



学科融合: 由 X 射线晶体学揭示的生命进程中的化学基础

阿达·约纳特*

魏茨曼科学研究所, 雷霍沃特 76100, 以色列

*通讯作者, E-mail: ada.yonath@weizmann.ac.il

收稿日期: 2011-09-05; 接受日期: 2011-09-12; 网络版发布日期: 2011-10-30

英文版见: Yonath A. Merging disciplines: Chemical bases of life processes are revealed by X-ray crystallography. *Sci China Chem*, 2011, 54(12): 2021–2023

这篇文章是为国际化学年而写的总结。化学主导了几乎所有现代科学的分支, 因为一旦深入到了分子水平上, 就会涉及到化学事件。在生命科学领域里面, 传统科学分支之间的界限实际上已经消失了, 所以几乎所有的生物学问题都是以化学术语回答的。

生物 X 射线晶体学作为一个研究工具, 在分子水平上塑造了我们对生物学过程的概念。X 射线晶体学以生物大分子或者分子组装体为研究对象, 通过绘制组成这些对象的每一个原子的位置, 为构建准确的 3D 模型提供必需的信息, 由此生成的信息对理解生命过程至关重要。这种方法利用物理属性(即光波和物体之间的相互作用产生的衍射)以及傅立叶变换和群论等数学原理, 提供键长、化学亲和性、分子运动性等结果。

由单个分子产生的 X 射线散射是一个连续的函数。而在三维空间周期性排列的单元形成的晶体对 X 射线的散射则会依据晶格的周期性(有倒易关系)产生离散的衍射点。这些离散的衍射点来自于散射波与晶格函数的卷积。在这种方式下, X 射线的衍射变成离散的及可测量的。另外, 晶体中大量取向相同的单元会同时产生衍射, 这将大大增加衍射信号的强度。这也解释了晶体样品的重要性。

X 射线晶体学的运用开始于 20 世纪 20 年代, 这归功于马克斯·冯·劳厄发现了由晶体产生 X 射线的离散衍射。随后, 威廉·亨利·布拉格与其子威廉·劳伦斯·布拉格成功地应用 X 射线衍射技术确定简单无

机分子的电子分布。这种方法最初被用来确定无机小分子的结构。接着对非常简单的有机化合物的结构也可以用这种方法确定。将 X 射线晶体学扩展到生物分子, 刚开始时受到相当大的质疑。在最初的二十多年里, 许多有威望的科学家甚至怀疑这种方法的可行性。

尽管 X 射线晶体学存在一些瓶颈, 但自从它的第一个成功应用以来, X 射线晶体学在分子水平上阐述功能相比其他方法更具有显而易见的优越性。这种方法在生命科学中的应用变得日益普及, 促使分子结构的数量稳定增长, 其中有一些结构在几年前还被认为是难以解析的。在生物晶体学的整个历程中, 所涉及的领域已经超出了所谓的现实性期望。所以这个历程被描述为正在进行中的大量尝试, 而针对的问题需要不断提高技术来解决。因此, 已得到的结构激励了越来越复杂的晶体学研究, 由此导致了重大的技术创新, 并加速了该领域难以置信的拓展。随着生物分子结构的数量不断增长, 对复杂功能也产生了新的认识, 例如跨膜运输、信号通路、蛋白/核酸识别、生物活性 RNA 分子等。

样品制备是一个主要的瓶颈。因此, 在生物晶体学存在的整个历程中, 即使当今我们可以利用自动化系统来生长晶体, 对生物大分子生长有用的晶体仍旧是决定其三维结构的主要瓶颈。这是由于其内部固有的柔性, 非常需要将其浸泡在支持溶液中, 以便保持其具有功能意义的构象。就膜蛋白而言, 后一

