为 300 到 600 微米的功能柱 (cortical column) (Peters and Sethares, 1996; Mountcastle, 1997)。听觉皮层、运动皮层也一样有功能柱，听觉皮层的功能柱与声波的频率等相关 (Mountcastle, 1997)。功能柱可能与发育过程中神经细胞前体的起源和迁移有关 (Rakic, 1972, 1995)。

11.11 整合：初级视皮层

在 Hubel 和 Wiesel 之前，极少研究视皮层。他们起初研究猫的视皮层，后研究猴的视皮层。

在仅有的视皮层研究中，德国佛莱堡大学的 Jung 等用了弥散的光作为刺激，作用于整个视网膜，记录到百分之五十的 V1 细胞对光有反应，其反应类似视网膜的 RGCs (Jung,

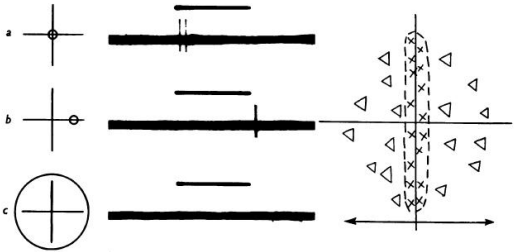


图 11-15 Hubel 和 Wiesel 的 on-center 的简单细胞

1953, 1958; Jung and Baumgartner, 1955)。

1959 年，Hubel 比较了弥散光和点光，发现 V1 的细胞基本对弥散光不反应，而对局限光反应很强，On 反应和 Off 反应都有。存在对移动的光有反应的 V1 细胞，其中多数只对一个方向移动的光有反应，有些对于静止的光无反应 (Hubel, 1959)。这一研究看起来是用新的记录电极和给光方法，重复 Jung 的研究，但却有新发现。事后分析，Jung 等的研究不仅给光方法不佳，而且记录有问题，估计是记录到了 LGN 投射到视皮层 V1 的纤维，而不是 V1 内部的细胞，所以记录到的反应类似视网膜的 RGC。

Hubel 和 Wiesel 最初预测在视皮层也发现类似 RGC 的反应，On 中心反应、Off 中心反应 (Hubel and Wiesel, 1998)。但他们发现了差别：中心不是圆的，而是“拉长了的圆” (Hubel and Wiesel, 1959)。他们称这种细胞为“简单细胞”。

他们提出这些细胞是对直线有反应。按这样的想法，他们进一步实验确定 V1 确实有对直线有反应的细胞，对而且直线的朝向有要求，只有特定朝向 (orientation) 的直线才能引起特定 V1 细胞的反应，所以是“朝向选择性细胞”。

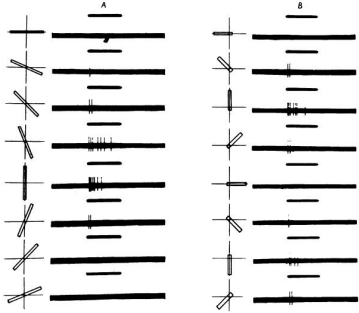


图 11-16 简单细胞的朝向选择性

Hubel 和 Wiesel 还发现, V1 的细胞一般主要对一侧眼的刺激有反应, 因此有眼优势细胞。对运动有反应的细胞对直线运动方向 (direction) 有选择性 (Hubel and Wiesel, 1959)。

他们还发现, 视皮层也有功能柱, 而且同一个功能柱的细胞都对同一个方向的线有反应, 既朝向选择性功能柱 (orientation selective columns), 也有主要对一侧眼有反应的功能柱, 眼优势柱 (ocular dominance columns) (Hubel and Wiesel, 1962, 1963a)。因此, 皮层的功能柱是普遍的规律, 而不仅限于体躯感觉皮层 (Mountcastle, 1957), 相邻的朝向功能柱偏好的朝向相近, 逐渐变化。

在发现这些事实的基础上, Hubel 和 Wiesel 提出 V1 之所以有这种识别线的简单细胞是因为他们接受了按一定朝向排列的 LGN 识别点的细胞的神经投射 (Hubel and Wiesel, 1962)

