

蛋白质晶体的魅力^{*,1)}

——国际晶体学年漫谈结构(晶体)生物学

苏晓东^{1,2,†} 曹 駿^{1,3}

(1 北京大学生命科学学院 北京 100871)

(2 中国晶体学会 北京 100871)

(3 加州大学洛杉矶分校 化学与生物化学系 美国能源部基因组学与蛋白组学研究所
洛杉矶 CA 90095, 美国)

The charm of protein crystals——Structural biology at a glance in the International Year of Crystallography

SU Xiao-Dong^{1,2,†} CAO Qin^{1,3}

(1 School of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

(2 Chinese Crystallographic Society, Beijing 100871, China)

(3 Department of Energy Institute for Genomics and Proteomics, and Department of Chemistry and Biochemistry, University of California, Los Angeles, CA 90095, USA)

2014-06-29收到

† email: xdsu@pku.edu.cn

DOI: 10.7693/wl20140805

摘要 以应用物理学及数学对称性原理为基础, 晶体学是一门典型的多学科交叉交叉学科。2014年是德国物理学家劳厄(von Laue)因为首次进行X射线穿过矿物晶体得到衍射现象的实验从而荣获1914年诺贝尔物理学奖一百周年纪念, 也是联合国教科文组织将2014年确定为“国际晶体学年”的一年。文章简要地回顾了X射线晶体学发展壮大的百年历史, 重点展望了结构生物学中最为重要的分支——蛋白质晶体学的发展及前景。特别介绍了中国近年来蛋白质晶体学的快速发展及其在世界上的崛起。最后, 以作者所在实验室的一个结构生物学研究课题——Caspase-6的结构与功能研究为例, 较为详细地介绍和阐明了蛋白质晶体学在结构生物学研究中的实验细节、可能遇到的困难及研究思路, 指出了物理学原理及原子水平的动力学性质在进一步阐明蛋白质结构与功能研究中的重要性。

关键词 蛋白质晶体, X射线晶体学, 结构生物学, caspase, 交叉学科

Abstract Crystallography is a typical intellectual endeavor that has spanned human history for centuries. Through the persistent efforts of generations of scientists, crystallography has been transformed from a mathematical hypothesis to actual physical reality, mainly thanks to X-ray diffraction technology. 2014 is celebrated as the International Year of Crystallography (IYCr-2014), to commemorate that about 100 years ago, when Max von Laue in Germany and the father-and-son Braggs(William Henry Bragg and William Lawrence Bragg) in England pioneered the use of X-rays to determine the atomic structure of crystals; for this pioneering work they were awarded Nobel prizes for physics in the years of 1914 and 1915. This article is dedicated to the IYCr to describe the use of protein crystals, an application that has developed into protein crystallography and subsequently structural biology. In our overview of the history and future prospects of this field, we discuss in detail one example of caspase-6, to demonstrate how protein crystallography can help us understand the structure-function relationship of important proteins.

Keywords protein crystals, X-ray crystallography, structural biology, caspase, multidisciplinary

* 国家重点基础研究发展计划(批准号: 2011CB911100)资助项目

1) 本文参阅并小部分节选了中国晶体学会在中国科学技术协会领导下编写的《晶体学学科发展报告》(2012—2013)一书^[1]有关内容。

1 引言

今年是国际晶体学年(International Year of Crystallography: IYCr-2014),我国科学界特别是晶体学界和国际同仁一样,举办各种活动来庆祝和纪念这一特殊的年份。我们也借用《物理》杂志的这块宝地,谈谈晶体学的百年发展史及其对于结构生物学研究的影响及前景。2013年,经过国际晶体学联合会(IUCr)同仁的多年不懈努力,终于得到联合国教科文组织(UNESCO)的正式批准立项,将2014年确定为国际晶体学年。中国的晶体学工作者希望利用这个难得的机会,向社会科学普及晶体学及其相关学科,传播并弘扬晶体学知识及其所蕴涵的深刻的科学思想,指出晶体学进一步发展的美好前景,吸引更多年轻的科学工作者加入到这门虽然经历百年却仍然富有生机和活力的学科中来。

