



(<http://apm.cas.cn/>)

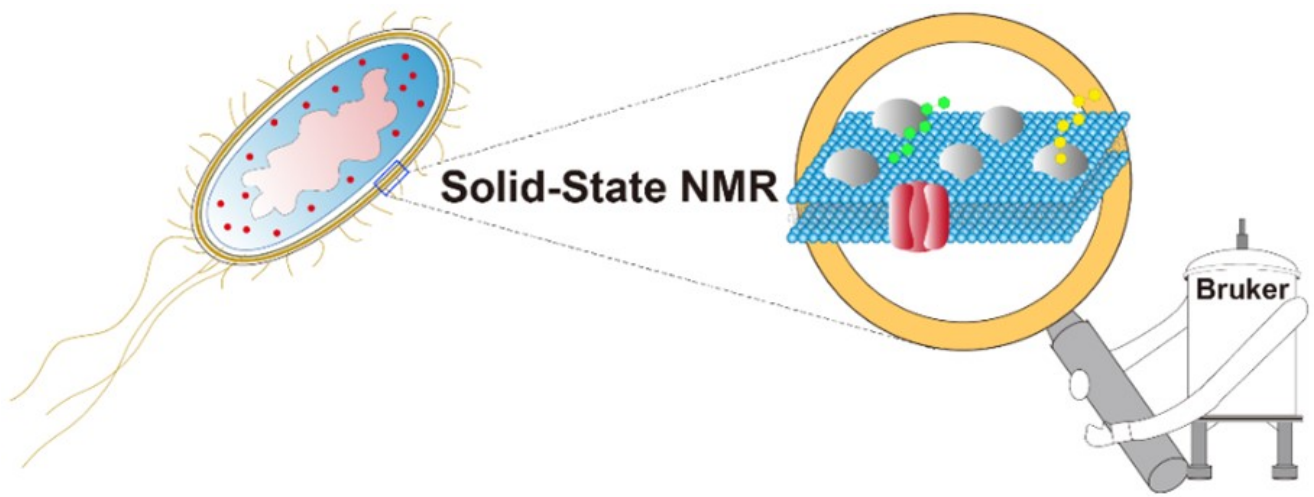
当前位置: [首页](http://apm.cas.cn/) (<http://apm.cas.cn/>) >> [科研动态](http://apm.cas.cn/kydt/) (<http://apm.cas.cn/kydt/>)

科研动态

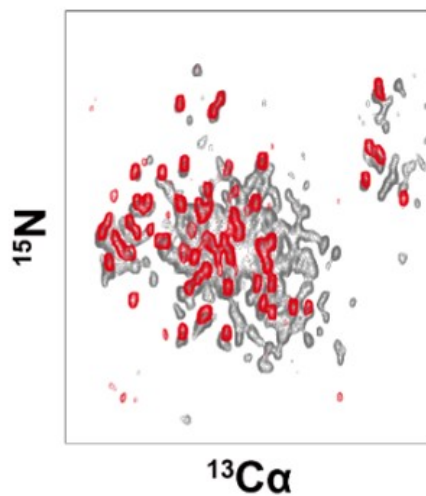
精密测量院在天然细胞膜固体核磁共振结构测定方面取得系列进展

来源: 时间: 2023-11-27

近日, 精密测量院杨俊研究团队在天然细胞膜固体核磁共振 (NMR) 结构测定方面取得系列进展, 相关研究成果发表在国际期刊《科学-进展》 (Science Advances) 和《美国化学会志-金》 (JACS Au) 上。