这是对认知现象提出大脑皮层神经生理学解释的优美范例。

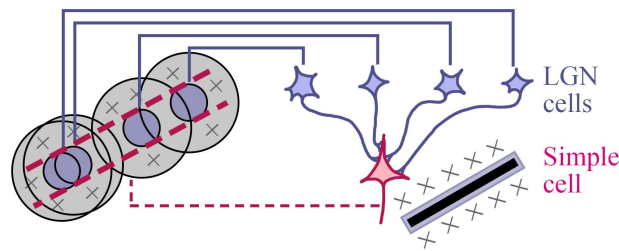


图 11-17 点识别细胞投射到 V1 形成线识别细胞

Hubel 和 Wiesel 对于简单细胞的解释简单而优美, 很快认为可能是对的。但不容易检验。因为需要检测投射到同一个 V1 线识别细胞的 LGN 神经纤维末梢到底对什么有反应。1990 年代中期才有实验似乎支持 LGN 投射与 V1 细胞反应的关系 (Reid and Alonso, 1995; Ferster, Chung and Wheat, 1996; Hubel, 1996)。为了分离 LGN 投射的神经末梢电位与 V1 局部神经元网络的电位, Ferster 等用全细胞膜片钳方法, 记录 V1 细胞的膜电位, 并通过降温大幅度减少 V1 神经网络的活动, 他们发现, V1 神经元的膜电位仍然保持朝向选择性。由于冷冻 V1 后 V1 神经元的膜电位主要来自 LGN 投射, 这就证明 V1 简单细胞的朝向选择性的确可以由 LGN 的传入产生, 这就支持了 Hubel 和 Wiesel 的模型 (Ferster, Chung and Wheat, 1996; Hubel, 1996)。Reid 等人同时在 LGN 和 V1 进行单细胞微电极记录, 并使用脉冲相关分析判定 LGN 细胞与 V1 简单细胞之间是否存在单突触连接, 他们发现, 与 V1 细胞有单突触连接的那些 LGN 细胞, 其感受野的确按 V1 简单细胞的感受野朝向排列。当然, V1 局部网络对 V1 简单细胞的反应也有贡献。

但还有不同于 Hubel 和 Wiesel 的解释: V1 细胞有计算功能, 或 V1 不同功能柱之间可以横向相互作用, 也可以解释 V1 简单细胞的反应。而复杂细胞和高复杂细胞, 就可能更复杂。在鼠进行双光子成像, 通过钙离子浓度反映神经细胞的兴奋性 (Jia *et al.*, 2010)。在小鼠视皮层单细胞树突进行光学成像辅以电生理记录发现: 同一根树突上, 接受不同朝向直线刺激的输入, 而无论细胞的输出朝向, 其输入都有多种朝向 (Jia *et al.*, 2010), 但这些朝向还是有相关性 (Ko *et al.*, 2011), 从而支持 V1 细胞不只是依赖输入的相似性决定其输出, 而是单个细胞可以计算其多种输入信号, 整合后得到单一输出信号。

所以, 前级神经纤维投射确定 V1 简单细胞朝向选择性的机理并非已经证明。认知的神经机理, 可能比以前想象的要复杂。

Hubel 和 Wiesel 还发现猫的 17 区 (猴的 V1) 有对更复杂型式反应的细胞: 对运动的线, 对运动的边界, 对特殊的形状。他们称之为“复杂细胞” (没有 On 和 Off 区域, 有位置不变性) (Hubel and Wiesel, 1962)。在猫的 18 区 (猴的 V2), 他们发现 90% 的细胞是复杂细胞, 在猫的 19 区 (猴的 V3), 他们发现 42% 为复杂细胞、58% 为“超复杂”细胞 (后者反应的图形需要有非连续性, 亦称 end-stop) (Hubel and Wiesel, 1965a)。V2 和 V3 的一个功能柱可同时含有复杂细胞和超复杂细胞。V2 和 V3 的细胞多数为双眼驱动。从 V1 到 V3 越来越复

杂，而且解剖上，他们观察到 V1 对于 V2 和 V3 有投射。Hubel 和 Wiesel 提出复杂细胞接受简单细胞的投射从而解析更复杂的视觉刺激 (Hubel and Wiesel, 1965a)。当时很容易认为视觉认知从此都由简单的投射法则而解决。