从其理论基础和科学实践方式来看,晶体学应属于应用物理的范畴,也属于凝聚态物理这个大学科。尽管如此,晶体学的发展有其独特的历史及途径。晶体学作为数学和物理科学在矿物学研究中的应用,在欧洲的产生与发展可以溯源于两三百年前,然而,晶体学作为一门独立的学科真正迅猛发展并且对现代科学特别是现代生物学产生广泛而深刻的影响,则是在1895年德国物理学家伦琴发现X射线以后。特别是在1912年以后,首先在德国由劳厄为首的物理学家们发现X射线可以被矿物晶体所衍射,因而不仅揭示了X射线的电磁波本质,而且还更进一步揭示出无机物质原子周期性规则排列出的晶体晶格长度具有与X射线波长相当的尺度;并很快在英国布拉格父子的共同努力下,将X射线衍射方法成功地应用于测定食盐NaCl晶体的原子结构,现代X射线晶体学的百年历史从此拉开了序幕。晶体学由此开创并积极推动了结构化学、固体物理、材料科学(包括金属及半导体材料等)、结构生物学、药物研发等重要现代科学领域的快速发展。2012年,晶体学家们在全世界范围内纪念X射线晶体

学的百年华诞,缅怀并回顾劳厄以及具体做出衍射实验的技术员们(弗里德里希、克里平),纪念理论物理学家埃瓦尔德(Ewald)以及布拉格父子对于开创X射线晶体学所作出的创新性杰出贡献,特别是小布拉格(劳伦斯·布拉格)在建立结构化学以后又高瞻远瞩地大力支持蛋白质晶体学研究并且在开创生物大分子晶体学(蛋白质、核酸及其复合物)方面所作出的巨大无私的贡献。

2 从晶体学到蛋白质晶体学再到结构生物学

图1显示了几种典型物质的晶体外貌图片。从远古时代开始,人类就对于像水晶(图1(c))等具有规则整齐的棱角边界的矿物质产生了浓厚兴趣,特别是像金刚石等较为罕见的矿物晶体(统称为宝石)常常具有特殊的颜色、光泽及折光性质,使得地球上几乎所有人类文明从古代时期就利用这些矿物宝石作为首饰装饰品。X射线晶体学就是首先针对这类地球上普遍存在的矿物晶体,逐一对其进行晶体结构解析,然而,地球上的所有矿物也就是几百种,早期的晶体学家们很快就确定了其中的大部分。后来,X射线晶体学的结构解析工作扩展到有机分子,特别是人类合成出来的千变万化的各种化合物的三维晶体结构,此领域的发展造就出“结构化学”这门重要的基础学科,由于大量的各种各样有机和无机分子晶体结构的解析,才使得人们对于各种原子间的化学键的键长、键角以及二面角等参数有了详细而精确的了解,成为计算化学、分子设计、结构生物学以及药物设计等现代科学的基础。因此,晶体学研究的对象可以粗略分为两类,一是研究自然界天然存在的矿物质和其他有机或者无机小分子的晶体结构,对于此类晶体只要在自然界中寻找发现即可;二是需要人工生长成为晶体的物质,其中大部分为人工合成的有机化合物,它们通常不太容易结晶,结晶意味着其纯度及均匀度都达到很高水平,合成的分子能够长出晶体往往是其分子纯度的标志,因此重结晶过程经常用来作为纯

化有机分子的最后步骤。对于第二类晶体学研究对象，人工生长得到的晶体，常常需要采用特殊的办法来促进其晶体生长，这也包括生物大分子的晶体生长。对于晶体结构不仅仅是需要得到晶体，更主要的是需要生长出适合于X射线衍射的晶体，高分辨衍射的大分子晶体生长经常成为第二类晶体学研究的瓶颈及限速步骤。生物大分子、蛋白质、核酸、脂类、糖类及其复合物常常难于提纯，均质性通常比较差，天然状态不以晶体形式存在，因此属于第二类晶体学研究对象，对于其进行结晶的唯一目的是为了得到它们的三维原子结构，在原子间相互作用的层次上理解生物学过程。