Sample Preparation

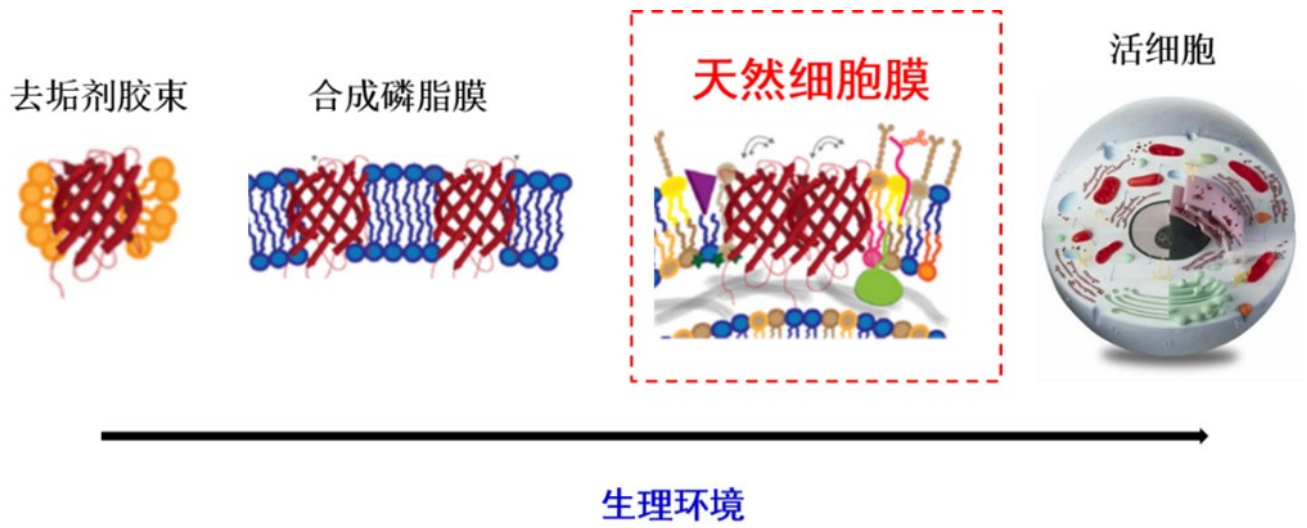


Structure Determination



研究团队在膜蛋白细胞膜样品制备和原位结构测定方面取得进展

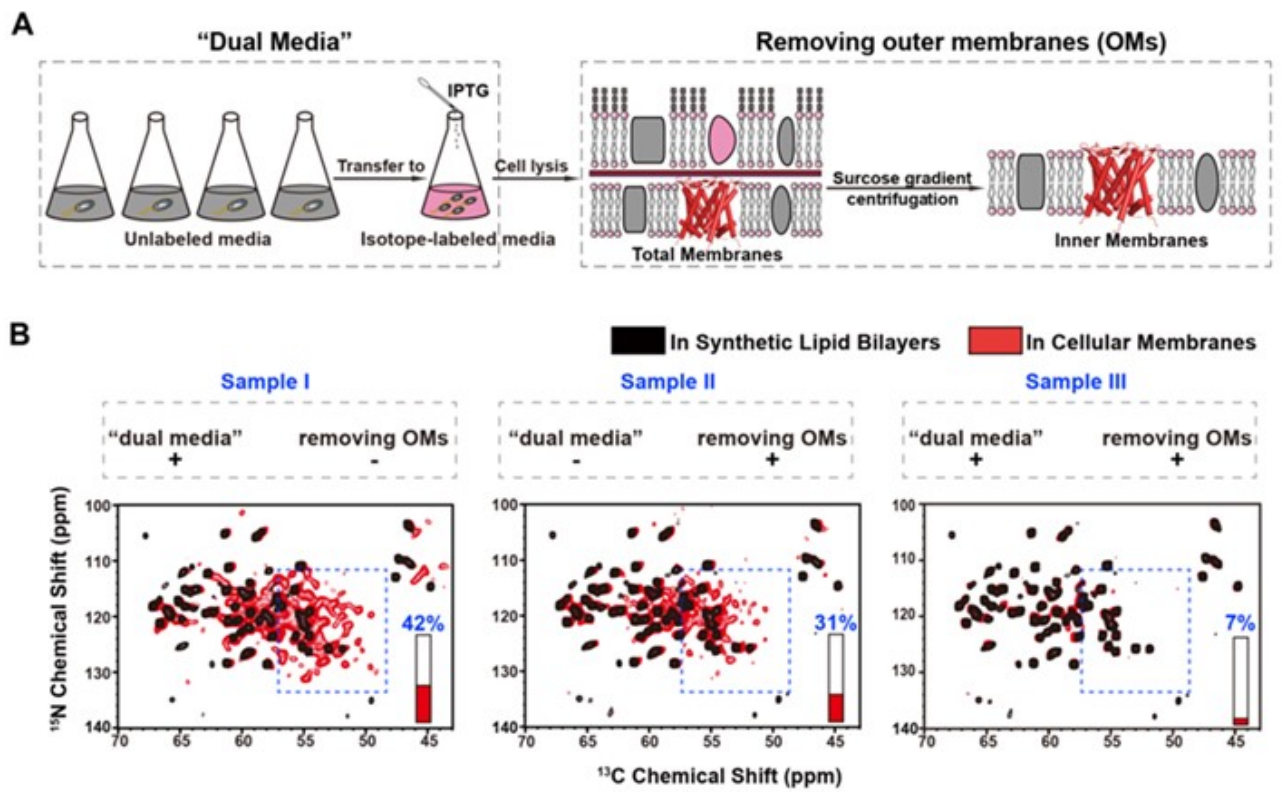
膜蛋白在高度异质和复杂的细胞膜环境中行使功能。细胞膜的组成以及物理化学性质对膜蛋白的结构和功能有重要的影响，因此准确地阐明膜蛋白在天然细胞膜环境中的结构对于理解其真实的功能机制至关重要。但是在天然细胞膜中测定膜蛋白的结构面临着诸多挑战，这主要是因为天然细胞膜系统的高度不均匀性、复杂的背景信号干扰以及目标蛋白的低丰度限制了常用结构分析技术的检测分辨率和灵敏度。因此迄今为止，蛋白质数据库中几乎所有可用的膜蛋白结构均是在体外简化的膜模拟物（如去垢剂胶束、纳米盘和合成磷脂膜等）中得到（图2）。然而，这些膜模拟环境均很难模拟出天然细胞膜独特的理化特性，如细胞膜的疏水厚度、侧压、化学梯度、电场梯度等，这些理化特性的差异可能会对膜蛋白的结构和功能产生影响。此外，在这些样品制备过程中需要将膜蛋白从其原生的细胞膜环境中提取出来，再重组到膜模拟环境中，这可能会导致蛋白质的结构改变或活性丧失。因此，在天然的细胞膜环境中测定膜蛋白结构是一个非常重要但极具挑战性的课题。



