

# X射线自由电子激光晶体学在结构生物学中的应用

何建华<sup>†</sup> 徐春艳

(中国科学院上海应用物理研究所 上海 201204)

2018-05-02收到

<sup>†</sup> email: hejianhua@sinap.ac.cn

DOI: 10.7693/wl20180704

## Application of X-ray free electron laser crystallography in structural biology

HE Jian-Hua<sup>†</sup> XU Chun-Yan

(Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201204, China)

**摘要** X射线晶体学是获得生物大分子三维空间结构最主要的方法。基于X射线自由电子激光的晶体学——串行飞秒晶体学方法的出现,以其独特的优势为结构生物学研究提供了一种全新的研究手段。文章主要介绍了串行飞秒晶体学方法在结构生物学领域的应用及所取得的成果。这些成果表明该方法是在亚纳米空间尺度和飞秒时间尺度、在接近于自然状态下进行生物大分子静态和动态结构研究的强有力手段。

**关键词** X射线, 自由电子激光, 串行晶体学, 时间分辨动态结构

**Abstract** X-ray crystallography is the most powerful method to obtain the structure of biomolecular crystals. The emergence of serial femtosecond crystallography (SFX) using the X-ray free electron laser has provided a brand new tool for the study of structural biology. In this paper, we introduce the application and achievements of SFX in the field of structural biology. These show that the method is indispensable for the study of biological macromolecular dynamics and static structure in the natural state on the sub-nanometer scale and the femtosecond time scale.

**Keywords** X-ray, free electron laser, serial femtosecond crystallography, time-resolved structural dynamics

## 1 串行飞秒晶体学方法的诞生

生物大分子的结构与功能研究是在分子水平上揭示生命现象的基础。一直以来,研究生物大分子精细三维结构的主要方法是X射线晶体学,目前蛋白质数据库中已测定的近14万个结构中约90%是通过此方法获得的,由此可见X射线晶体学在蛋白质结构解析中的重要地位。

当前广泛使用的X射线晶体学方法首先需要获得生物大分子晶体,在合适的条件下生长出一定尺寸和较好质量的晶体。早期利用实验室X光

源进行生物大分子晶体结构测定,通常需要百微米尺度的晶体才能获得较高的分辨率。同步辐射光源的出现,使X光束的强度显著提高,相应开展生物大分子晶体结构研究所需要的典型晶体尺寸缩小到几十微米。第三代高亮度同步辐射光源及其相关光束线站技术的发展,使生物大分子晶体结构测定的效率不断提高,对生物大分子晶体本身的要求不断降低,10 μm甚至几微米尺寸的晶体都可能获得高分辨的结构解析。然而,获得尺寸和质量俱佳的晶体依然是晶体衍射实验方法的瓶颈。因为生物大分子的分子量较大,分子间

的相互作用较弱,很难长成如小分子晶体那样的有序度很高的晶体。此外,利用同步辐射光进行晶体衍射数据采集过程中还存在难以克服的辐射损伤问题,这种损伤可能会打乱分子中的共价键造成蛋白质分子中二硫键的断裂和错位,甚至打乱晶格结构。将晶体用液氮低温冷冻能有效地减少辐射损伤,但却无法完全避免。

被称为“第四代光源”的自由电子激光具有高亮度、全相干性以及飞秒脉冲时间结构的特点,使其在众多科研领域中具有十分重大的应用前景。X射线自由电子激光(XFEL)的这些特性开创了一种新的晶体结构研究手段——串行飞秒晶体学(SFX)。自由电子激光的单脉冲峰值强度约为 $10^{12}$  phs/pulse,如此高的强度,可以利用极小的、从微米到纳米尺寸的生物大分子晶体样品来进行衍射数据采集。这就使得生物学家不必将大量的时间花费在生长晶体样品上,大大提高科研效率。但是伴随着高强度X光,晶体的辐射损伤就是一个极为严重的问题。2000年,瑞典Uppsala大学的Janos Hajdu研究组通过分子动力学模拟的结果(图1)表明,溶菌酶分子在高强度脉冲X射线的作用下,晶体的损伤实际上是有一个过程的,结构可以在2 fs时间内保持不变,甚至在5 fs时间内的结构误差都还是可以忍受的,而超过10 fs后,分子结构才会发生很大的变化。因此,以合适的飞秒量级高强度X光脉冲去照射晶体,就可以在生物大分子被辐射损伤破坏之前得到结构信息,由此提出了损伤前探测“diffraction before destruction”的概念<sup>[1]</sup>。