上世纪50年代以来，随着晶体学理论和计算机技术特别是直接法理论和实践方面的突破，使得小分子晶体结构测定和解析工作成为常态，基本能够做到计算机自动解析，未经过专门晶体学训练的普通科学工作者也大都能够顺利解析出晶体结构；上世纪70年代以来，由于同步辐射光源在晶体学特别是蛋白质晶体学研究中的发展和广泛应用，尤其是随着基因工程技术及重组蛋白生产、提纯等方面的创新性和突破性进展，使得生物大分子及其复合物的晶体结构测定及解析工作也已经日臻成熟，一旦得到可衍射大分子晶体，其晶体结构解析工作也已经基本上成为常规技术，大批没有晶体学理论背景的生物学家开始从事结构生物学的研究；跨入本世纪以来，人类的科学技术进入了所谓“后基因组时代”，随着各类基因组及蛋白质组学技术特别是结构基因组学技术的发展和运用，生物大分子晶体学与其他晶体学领域一样，已经发展成为基础理论及计算方法完善、技术及仪器设备完备的学科。常规晶体学的发展趋势及研究方向将主要集中在各个相关领域的广泛应用方面，涉及生物医学及药物研发方面的应用，材料科学、纳米技术及应用化学等方面。另外，除了常规的X射线晶体学外，电子及中子晶体学、新型中子及同步辐射光源、各类新型高效探测器等也将是晶体学研究今后发展的重点及热点，必将进一步推动结构生物学的发展。

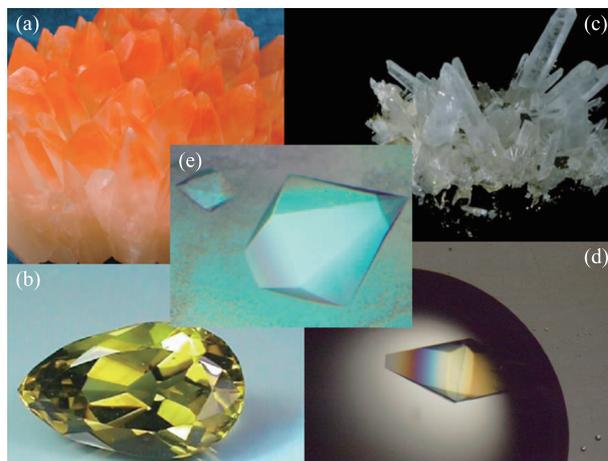


图1 蛋白质晶体与其他晶体及非晶体的比较 (a)和(c)为无机小分子(矿物)的晶体；(b)非晶体物质(玻璃、琉璃类)切割打磨而成的水晶类首饰装饰品；(d)和(e)为典型的蛋白质晶体。它们的共同特征是规则整齐的棱角边界以及特殊的(各向异性)的光学性质，蛋白质晶体与无机矿物晶体相比，最为显著的特征是它们必须一直存放在母液中，否则会立即失水变坏而失去晶态特征



图2 我们实验室近十年来获得的各种各样蛋白质晶体的一些实例：有些蛋白本身带有颜色，有些蛋白质晶体在偏振光照射下显示出特别的光学性质；尽管可以得到很多可以生长成为大单晶的蛋白质晶体，但是它们不一定能够很好衍射；也有些晶体生长得不好(很小或者形状不好)，一般有可能进一步优化。然而，更多的蛋白很难长出任何形式的晶体，这一般是蛋白质晶体学研究的瓶颈

国际上生物大分子及其复合物三维结构测定的结果近二十年来呈指数趋势增长，截止到2014年6月，根据国际权威大分子结构数据库——美国PDB数据库的统计(protein databank, http://www.rcsb.org/pdb/static.do?p=general_information/pdb_statistics/index.html), 各种大分子的三维原子