不同膜模拟环境

固体NMR在膜蛋白原位结构测定方面具有独特的优势，但同样也面临着背景信号干扰严重、目标信号信噪比弱、难以获得足够数量距离约束等严峻挑战。虽然前人已经进行了诸多尝试，但迄今为止，还未能成功在天然细胞膜中测定膜蛋白高分辨率三维结构。为了克服这些困难，杨俊研究团队提出了一种新的固体NMR结构测定方法，该方法包括改进的细胞膜样品制备方案、先进的固体NMR技术和结构模型辅助的归属策略，成功在天然细胞膜中实现了膜蛋白三维结构的测定。

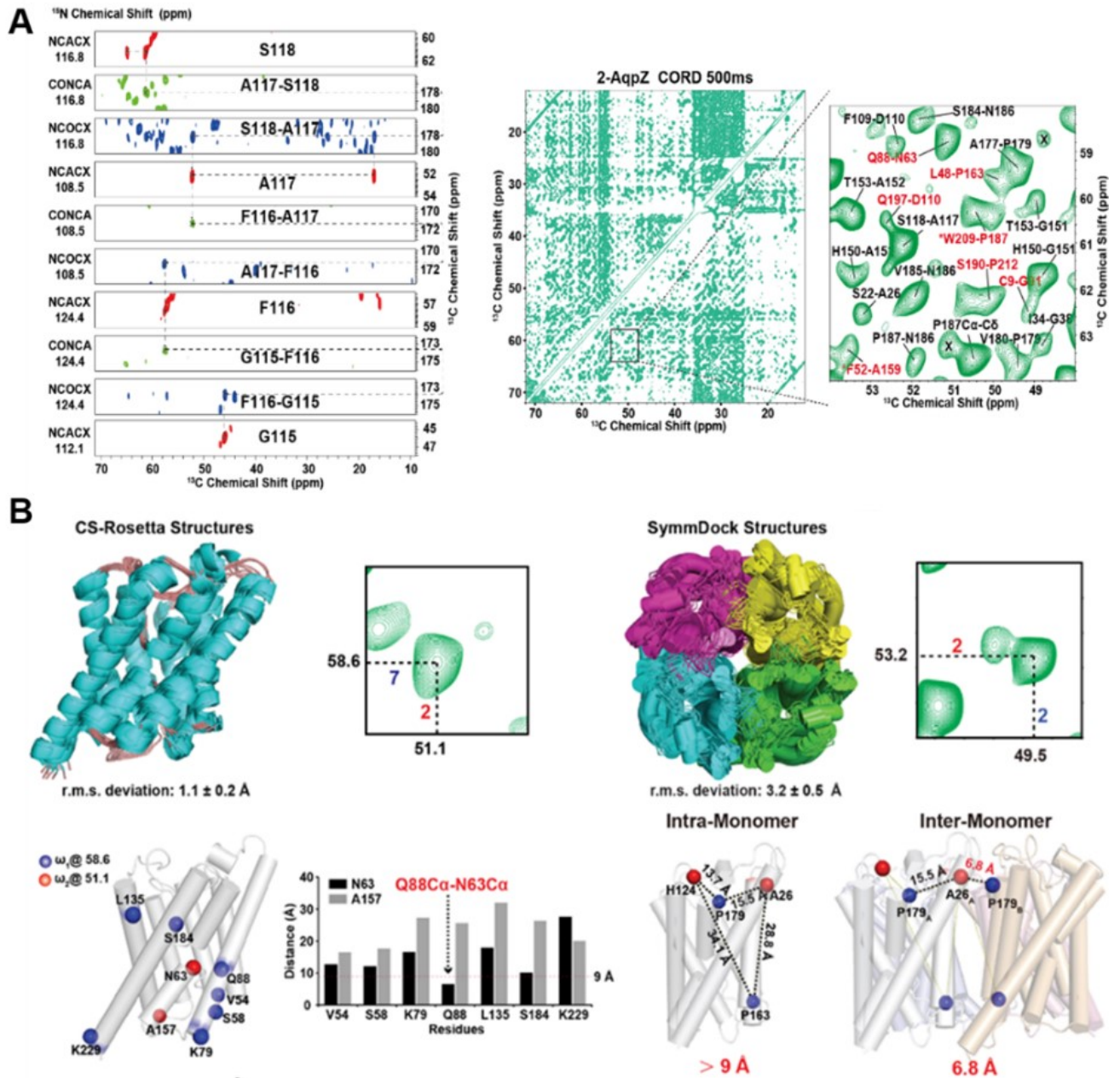
背景蛋白信号的干扰一直是利用固体NMR测定天然细胞膜中膜蛋白三维结构的一个主要障碍。研究团队结合各种抑制背景蛋白表达和标记的技术，包括优化蛋白表达条件、菌株筛选、“双培养基”以及内外膜分离等，提出了一种改进的样品制备方案（图3）。该方案可以实现背景蛋白信号的完全抑制，同时保持目标蛋白的高灵敏度。