以上实验是用猫做的。Hubel 和 Wiesel 此后在猴做了同类实验 (Hubel and Wiesel, 1968)。在猴的 V1，他们发现有简单、复杂和超复杂细胞，简单细胞多于复杂和超复杂细胞。猴 V1 也有朝向选择功能柱和眼优势功能柱，而且相互独立。第 II 和第 III 层的浅层 2/3 只有复杂和超复杂细胞，没有简单细胞，双眼驱动。第 III 深层的 1/3、IVa 和 IVb 层有简单细胞，其中 IVb 主要是简单细胞、几乎无复杂细胞。第 IV 层细胞基本都是单眼驱动。第 V 和 VI 层主要是复杂和超复杂细胞，双眼驱动。因为视皮层的第 IV 层接受丘脑 LGN 输入，提示 IV 层简单加工后，再在其他层进一步加工。

11.12 结语

生物学研究，与其他自然科学一样，迄今以还原为主，取得了很大的进展。还原的途径在可以预见的未来会继续发挥很大作用。但是，整合也是明显需要的，在少数领域，整合取得了一定的进展，虽然远不如还原。显然，在生物学研究成功应用还原的范围和例子都超过整合的原因是技术性，而不是理念性。在分子交互作用、在细胞内部、细胞之间、组织、系统等层面，更多的整合有待进一步研究。

研究神经系统对整合需求最为明显，因为没有整合，只有细胞层面的反应，不能形成认知。虽然视觉系统的整合加工仍然是认知的重要模型，其他认知如嗅觉、听觉的神经生物学也有很大进展，与我们对视觉的理解相辅相成。而情绪、语言、思维等更高级的脑功能，需要更多地从整合层面进行研究和理解。

注 1: Kühne 证明 RPE 参与视紫物质暗复原的实验: a.把青蛙的眼球置于光照之下 30 分钟，视网膜褪色，在黑暗中保存后紫色重现; b.褪色后的视网膜与 RPE 分离，在黑暗中紫色不能复原; c.把褪色后的视网膜放在分离的 RPE 上，在黑暗中紫色可以复原; d.如果把 c 中的视网膜和 RPE 之间放置一片不透光的膜，不能复原; e.如果 c 中的 RPE 死亡时间过长 (数小时)，那么视网膜不能复原; f.如果漂白溶解在胆盐中的视紫物质，单独在黑暗中不能复原，而褪色的视紫物质如果与 RPE 混合则能在黑暗复原。Kühne 的遗嘱要求自己被火化时演奏贝多芬的第九交响乐 (Ripps, 2008)。

注 2: 本文将 rhodopsin 称为“视紫蛋白”。

注 3: 牛顿《光学》出版于 Hooke 去世以后，与两人一直有争论可能有关。牛顿的名言“我如果看的远是因为站在巨人肩上 (If I have seen further it is by standing on the should of giants)”出现在他与 Hooke 争论的通讯中，有两位英国传记作家对之解读为牛顿可能是讽刺挖苦驼背的 Hooke。不过，这句话并非牛顿发明，在十二世纪就有人提过。

注 4: George Wald 与夫人 Ruth Hubbard 在 1960、1970 年代加入社会活动，如反核，但也曾错误地积极反对重组 DNA，在 1970 年代导致哈佛所在地曾限制重组 DNA 的研究，使得一些哈佛教授逃到其他可以做 DNA 实验的地区去。

注 5: 互补原则和核酸杂交。DNA 两条相互环绕的核酸链所含核苷酸 (A、C、G、T) 通过氢键形成特异性的配对: A 对应 T, G 对应 C, 也称碱基配对。这一互补原则 (complementarity)，有重要的生物学意义，而科学家们利用互补原则发明了新的技术: 分子杂交 (molecular hybridization)。用同位素标记一条链的 DNA，作为探针，通过探针与互补链的结合而找到另外一条链。如果用双链 DNA 做的文库，在一定条件下两条链松开，那么，一条短片段做的单链探针可以找到文库中相应的 DNA。要求两条链 100% 碱基对配对的互补可以用高保真的条件达到。而有些基因在不同种类进化后，不会百分之百一样。比如人与牛的同一基因有一些差别。低于百分之百互补的两条 DNA 链，在一定条件下，也能杂交。需要降低杂交时对互补的要求，所谓低要求杂交 (low stringency hybridization)。降低杂交的要求可以通过降