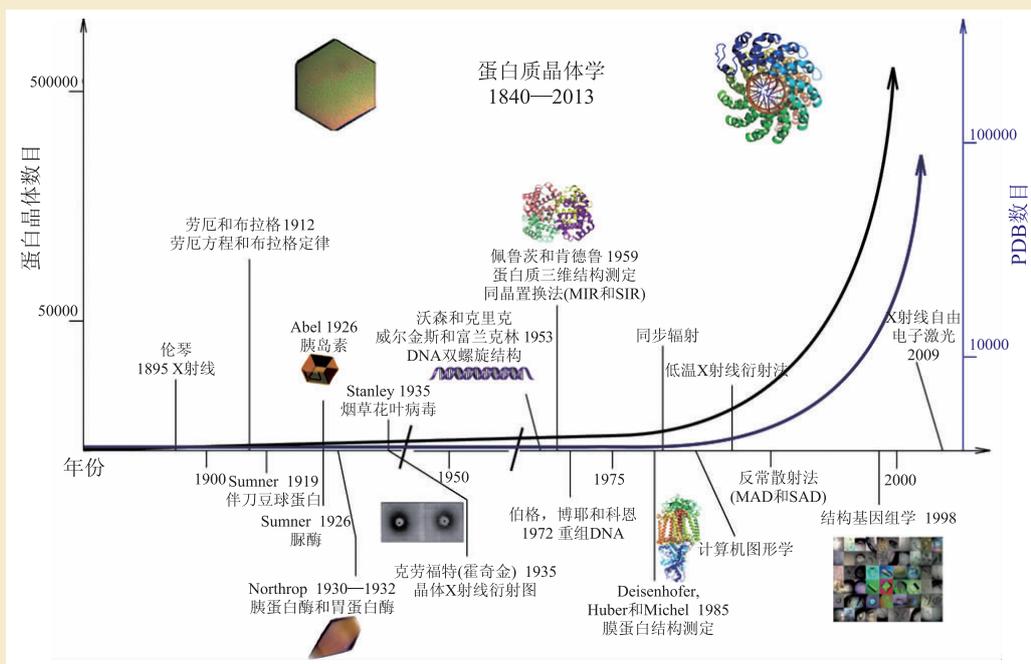
结构已达十万以上(其中由蛋白质晶体学解析的约占90%左右)。从近年来发表的学术论文的趋势看,我国结构生物学领域可谓成果斐然。中国结构生物学家对于PDB数据库的贡献也呈大幅度上升趋势(增幅大大超过国际平均增长幅度),尤其是对于膜蛋白等重要大分子结构更加如此。据不完全统计,2010—2013年间发表在CNS(即*Cell*, *Nature*, *Science*刊物)上的来自中国大陆的结构生物学相关论文约为30篇,大大超过2010年以前中国大陆学者发表在CNS上的结构生物学方面文章的总和,其中清华大学的十多个结构生物学研究组贡献了其中的一半左右;上海各高等学校及研究所的结构生物学研究组近来增长势头强劲,不仅人员与设备大大增加,高水平研究工作及发表在CNS上的文章也增长迅猛。近几年来,中国结构生物学工作者在*Nature*子刊, *Cell*子刊, *PNAS*, *Gen & Dev*, *Cell Research*, *EMBO*系列, PLoS系列等众多著名国际期刊上发表了100多篇高水平学术论文。清华大学、北京大学、中国科学技术大学、南开大学、复旦大学、厦门大学、中国科学院生物物理研究所、中国科学院上海生命科学研究院、中国科学院微生物研究所、北京生命科学研究院(NIBS)等多家单位,都在很大程

度上对中国结构生物学的发展和高水平科学论文的发表作出了很大贡献,近年来引进的青年学者在浙江大学、山东大学、吉林大学、四川大学、武汉大学,特别是在上海的很多大学及研究所,显现出非常好的发展势头。

3 蛋白质晶体学的国际前沿进展及发展趋势

近几年来,国际晶体学领域特别值得一提的激动人心的进展当属世界上第一个硬X射线自由电子激光(X-ray Free Electron Laser, XFEL)装置——美国斯坦福直线加速器中心的“直线加速器相干光源”(Linac Coherent Light Source, LCLS)于2009年建成并投入使用,短短的四年里,LCLS已经给结构生物学和其他结构科学领域带来了翻天覆地的变化,蛋白晶体学及相关技术专家们已经发展出一种能适用于X射线自由电子激光装置上的探测器设备以及能收集亚微米大小的随机取向的微小蛋白质晶体的结构解析技术。2012年,德国电子同步加速器实验室(German Electron Synchrotron Laboratory, DESY)的Henry Chapman和德国汉堡大学(University of Hamburg)

图3 蛋白质晶体学的百年发展历程及其里程碑式的成果及技术发展(图中黑体字部分代表了对于X射线蛋白质晶体学的发展壮大具有关键性重要作用的技术发明及发展,这些技术发明尽管有些还没有被授予诺贝尔奖,但是它们的发明和发展对于蛋白质晶体学能够进展到今天至关重要)



的结构生物学家 Christian Betzel 以及他们的众位同事利用在昆虫细胞内过表达过程中自发得到的微小蛋白晶体^[2]，共同完成了首次利用X射线自由电子激光装置解析一个新蛋白质结构的工作^[3]，该工作于2012年底经 *Science* 杂志在线快速发表(还没有正式登出)后，立即被评选为 *Science* 杂志 2012 年的“十大科学进展”之一。