具有超短脉冲的X射线自由电子激光恰好满

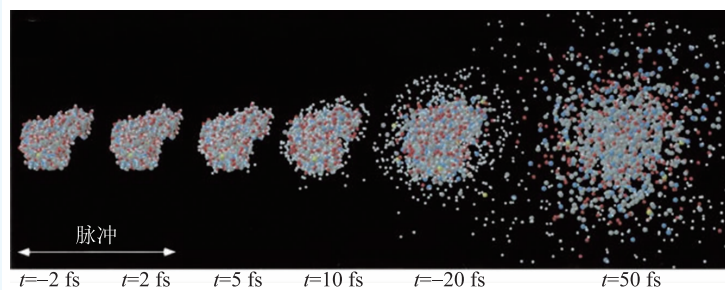


图1 模拟计算的溶菌酶分子在高强度X射线照射下的损伤过程

足了这个苛刻的条件。直到2006年,德国DESY的Henry Chapman领导的研究团队在德国的FLASH软X射线自由电子激光装置上首次验证了这种所谓损伤前衍射的可行性,样品在受到辐射损伤完全离子化并被汽化前可获取有效衍射信号。该研究组于2011年在世界上第一个硬X射线自由电子激光装置——美国斯坦福SLAC国家加速器实验室LCLS(Linac Coherent Light Source)上用大量 $0.2\text{--}2\ \mu\text{m}$ 的膜蛋白光合体系I(photosystem I)微晶颗粒,采集了三百多万张衍射快照(diffraction snapshots),最后整合成一套 $8.5\ \text{\AA}$ 分辨率的单晶衍射数据,经过检验,这套数据符合单晶结构分析的要求<sup>[2]</sup>,这标志着串行飞秒晶体学的正式诞生。

基于XFEL的SFX为利用X射线研究生物大分子的结构提供了许多新的可能,成为超越同步辐射X射线晶体学的一个崭新的结构解析手段:(1)SFX可以用微米甚至纳米尺度的蛋白质晶体来进行结构解析,而同步辐射一般需要约 $10\ \mu\text{m}$ 的单晶体;(2)SFX方法可以在室温下进行衍射实验,而传统的同步辐射蛋白质晶体衍射一般都需要将样品冷冻处理以增加其抗辐照的能力,但同时也增加了样品的镶嵌度。低温将蛋白冷冻在特定的构象下,但是这不一定能代表所有分子结构动态范围,而室温条件更便于操作,也更接近蛋白质的天然的生理环境;(3)SFX能够对生物体内形成的蛋白质微晶进行分析研究,甚至不需要将这些微晶从生物细胞中取出来;(4)利用XFEL超短脉冲的特性,还可以开展时间分辨动力学研究,这对于理解许多重要的大分子复合体及分子机器在不同时间及空间尺度展现出的动态结构是至关重要的,从而逐步实现从静态结构生物学到动态结构生物学的转变。

## 2 串行飞秒晶体学实验装置

利用SFX方法开展蛋白质晶体学研究需要具备硬X射线自由电子激光

光束线、样品输送系统以及专用于XFEL的高频率数据采集的探测器。样品输送可有多种方法，常用的一种喷射方法是将被过滤后的样品置于样品池，通过液体(水)来提供300 psi的压力挤压柱状活塞，再将压力传导至样品池；利用一个几微米大小的喷头，将晶体样品连同缓冲液一起喷射出来。在毛细管外，还有一层共轴的气体，这是为了将喷射出来的蛋白质晶体样品包裹住，使其保持直线流动而不至于散开；晶体被X射线脉冲击中后产生衍射，通过前后两个探测器分别记录衍射数据，装置示意图见图2。