低杂交进行时的温度、或增加溶液中的盐来达到。也就是用牛的基因得到的 DNA 探针，通过低要求杂交可以在人基因文库找到人的基因。

注 6: Jeremy Nathans 的父亲为霍普金斯大学的 Daniel Nathans (1928-1999)，后者与研究生 Kathleen Danna 于 1971 年发现 DNA 了限制性内切酶，1973 年美国旧金山加州大学 (UCSF) 生化系的 Herbert Boyer 和 Stanford 微生物系的 Stanley Cohen 在限制性内切酶的基础上，提出其后普遍通用的重组 DNA 方法，开创了基因工程的时代，奠定了生物技术产业的一个主要支柱，也改观了人类的生命科学研究。1978 年 Daniel Nathans 与瑞士的 Werner Arber 和美国的 Hamilton Smith 共享诺贝尔生理或医学奖。

注 7: 人们通常难以意识到自己的缺点。John Dalton (1766-1844) 研究集中于化学和物理，特别以其对原子论的贡献著称。1798 年，道尔顿发表“有关颜色感觉的特殊事实：观察”。道尔顿告诉大家自己和兄弟的色觉有问题。为了搞清楚这一问题，道尔顿遗嘱安排死后解剖自己的眼睛。1844 年 7 月 27 日，Dalton 去世后，28 日医生 Joseph Ransom 解剖 Dalton 的眼睛并保存下来。1995 年，伦敦大学分子遗传系的 Hunt 等从道尔顿的眼球取少量组织，制备 DNA，分析了他的色觉基因（光蛋白基因），确定其特定光蛋白基因 DNA 突变，也就解释了道尔顿色盲。



图 11-18 Dalton

注 8: Mountcastle 和两位同事的结果最初于 1955 年在美国生理学会宣读 (Davis, Berman and Mountcastle, 1955; Mountcastle, Berman and Davis, 1955)，但等到 1957 年发表文章的时候，两位合作者不敢接受 Mountcastle 的功能柱概念，因此文章仅 Mountcastle 一位作者 (Snyder, 2015)。

注 9: Hubel 和 Wiesel 初期工作在霍普金斯大学，1959 年他们随 Kuffler 到哈佛医学院药理系，1966 年哈佛建立由 Kuffler 主持的世界上第一个神经生物学系，主要以 Kuffler 从霍普金斯带到哈佛的人为主，用生理、生化等多学科研究神经生物学问题。

注 10: Hubel 和 Wiesel 有一系列视觉发育的研究 (Wiesel and Hubel, 1963a, 1963b, 1965a, 1965b; Hubel and Wiesel, 1963b, 1965, 1970)，一个主要发现是视觉发育的关键期，在关键期没有视觉经历对视觉的影响特别大，而关键期之前或者之后闭眼影响就小很多。

参考文献

- Arshavsky VY, Lamb TD, Pugh Jr EN (2002) G proteins and phototransduction. *Annual Review of Physiology* 64: 153-187.
- Barlow HB (1953) Summation and inhibition in the frog's retina. *Journal of Physiology* 119:69-88.
- Barlow HB, FitzHugh R and Kuffler SW (1957) Change of organization in the receptive fields of the cat's retina during dark adaptation. *Journal of Physiology* 137:338-354.
- Baylor DA, Lamb TD and Yau KW (1979) Responses of retinal rods to single photons. *Journal of Physiology* 288:613-634.