目前，日本、德国、瑞士以及韩国等国家都在建设自己的X射线自由电子激光设施。日本基于 Spring-8 超级同步辐射装置的 XFEL 装置 SACLA 已经于 2013 年出光，并且很快投入使用，德国及瑞士都计划于近年内建成各自的 XFEL 装置。自由电子激光装置又被称为第四代同步辐射光源，它是利用自由电子作为增益介质产生激光的装置，较长波长的自由电子激光早已得到，然而在硬X射线方面的瓶颈最近几年才得以突破，使 XFEL 装置产生的X射线在亮度方面得到了9个数量级以上的大幅度提升，脉冲时间显著缩短，由于是激光，XFEL 具有很好的相干性。由于 XFEL 具备的上述特点，令其在众多科学领域中有着不可估量的应用前景。XFEL 已经产生了可能给结构生物学研究带来颠覆性的初步结果^[4]。

4 蛋白质晶体学研究生物大分子结构的一个实例

下面结合我们实验室近年来系统研究过的一个结构生物学课题做一些比较深入细致的介绍，使大家对于结构生物学的研究过程有一个感性的认识。

Caspase(cysteiny l aspartate-specific proteinase)

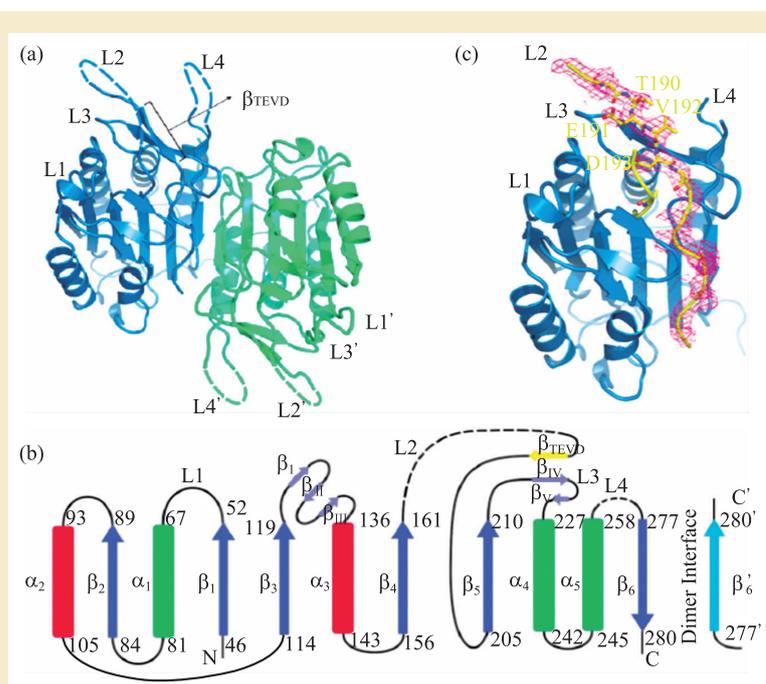


图4 (a)caspase-6的晶体结构简图，结构的主体可见部分由230多个氨基酸的多肽链的主链 α 碳原子连接而成，比较宽的飘带代表的是所谓 α 螺旋和 β 折叠与片层的二级结构示意图，较细的实线代表电子密度很明确的Loop区，虚线代表电子密度不清楚的Loop区域；caspase-6是所谓同源二聚体(homo-dimer)，即由两个序列同源的蛋白单体组成，图中用不同的颜色表示，可见其具有二次轴的对称关系，相应的与功能相关的重要Loop区域L1，L2，L3和L4及对称性相关的L1'，L2'，L3'和L4'也标出，其中标出的 β_{TEVD} 折叠区域位于caspase-6的活性中心，对其进一步结构与功能的说明见正文；(b)caspase-6的晶体结构拓扑细节，标示与(a)图一致，显示从N端(氮端)到C端(碳端)标示出具体氨基酸序列的二级结构，二聚体相互作用区域(dimer interface)也标示出。(c)显示(a)图中的单体结构及 β_{TEVD} 折叠的电子密度图重叠在一起的情形

是一类特异性剪切蛋白序列中天冬氨酸位点的半胱氨酸蛋白酶。由于caspase蛋白家族的许多成员与程序性细胞死亡(又称为细胞凋亡)这一生物学过程密切相关，自其被发现以来便一直是结构生物学家争相研究的对象。早在1996年至2001年间，caspase家族中直接参与执行细胞凋亡的一个被称为执行酶(effector caspase)的亚家族中的两个成员，caspase-3和caspase-7的晶体结构便已经被解析，并且通过对这些结构的系统分析，人们阐明了执行酶催化以及活化的基本分子机制。但自此之后，该亚家族剩余的成员caspase-6的结构却迟迟没有被解析，这可能和caspase-6在细胞凋亡过程中的作用不是十分明确有关。