种情况具有特别大的局限性。包裹着细胞的膜或者细胞内特殊细胞器的膜具有不透水层，在其中嵌入的蛋白质控制着跨膜转运。膜蛋白的天然属性使其难以溶解在水介质中，这使得它们的结晶比可溶性蛋白更为复杂。因此，在目前所有已知结构的蛋白质总数(约 80000)中，从解析第一个膜蛋白结构到现在的 26 年里，仅有 280 个膜蛋白的结构存放到了蛋白质结构数据库(PDB)。特别是其中有一半的结构直到最近几年才得以解析，而且在显著提高分辨率极限方面也正在不断取得成功。

现代生物晶体学正被用于多种关键生命过程的研究，并取得了不可思议的进展。通过解析结构来理解基本生命过程，最近在化学方面取得了显著的进展，下面我们选出其中的精彩部分。这些进展包括通过基因的转录调控来控制饱和与非饱和脂肪酸之间的比例；氧化还原酶复合物；多聚体膜蛋白和外膜蛋白复合物；膜激活因子；多肽转运相关结构域；G 蛋白偶联受体，具有将信号转移到细胞内的跨膜螺旋；人脂肪酶，在内源性大麻素信号发生中发挥关键作用；分泌性溶血磷脂酶，能产生与介质相互作用的脂质；肌动蛋白调节复合物，通过促进肌动蛋白丝成核来控制细胞骨架动力学；外膜棕榈酰转移酶；植物自我活化的 G 蛋白；人源钙调蛋白的酶活结构域；植物病原体的分子伴侣；肿瘤抑制蛋白；雌激素受体等。

最近，RNA 分子及其复合物的 X 射线晶体学得到了极大的拓展。核糖开关和核糖体就是其中的两个例子。后者是普遍存在的一种细胞器，它可以将遗传密码翻译成蛋白质。十年前，首次得到了细菌核糖体亚基的分子结构。这些结构和后来解析的核糖体结构阐明了在蛋白质合成过程中的关键问题，还为设计更好的抗生素铺平了道路。有趣的是在核糖体晶体学的前三十多年中，只有原核生物的核糖体被用于晶体学研究。去年解析了两个真核生物的核糖体结构：一个是来源于原生动物的核糖体小亚基与翻译起始蛋白组成的复合物，另一个是来源于酵母的真核核糖体的功能复合物。考虑到真核核糖体比原核核糖体的结构更加复杂，其中真核核糖体比原核核糖体大了 40%，这些最近的结构展示了一个显著的进展。

已解析结构的分辨率极限是晶体学结构测定中的一个主要问题。如果力图阐明生物过程的分子机

制，就需要高分辨率的结构。如果样品中所有的原子相对固定在他们的位置，以及所有结晶的分子具有相同的构象，那么该样品衍射产生的电子密度图就可以表明每个原子精确的位置。因为蛋白质具有较大的柔性并且生物大分子的晶体中包含着相当多的溶剂，晶格多少有些杂乱，因此衍射图案消失在低于预定的分辨率。2011 年发表了令人印象深刻的结果，一个非常小的花菜蛋白分子结构达到了 0.48 Å 的分辨率极限。在这个领域里面，这是一个明显的例外。

一直以来，生物晶体学遭遇了许多瓶颈和障碍。挑战这些困难不仅鼓励了主要的创新和突出的技术进步，而且还导致了实验设计原理的观念变革。为此，配备先进的技术和创新的计算工具成为必须的要求。例证之一，四十年前同步辐射(SR)就变得非常有用。而且，利用同步辐射在光束亮度、光束准直和波长可调的优越特性，经过不断地优化，在准确结构测定方面取得了重大的进展。同步辐射的使用最初遭遇了严重的质疑。一旦其实用价值变得日益明显，许多技术问题就妨碍了它的有效利用。例如，生物晶体的损伤几乎是在瞬间由同步辐射 X 射线光束的亮度所造成(而这种光束亮度对获得生物大分子晶体的测量数据又是必需的)。通过引进低温下进行数据收集的新方法，这种损伤可以被减少到可容忍的范围。