- Belrhali H, Nollert P, Royant A, Menzel C, Rosenbusch JP, Landau EM and Pebay-Peyroula E (1999). Protein, lipid and water organization in bacteriorhodopsin crystals: a molecular view of the purple membrane at 1.9 Å resolution. *Structure* 7:909-917.
- Berson DM, Dunn FA and Takao M (2002). Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* 295:1070-1073.
- Böll F (1877) Zur Anatomie und Physiologie der Retina. *Archiv für Anatomie, Physiologie Abt*:4-35.
- Dalton J (1798). Extraordinary facts relating to the vision of colours with observations. *Memoirs of the Literary and Philosophical Society of Manchester* 5:28-45.
- Davis PW, Berman AL and Mountcastle VB (1955) Functional analysis of the first somatic area of the cat's cerebral cortex in terms of activity of single neurons. *American Journal of Physiology* 183:607.
- Dowling JE (2002) George Wald 18 November 1906-12 April 1997. *Proceedings of the American Philosophical Society* 146:431-439.
- Fesenko EE, Kolesnikov SS and Lyubarsky AL (1985) Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment. *Nature* 313:310–313.
- Ferster D, Chung S and Wheat H (1996) Orientation selectivity of thalamic input to simple cells of cat visual cortex. *Nature* 380:249–252.
- Fridericia LS and Holm E (1925). Experimental contribution to the study of the relation between night blindness and malnutrition. *American Journal of Physiology* 73:63–78.
- Granit R (1941) Isolation of colour-sensitive elements in a mammalian retina. *Acta Physiologica Scandinavia* 3:318-328.
- Granit R (1943) The spectral properties of the visual receptors of the cat. *Acta Physiologica Scandinavia* 5:21-22.
- Granit R (1945) The colour receptors of the mammalian retina. *Journal of Neurophysiology* 8:197-210.
- Hargrave PA (1977). The amino-terminal tryptic peptide of bovine rhodopsin; a glycopeptide containing two sites of oligosaccharide attachment. *Biochimica et Biophysica Acta* 492:83-94.
- Hargrave PA, McDowell JH, Sremiatskowski-Juszczak EC, Fong S-L, Kuhn H, Wang JK, Curtis DR, Mohana Rao JK, Argos P, and Feldmann RJ (1982). The carboxy terminal one-third of bovine rhodopsin: its structure and function. *Vision Research* 22:1429-1438.
- Hargrave PA, McDowell JH, Curtis DR, Wang JK, Juszczak E, Fong SL, Rao JK, Argos P (1983) The structure of bovine rhodopsin. *Biophysics of Structure and Mechanism* 9:235-244.
- Hartline HK and Graham CH (1932) Nerve impulses from single receptors in the eye. *Journal of Cellular and Comparative Physiology* 1:227-295.
- Hartline HK (1938) The response of single optic nerve fibers of the vertebrate eye to illumination of the retina. *American Journal of Physiology* 121:400-415.
- Hartline HK (1940a) The receptive fields of optic nerve fibers. *American Journal of Physiology* 130:690-699.
- Hartline HK (1940b). The effects of spatial summation in the retina on the excitation of the fibers of the optic nerve. *American Journal of Physiology* 130:700-711.
- Hartline HK (1942) The neural mechanisms of vision. *Harvey Lectures* 37:39-68.
- Hattar S, Liao HW, Takao M, Berson DM and Yau KW (2002). Melanopsin containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 295:1065-1070.
- Hecht S (1919). Sensory equilibrium and dark adaptation in *Mya arenaria*. *Journal of General*

- Physiology* 1:545-558.
- Hecht S, Schlaer S, Pirenne M (1942) Energy, quanta and vision. *Journal of General Physiology* 25:819–840.
- von Helmholtz H (1910) Treatise on Physiological Optics, translated by Southall JPC (1924), Vol. 2 the sensations of vision. The Optical Society of America.
- Horiguchi H, Winawer J, Dougherty RF and Wandell BA (2012). Human trichromacy revisited. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 110:260-269.
- Hubel DH (1957) Tungsten microelectrode for recording from single units. *Science* 125:549-550.
- Hubel DH (1959) Single unit activity in striate cortex of unrestrained cats. *Journal of Physiology* 147:226-238.
- Hubel DH (1996) A big step along the visual pathway. *Nature* 380:197–198.
- Hubel DH and Wiesel TN (1959) Receptive fields of single neurones in the cat's striate cortex. *Journal of Physiology* 148:574-91.
- Hubel DH and Wiesel TN (1962) Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *Journal of Physiology* 160:106-154.
- Hubel DH and Wiesel TN. (1963a) Shape and arrangement of columns in cat's striate cortex. *Journal of Physiology* 165:559-68.
- Hubel DH and Wiesel TN (1963b) Receptive fields of cells in striate cortex of very young, visually inexperienced kittens. *Journal of Neurophysiology* 26:994-1002.
- Hubel DH and Wiesel TN (1965) Receptive fields and functional architecture in two nonstriate visual areas (18 and 19) of the cat. *Journal of Neurophysiology* 28:229-289.
- Hubel DH and Wiesel TN (1968) Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *Journal of Physiology* 195:215-243.
- Hubel DH and Wiesel TN (1970) The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. *Journal of Physiology* 206:419-36.
- Hubel DH and Wiesel TN (1998). Early exploration of the visual cortex. *Neuron* 20:401-12.
- Hubel DH and Wiesel TN (2005). Brain and Visual Perception: the story of a 25-year collaboration. Oxford University Press.
- Hunt DM, Dulai KS, Bowmaker JK and Mollon JD (1995). The chemistry of John Dalton's color blindness. *Science* 267:984 – 988.
- Jia H, Rochefort NL, Chen X and Konnerth A (2010) Dendritic organization of sensory input to cortical neurons in vivo. *Nature* 464:1307-1312.
- Jung R (1953) Neuronal discharge. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology Supplement* 4:57-71.
- Jung R (1958) Excitation, inhibition and coordination of cortical neurones. *Experimental Cell Research Suppl* 5:262-271.
- Jung R and Baumgartner G (1955) Hemmungsmechanismen und bremsende Stabilisierung an einzelnen Neuronen des optischen Cortex. *Pflüger Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere* 261:434-456.
- Kimura Y, Vassilyev DG, Miyazawa A, Kidera A, Matsushima M, Mitsuoka K, Murate K, Hirai T and Fujiyoshi Y (1997). Surface of bacteriorhodopsin revealed by high-resolution electron crystallography. *Nature* 389:206-211.
- Ko H, Hofer SB, Pichler B, Buchanan KA, Sjöström PJ and Mrsic-Flogel TD (2011). Functional specificity of local synaptic connections in neocortical networks. *Nature* 473:87-91.
- Kuffler SW (1953) Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *Journal of Neurophysiology* 16:37-68.