然而caspase-6在其功能和作用方式上具有其

特殊性。首先人们发现, caspase-3 和 caspase-7 是由上游的 initiator caspase 酶切而活化的, 而 caspase-6 却存在着一种自发活化的机制, 即酶原形式的 caspase-6 在没有其他酶存在的情况下可以自动地发生活化。而更重要的是, 神经生物学家们的研究发现, 在许多患有神经退行性疾病(如阿尔兹海默症(AD)、帕金森氏症(PD)和亨廷顿舞蹈症(HD))的病人中, caspase-6 扮演着非常重要的作用, 以致于许多研究者相信特异性的抑制 caspase-6 的活化或者活性将是治疗相关神经退行性疾病的一种重要手段。基于 caspase-6 的重要性和特殊性, 本实验室于 2006 年起着手开展了 caspase-6 的研究工作, 并于 2010 年发表了世界上第一组 caspase-6 的晶体结构(分别是其酶原状态、活化状态和抑制剂状态的晶体结构, 见图 4), 而在接下来的几年研究中, 我们又陆续解析了 3 种不同状态(全长带有 pro-domain 状态、磷酸化的酶原状态和磷酸化的活化状态)的 caspase-6 的结构。至此, 我们能够得到一个较为完整的 caspase-6 活化与调控网络的原子分辨率水平的结构图谱, 它使我们能在高分辨结构的层次上揭示其分子机制。在国际相关领域的研究中, 我们这些结果处于领先地位。

在这些研究中, X 射线晶体学无疑是我们最得力的研究手段。在解析第一个 caspase-6 晶体结构的过程中, 我们发现 caspase-6 在结构解析中存在额外的困难, 即 caspase-6 虽然可较为容易地筛选到晶体, 但是该晶体在 100 K 左右的低温下收集衍射数据时的防冻能力十分有限, 使其无法承受常规晶体学在收集数据时的液氮低温环境, 因而无法得到高质量的衍射数据。解决这个问题的常规方法是试用筛选多种防冻剂, 即在晶体放入液氮环境前为其浸泡含有防冻效果的试剂。然而花费了大量的时间尝试后, 我们发现绝大多数的防冻剂均无法提高 caspase-6 晶体的防冻能力。因此我们将解决方案转向另一方向, 就是在常温条件下收集衍射数据。这种方法当然可以避免液氮的低温对于晶体的伤害, 但是同时带来的则是晶体对于 X 射线“灼伤”的防护能力大大降低, 即

如果液氮保护的晶体可以在 X 射线下坚持收集一整套 360 度(即晶体在收集过程中沿某固定轴转过一整圈)的数据的话, 往常温状态下的晶体只能收集几十度甚至十几度就被 X 射线“烧死”了。幸运的是, caspase-6 的晶体有以下两个特点可以让我们克服这个困难: 其一是晶体的衍射能力较强, 所以可以在相对较低的 X 射线强度下得到可接受的衍射分辨率(一般来说, 照射的 X 射线强度越大, 其衍射分辨率就越高); 其二也是更关键的, 就是晶体的空间对称性非常高(空间群为 $P6_322$), 这意味着无需收集 360 度或者是 180 度, 而只需要几十度, 就可以依靠其对称性得到完整的数据。最终, 我们成功地通过在室温环境下收集到的衍射数据, 解析了 caspase-6 的首个晶体结构(见图 4)。

通过分析解析出的结构我们发现, 由于有着十分相似的氨基酸序列, 的确 caspase-6 的整体结构与 caspase-3 和 caspase-7 十分相似, 但在整体相似的基础上却有着细节上的差别。而当这种差别出现在一个蛋白酶最为重要的活性位点时, 即使是很小的差别也会导致蛋白功能或者调节方式的不同。具体来说, 通过早先对于 caspase-3 和 caspase-7 的结构分析, 我们知道执行酶都有一个被称为 L2 loop 的环状结构, 而 L2 loop 被切开就会导致活性位点的完全形成, 从而使得蛋白被活化。在 caspase-3 和 caspase-7 中, 这个酶切都是由上游的 initiator caspase 执行的。而在 caspase-6 的结构中, 我们发现 caspase-6 的 L2 loop 环状结构结合在它自己的活性位点之中, 并且是以一种十分类似于底物结合的方式。由于此时虽然活性位点尚未完全形成, 但实际上仍有一定的活性, 所以可以推断 caspase-6 可以通过这种方式自己完成 L2 loop 的酶切, 这就解释了为何 caspase-6 可以发生有别于 caspase-3 和 caspase-7 的自活化。同时通过氨基酸序列的比较, 我们发现, caspase-6 的 L2 loop 长度要长于 caspase-3 和 caspase-7, 因此只有当 caspase-6 有足够长的 L2 loop 时才能完成这种自身酶切的构象, 这就解释了为何只有 caspase-6 才可以发生这种自活化。这个例子也告诉