改进的细胞膜样品制备方案

基于所建立的天然细胞膜样品制备方案，研究团队在天然细胞膜中成功表征了机械敏感性通道蛋白MscL的二级结构，并证明了获取其长程距离约束的可行性。这一突破为进一步在天然细胞膜中测定膜蛋白的三维结构奠定了基础。

为了获得足够数量的距离约束，研究团队采用先进的固体NMR技术，包括多种 ^{13}C - ^{13}C 偶极重耦方法（图4A），而后引入了结构模型辅助的归属策略，通过利用单体和四聚体结构模型来减少距离约束的模糊性（图4B），最终获得了1000多个距离约束。



高质量归属和距离约束谱图和结构模型辅助的归属策略

基于上述结构测定方法，研究团队成功地在天然细胞膜中测定了水通道蛋白AqpZ的结构，其骨架均方根偏差（RMSD）为 1.7 ± 0.4 Å。这是国际上首次利用固体NMR在天然细胞膜中实现膜蛋白高分辨率三维结构的测定。这项研究证明了固体NMR在天然细胞膜环境中测定膜蛋白高分辨率三维结构的可行性和巨大潜力，对于结构生物学领域具有重要意义。

结构测定方法以“Solid-state NMR structure determination of a membrane protein in *E. coli* cellular inner membrane”为题发表在国际期刊《科学-进展》（Science Advances）上，精密测量院博士后谢华勇、赵永祥为第一作者，杨俊为通讯作者。细胞膜样品制备方法以“Membrane Protein Structures in Native Cellular Membranes Revealed by Solid-state NMR Spectroscopy”为题

发表在《美国化学会志-金》（JACS Au）上，精密测量院博士后张艳、博士生甘悦芳、实验师赵伟静为第一作者，谢华勇、杨俊为通讯作者。精密测量院为以上研究工作的第一完成单位，以上研究工作得到了科技部重点研发计划和国家自然科学基金的资助。

论文链接：

Science Advances : <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.adh4168>
(<https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.adh4168>)

JACS Au : <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jacsau.3c00564>
(<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jacsau.3c00564>)

上一篇：[精密测量院在分子筛催化剂上微观水环境作用
研究中取得重要进展](https://www.cas.ac.cn/jq/202312/t20231205_6940354.html)
([././202312/t20231205_6940354.html](https://www.cas.ac.cn/jq/202312/t20231205_6940354.html))

下一篇：[精密测量院首次揭示了负能态对Sr
光钟多极极化率的影响](https://www.cas.ac.cn/jq/202311/t20231117_6934372.html)
([././t20231117_6934372.html](https://www.cas.ac.cn/jq/202311/t20231117_6934372.html))



中国科学院
CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

(<http://www.cas.cn>)

中国科学院精密测量科学与技术创新研究院

地址：武汉市武昌小洪山西30号 电话：027-87199543 邮政编码：430071

ICP备案号：[鄂ICP备20009030号-1](https://beian.miit.gov.cn) (<https://beian.miit.gov.cn>) 鄂公网安备 42011102003884号