- Kühne W (1879) Chemische Vorgänge in der Netzhaut. Hermann L. eds. Handbuch d. Physiologie d. Sinnesorgane Erster Theil, Gesichtssinn. F.C.W. Vogel Leipzig, Germany.
- Kühne W (1882) Beiträge zur Optochemie. Untersuchungen aus dem physiologischen Institute der Universität Heidelberg 4:169-249.
- Lorente De Nó R (1949) Cerebral cortex: architecture, intracortical connections, motor projections. Chap. 15 in: FULTON, J. F., Physiology of the nervous system, 3rd ed. New York and London, Oxford University Press.
- Marks WB, Dobelle WH and MacNichol EF (1964) Visual pigments of single primate cones. *Science* 143:1181-1183.
- Maxwell JC (1872) On colour vision. *Proceedings of the Royal Institution of Great Britain* 6:260-271.
- McCollum EV and Davis M (1913) The necessity of certain lipins in the diet during growth. *Journal of Biological Chemistry* 15:167-175.
- McCollum EV and Davis M (1915) The nature of the dietary deficiencies of rice. *Journal of Biological Chemistry* 23:181-230.
- Mountcastle VB (1957) Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *Journal of Neurophysiology* 20:408-434.
- Mountcastle VB (1997) The columnar organization of the neocortex. *Brain* 120:701-722.
- Mountcastle VB, Berman AL and Davis PW (1955) Topographic organization and modality representation in the first somatic area of the cat's cerebral cortex by method of single unit analysis. *American Journal of Physiology* 183:646.
- Müller R (1851). Zur Histologie der Netzhaut. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie* 3:234-237.
- Nathans J and Hogness DS (1983) Isolation, sequence analysis, and intron-exon arrangement of the gene encoding bovine rhodopsin *Cell* 34:807-814.
- Nathans J and Hogness DS (1984) Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding human rhodopsin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 81:4851-4855.
- Nathans J, Thomas D, Hogness DS (1986). Molecular genetics of human color vision: the genes encoding blue, green, and red pigments. *Science* 232:193-202.
- Nathans J, Piantanida TP, Eddy RL, Shows TB and Hogness DS (1986) Molecular genetics of inherited variation in human color vision. *Science* 232:203-210.
- Newton I (1704) Opticks. Smith and Walford, London.
- Osborne TB and Mendel LB (1913) The relation of growth to the chemical constituents of the diet. *Journal of Biological Chemistry* 15:311-326.
- Ovchinnikov YA, Abdulaev NG, Feĭgina M, Artamonov ID, Zolotarev A, Kostina M, Bogachuk A, Miroshnikov AI, Martynov V, Kudelin A (1982). The complete amino acid sequence of visual rhodopsin. *Bioorganicheskaya Khimiya* 8:1011-1014.
- Ovchinnikov, YA, Abdulaev, N.G., Feĭgina, M., Artamonov ID, Bogachuk AS (1983). Visual rhodopsin. III. Complete amino acid sequence and topography in a membrane. *Bioorganicheskaya Khimiya* 9:1331-1340.
- Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, Behnke CA, Motoshima H, Fox BA, Le Trong I, Teller DC, Okada T, Stenkamp RE, Yamamoto M, Miyano M (2000) Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor. *Science* 289:739-745.
- Palmer G (1777) Theory of Colour and Vision, London: Leacroft.
- Peters A and Sethares C (1996) Myelinated axons and the pyramidal cell modules in monkey primary visual cortex. *Journal of Comparative Neurology* 365:232-255.

- Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP, Rollag MD (1998) Melanopsin: an opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95:340–345.
- Provencio I, Rodriguez IR, Jiang G, Hayes WP, Moreira EF and Rollag MD (2000) A novel human opsin in the inner retina. *Journal of Neuroscience* 20:600-605.
- Rakic P (1972) Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *Journal of Comparative Neurology* 145:61–83.
- Rakic (1995) A small step for the cell, a giant leap for mankind: a hypothesis of neocortical expansion during evolution. *Trends in Neuroscience* 18:383-388.
- Reid RC and Alonso J-M (1995) Specificity of monosynaptic connections from thalamus to visual cortex. *Nature* 378:281–284.
- Ripps H (2008) The color purple: milestones in photochemistry. *Federation of American Societies of Experimental Biology Journal* 22:4038-4043.
- Senthilan PR, Piepenbrock D, Ovezmyradov G, Nadrowski B, Bechstedt S, Pauls S, Winkler M, Möbius W, Howard J, Göpfert MC (2012) Drosophila auditory organ genes and genetic hearing defects. *Cell* 150:1042-1054.
- Smith SO (2010). Structure and activation of the visual pigment rhodopsin annual review of biophysics. *Annual Review of Biophysics* 39:309-328.
- Snyder SH (2015) Vernon B. Mountcastle 1918-2015. *Nature Neuroscience* 18:318.
- Sperry RW, Minor N, Myers RE (1955) Visual pattern perception following subpial slicing and tantalum wire implantations in the visual cortex. *Journal of Comparative Physiology and Psychology* 48:50-58.
- Talbot SA and Kuffler SW (1952). A multibeam ophthalmoscope for the study of retinal physiology. *Journal of the Optical Society of America* 42:931-936.
- van der Velden HA (1946) The number of quanta necessary for the perception of light in the human eye. *Ophthalmologica* 111:321–331.
- Wald G (1933) Vitamin A in the retina. *Nature* 132:316.
- Wald G (1935) Vitamine A in eye tissue. *Journal of General Physiology* 18 :905-915.
- Wald G (1935) Carotenoids and the visual cycle. *Journal of General Physiology* 19:351-371.
- Wald G (1968) The molecular basis of visual excitation. *Nature* 219:800-807.
- Walton GE, Bower NJA and Bower TGR (1992) Recognition of familiar faces by newborns. *Infant Behavioral Development* 15:265-269.
- Wiesel TN and Hubel DH (1963a) Effects of visual deprivation on morphology and physiology of cells in the cats lateral geniculate body. *Journal of Neurophysiology* 26:978-93.
- Wiesel TN and Hubel DH (1963b) Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *Journal of Neurophysiology* 26:1003-1017.
- Wiesel TN, Hubel DH (1965a) Comparison of the effects of unilateral and bilateral eye closure on cortical unit responses in kittens. *Journal of Neurophysiology* 28:1029-40.
- Wiesel TN, Hubel DH (1965b) Extent of recovery from the effects of visual deprivation in kittens. *Journal of Neurophysiology* 28:1060-72.
- Wolf G (2001) The discovery of the visual function of Vitamin A. *Journal of Nutrition* 131:1647-1650.
- Young T (1802) On the Theory of Light and Colours. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 92:12-48.
- Yudkin AM (1931) The presence of vitamin A in the retina. *Archive of Ophthalmology* 6:510–517.

阅读

Nathans J, Piantanida TP, Eddy RL, Shows TB and Hogness DS (1986) Molecular genetics of inherited variation in human color vision. *Science* 232:203-210.

Hubel DH and Wiesel TN (1962) Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *Journal of Physiology* 160:106-154.