我们，即使两个蛋白的一级序列和三维结构都很相似，也不代表它们的功能和调控机理就一定相似，因为对于蛋白来说，可能90%甚至90%以上的部分都只是用来“搭建”一个骨架或平台，而执行功能的往往只是结构中非常小的一部分，例如通过几个氨基酸的变化来执行功能。

在揭示了caspase-6的自活化机理之后，下一个需要回答的问题就是这样的自活化是如何被调控的。因为既然caspase-6的活化可以自发进行，而caspase-6的活化又被认为是与神经退行性疾病有关，那么正常人体内必然存在抑制这种自活化的机制。通过阅读文献我们发现，磷酸化可以抑制caspase-6的自活化，于是我们实验室下一步的研究重点就变成了caspase-6的磷酸化抑制机理。

在caspase-6的磷酸化抑制机理的研究中，我们发现，想要深入的分析蛋白功能的分子机理，有时候只得到静态的三维结构是不够的。具体而言，就是当我们解析了模拟磷酸化(用谷氨酸来模拟磷酸化后的丝氨酸)的caspase-6结构以后，我们发现，它与未磷酸化的结构几乎完全一致——不仅是整体结构，甚至是活性位点的细节都几乎一致。研究到此，传统的结构分析遇到了瓶颈，其根本原因是常规的结构生物学研究，无论是X射线晶体学，还是NMR或者电子显微镜，最终得到的都是蛋白质的静态结构，就如同用相机拍摄一张静态照片一样。但如果想要记录一个“事件”的“前因后果”，往往只有静态的照片是不够的。于是传统结构生物学的解决方案是尽可能地多拍一些“照片”，也就是解析不同状态下的蛋白质结构，从而串成一个完整的“故事”。但如果蛋白执行功能中的某些特定构象太过短暂或者由于其他原因难以捕捉，那么就无法完整了解该蛋白执行功能的分子过程。在caspase-6磷酸化机理的研究中，我们就遇到了这样的困难。模拟磷酸化与非磷酸化的caspase-6结构几乎一致，进一步的分析显示，磷酸化抑制caspase-6活化的机理可能是由于磷酸化影响了结合在活性位点中的L2 loop的活动能力，即非磷酸化的caspase-6的

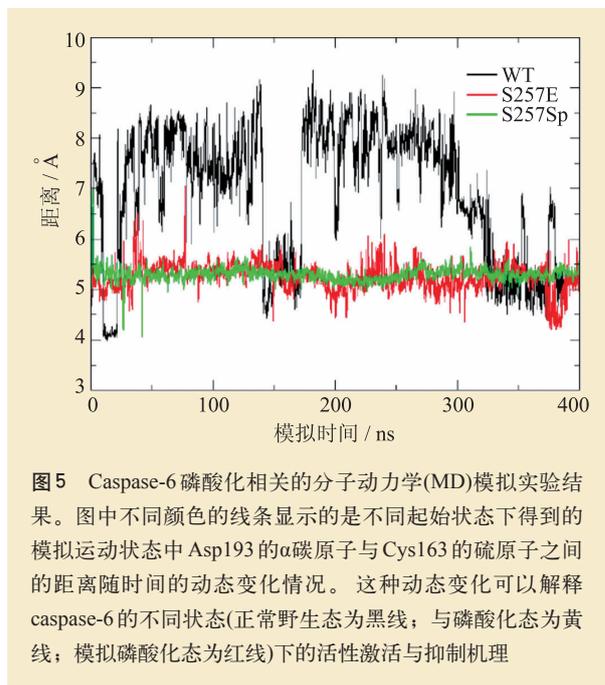


图5 Caspase-6磷酸化相关的分子动力学(MD)模拟实验结果。图中不同颜色的线条显示的是不同起始状态下得到的模拟运动状态中Asp193的 α 碳原子与Cys163的硫原子之间的距离随时间的动态变化情况。这种动态变化可以解释caspase-6的不同状态(正常野生态为黑线;与磷酸化态为黄线;模拟磷酸化态为红线)下的活性激活与抑制机理