目前世界上仅有几台硬X射线自由电子激光装置。近年来在SFX领域成果产出最多的是美国LCLS的相干X射线成像(coherent X-ray imaging, CXI)线站。该线站能量覆盖范围为5—11 keV，单脉冲光子数可达 $10^{12}$ ，脉冲时长为5—200 fs，重复频率为120 Hz、60 Hz、30 Hz、10 Hz、5 Hz、1 Hz，可根据需要选择；通过一对KB镜可将光斑聚焦为 $0.1\ \mu\text{m}$ 或 $1\ \mu\text{m}$ ；该实验站还配备可调泵浦激光，可以实现多种不同的实验，包括de novo相位解析、时间分辨泵浦实验等<sup>[3]</sup>。此外，在LCLS还建有X射线泵浦实验站(X-ray pump-probe)及大分子飞秒晶体学实验站(macromolecular fs crystallography, MFX)<sup>[4]</sup>。于2012年对外开放的日本SACLA装置，也建有BL2/BL3两条可开展SFX研究的线站，能量范围为4—20 keV，脉冲时长为2—10 fs，重复频率为30 Hz，最高60 Hz，配备30 Hz MPCCD探测器<sup>[5]</sup>。2017年9月1日，目前最为先进的欧洲X射线自由电子激光装置European XFEL正式投入使用，其输出最短激光波长为 $0.05\ \text{nm}$ ，脉冲时长为1—100 fs，重复频率更是高达27 kHz，其中的SPB/SFX能量范围为3—16 keV，单脉冲光子数可达 $10^{12}$ ，实验装置可实现 $0.1\ \mu\text{m}$ 和 $1\ \mu\text{m}$ 聚焦光斑<sup>[6, 7]</sup>。

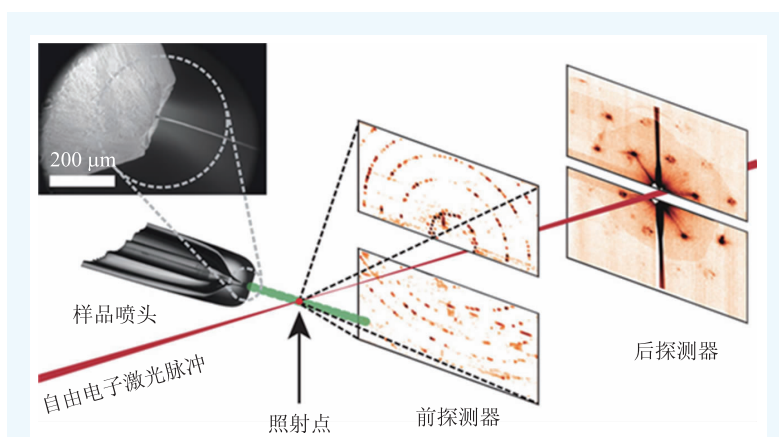


图2 串行晶体学实验装置示意图<sup>[2]</sup>

表1 串行晶体学样品输送装置总结

样品输送装置名称	样品状态	上样速度/(m/s)	脉冲频率/kHz
GDEVN	液体	3—30	180
静电纺丝	液体/聚合物	1—30	180
LCP挤压喷嘴	浆糊状	0—0.1	1
Aero-dynamic lens	气溶胶	5—20	120
Aerosol nozzle	气溶胶	250	1500
Molecular beam	气体	>1000	2700
膜支撑	固体或液体	1	6
胶带支撑	固体或液体	1—10	60

此外，韩国浦项自由电子激光装置PAL—XFEL在2017年6月份也已向用户开放，位于瑞士Villigen的Swiss XFEL装置也将于2018年投入使用。令人可喜的是，上海硬X射线自由电子激光(SCLF)项目也于2018年4月底正式开工建设，与LCLS-II的升级计划相类似，这两个光源未来都要实现1 MHz的高重复频率。