另外，尽管同步辐射具有这些缺点，但人们很快认识到它为测定结构提供了前所未有的实验工具。尤为重要是利用其波长可调性来确定晶体相位。晶体相位是构建电子密度图所必需的，但是不能直接测量。为了填补这个缺失环节，可以直接确定相位的反常散射法被开创出来，该方法基于在同步辐射连续光谱中，可以分离出单色光这一关键特性。这种相位解析方法利用选定的几个波长，这些波长范围位于作为反常散射原子的吸收边之内。这个方法真正压倒性的成果称为多波长或单波长反常色散(MAD/SAD)，在蛋白质中良性地引入硒原子替代硫原子，作为蛋白结构直接测定的手段。利用遗传操纵中硒代甲硫氨酸可取代天然甲硫氨酸，由这个极好发明所带来的好处，以及由于硒是一种具有较大反常散射信号的原子，在原子水平上现存的全新结构中大约有 90% 通过这种方法得到了测定。

确定三维结构的一个主要瓶颈是长出有用的晶体。合适晶体的必要性限制了许多激动人心的结构研究。因此，从难以结晶的分子和组装体来生长晶体

的过程中, 最新的重要进展和大量的尝试都为了解除这个困难. 最近发展了一个令人激动的自由电子激光(FEL)的概念, 这为实验结构测定提供了新的机会. 由于这种技术利用极强的相干 X 射线脉冲(比传统的同步辐射光源亮十亿倍), 所以它能够从纳米微晶中提取到精确的高精度衍射数据. 这种光束还可用于许多其他用途, 例如构建快速单张曝光的复杂大分子三维图像, 观察短暂存在的中间态, 伴随着敏感大分子的辐射损伤, 解析局部有条理系统的内部结构, 如完整的巨型病毒.

未来展望: 用结构生物学作为一个工具来理解生命的化学本质, 现在看来将会比以前所期望的前景光明了何止成千上万倍. 巧妙引入同步辐射和晶体学算法的先进技术, 产出了大量生物相关的大分子及其复合物的结构, 并且 X 光源开创的尖端方法

为结构生物学研究开拓了新的道路. 此外, 巨量的光子允许我们对纳米微晶进行结构确定, 以及非结晶分子在真空中爆炸之前, 对其内部组织进行成像显示. 这些成就为更好地理解特别复杂的系统铺平了道路. 其中涉及的周期性极弱或无周期性组织的复杂系统, 如染色体、细胞膜、细胞器等. 这还为后续的生化动态过程的快照提供了研究方法, 例如催化、跨膜运输、信号转导等. 此外, 检测最近结构得到测定的巨型大分子组装体、核糖体、及其与底物类似物形成的复合物, 得到了预想不到的结果. 其中的一个例子是鉴定核糖体普遍存在的、类似口袋的、半对称的内部特征, 占 3%~4%的核糖体 RNA 似乎是一个生命起源前 RNA 结合的装置(被称作原型-核糖体)的残余物. 很明显这个假定的、生命起源前的 RNA 机器似乎在所有当今的核糖体中仍然发挥着功能.

关于引文注释: 由于这篇小综述的性质, 所以没有提供引文. 读者可以参考 Yonath A. Merging disciplines: Chemical bases of life processes are revealed by X-ray crystallography. *Curr Opin Struct Biol*, 2011, 21: 1-5 来得到更详细的信息.

致谢 本文由中国科学院生物物理研究所秦燕研究员和复旦大学张文翻译, 在此深表感谢.



阿达·约纳特是 2009 年诺贝尔化学奖获得者, 以色列魏茨曼科学研究所 Martin S. 和 Helen Kimmel 结构生物学教授. 她出生在耶路撒冷, 在耶路撒冷的希伯来大学学习化学、生物化学和生物物理, 分别获得理学学士学位和硕士学位. 约纳特在魏茨曼科学研究所获得博士学位, 先后在美国匹兹堡的卡内基梅隆大学、宾夕法尼亚大学、麻省理工学院做博士后. 2009 年她与文卡特拉曼·拉马克里希南、托马斯·施泰茨因对“核糖体的结构和功能研究”的贡献而共同分享诺贝尔化学奖. 她还获得了许多其他的荣誉和奖励.