L2 loop可以在一个大约 5 \AA ($1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$)的范围内自由活动，而磷酸化则限制了这种活动。正是这种活动能力的不同，决定了caspase-6自活化是否能发生。但是显然通过静态的结构去证明这个假说是非常困难的，于是，在X射线晶体学的基础上，我们又引入了一种被称为分子动态模拟的技术进行研究(见图5)。分子动态模拟的原理是在已知一个起始模型(往往是已解析的静态结构)上，利用牛顿力学和量子力学的基本原理，分析每一个原子的受力情况和由此导致的运动情况，而原子的运动又导致新的结构，由此不断循环，便可以计算出一段时间内指定结构的运动情况。随着应用于分子动态模拟的力学算法不断改进以及计算机计算能力的不断更新，分子动态模拟正越来越成为一种成熟可靠的研究手段。又因其具有可以将静态结构延伸为动态过程的特性，它也成为传统结构生物学研究的一个重要补充。在caspase-6的研究中，分子动态模拟的结果与我们的实验推论得到的假说完全吻合，即在磷酸化条件下，L2 loop非常稳定地结合在活性位点中，并不移动。在非磷酸化条件下，L2 loop虽然也结合在活性位点中，却随着时间的变化小幅地振动，并且只要时间足够，它最终会移动到一个适合酶

切的位置，从而发生自活化。至此，结合X射线晶体学和分子动态模拟，并配合相应的生化实验，我们揭示了caspase-6磷酸化调控的分子机理。

除了以上介绍的两项研究之外，我们在caspase-6的研究中还解析了其他几种不同状态的caspase-6的结构，例如，还发现了caspase-6的pro-domain的功能和调控机理以及磷酸化抑制caspase-6酶活性的机理等，这些都是Caspase领域多年来的遗留未解决问题，我们首次在caspase-6阐明的这些机理很可能对于其他执行酶具

有普遍性。这些研究结果近年来分别发表于众多国际期刊上^[5-7]。由于我们对整个caspase-6研究领域的贡献及前沿性研究结果，特别是caspase-6作为靶标在抗神经退行性疾病药物设计中的重要性，最近国际上久负盛名的综述期刊*Annual Review*系列邀请我们为其*Pharmacology and Toxicology*栏目撰写一篇关于caspase-6与神经退行性疾病的综述^[8]，这是对我们实验室近年来进行的caspase-6研究工作的肯定与鼓励。

致谢 十分感谢中国科学院物理研究所陈小龙在本文写作过程中的大力支持和指导。

参考文献

- [1] 高松、苏晓东、王哲明等. 晶体学学科发展报告. 北京: 中国科学技术出版社, 2014
- [2] Koopmann R, Cupelli K, Redecke L *et al.* *Nat. Methods*, 2012, 9: 259
- [3] Redecke L, Nass K, DePonte D P *et al.* *Science*, 2013, 339: 227
- [4] Helliwell J R. *Science*, 2013, 339: 146

- [5] Wang X J, Cao Q, Liu X *et al.* *EMBO Rep.*, 2010, 11: 841
- [6] Cao Q, Wang X J, Liu C W *et al.* *J. Biol. Chem.*, 2012, 287: 15371
- [7] Cao Q, Wang X J, Li L F *et al.* *Acta Crystallogr. D (Biol. Crystallogr.)*, 2014, 70(Pt 1): 58
- [8] Cao Q, Wang X J, Zhang Y *et al.* *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2014(in press)

读者和编者

订阅《物理》得好礼

——超值回馈《岁月留痕——<物理>四十年集萃》

的关爱和支持，《物理》编辑部特推出优惠订阅活动：向编辑部连续订阅两年(2014—2015年)《物理》杂志的订户，将免费获得《岁月留痕——<物理>四十年集萃》一本(该书收录了从1972年到2012年在《物理》各个栏目发表的四十篇文章，476页精美印刷，定价68元，值得收藏)。

欢迎各位读者订阅《物理》(编辑部直接订阅优惠价180元/年)

订阅方式

(1) 邮局汇款

地址：100190，北京603信箱

《物理》编辑部收

2012年《物理》创刊40周年，为答谢广大读者长期以来

(2) 银行汇款

开户行：农行北京科院南路支行

户名：中国科学院物理研究所

帐号：11250101040005699

(银行汇款请注明“《物理》编辑部”)

咨询电话：(010)82649266；82649277

Email: physics@iphy.ac.cn