为了能够在高重复频率XFEL上开展有效的串行晶体学和单颗粒成像实验，高效率的样品输送系统是提高实验效率的关键设备之一。常规XFEL装置上的样品输送装置包括：真空环境下对基于硅片制作的样品阵列快速扫描进行数据采集，以及大气环境下传送带式样品输送系统。目前，国际上大于30 Hz的XFEL串行晶体学实验样品输送系统，多采用真空样品环境下微流喷射作为样品输送装置，主要包括气溶颗粒喷射器

(Aerosol Particle Injector)<sup>[8]</sup>、气体聚焦的液体喷射器(Gas-focused dynamic virtual nozzle, GDVN)<sup>[9]</sup>、静电纺丝喷射器(Electron jets)<sup>[10]</sup>和适用于LCP的粘性挤压喷嘴(Extruded viscous nozzle)<sup>[11]</sup>。2015年Chapman将目前可用的SFX样品输送系统的特点总结如表1所示<sup>[12]</sup>。在多个硬X射线装置上,这些样品输送方法在不同的样品上均有成功案例,但仍处于不断的发展与完善中。

相对于同步辐射光源,具有极高亮度、超短脉冲及高重复频率的XFEL对探测器的要求更具挑战性。国际上FEL的发展从低重复频率逐渐向高重复频率发展,目前在投入使用的FEL中,从欧洲的FLASH,日本的SCALA,到美国LCLS装置,重复频率为10—120 Hz。日本SCALA自由电子激光装置在研发阶段开展了基于CMOS CCD和SOI技术的探测器研发项目,目前使用的探测器为基于CMOS CCD技术的MPCCD探测器<sup>[13]</sup>。其主要技术指标包括:有效成像面积为25.6 mm×51.2 mm,像素为512×1024,像素尺寸为50 μm×50 μm,帧频为30 Hz。欧洲和美国为了FEL实验数据采集,启动了多个探测器研发项目。这些探测器又可以称为集成像素阵列探测器(Integrating pixel array detector, PAD),由此研发的相关探测器型号包括CSPAD、LPD、AGIPD、DSSC等。在研发过程中均采用由单模块生产、测试,逐步增加尺寸、电子学读出集成,最后达到实际目标的技术途径。在这些探测器中,多级增益或者可变增益概念得以实现。以目前LCLS的CSPAD为例,其主要技术指标为像素尺寸110 μm×110 μm,有效面积326 cm<sup>2</sup>,帧频120 Hz。而以AGIPD为代表的第二代探测器旨在尽力发掘更高的重复频率、更快的读出速度及更高的动态范围。

### 3 SFX在结构生物学中的应用

2012年Chapman研究组利用LCLS的XFEL获得了尺寸仅为1 μm左右的溶菌酶晶体的室温下1.8 Å分辨率的晶体结构<sup>[14]</sup>,证实了通过基于XFEL的SFX方法解析蛋白质晶体结构的可行

性。随后,短短的几年里科学家们利用该方法在结构生物学领域取得了许多突破性的进展,带领X射线晶体学进入一个即将产生巨变的时代。

#### 3.1 近自然/生理状态下解析微小蛋白质晶体结构

利用高强度的X光脉冲可以在晶体损伤发生之前完成测量,这使得在室温研究晶体结构、并且利用比其他光源所需的晶体尺寸小得多的晶体学实验成为可能。科学家们甚至可以在细胞内进行原位的体内结晶然后衍射,从而获得蛋白的结构信息。布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)是一种单细胞寄生虫,它可导致人患非洲昏睡病(African sleeping sickness)并导致每年大约有3万人死亡,其内部的半胱氨酸蛋白酶B(cysteine protease cathepsin B,简称TbCatB)是一种能够决定布氏锥虫存亡的关键酶,从而成为治疗昏睡病药物研发的靶点。之前,科学家们已经获得了这种酶在成熟的、活化状态下的结构,但是基于这样的结构信息不足以设计一种安全的特异性药物以对抗布氏锥虫。德国科学家在细胞内部表达了这种蛋白,得到了宽约1 μm,长约数微米的蛋白晶体,但是这种晶体太小,同步辐射线站不足以对其进行分析,最终他们利用美国的LCLS得到了TbCatB以前体形式存在时的结构信息(图3),此时该蛋白的活性位点被一个好像安全帽一样的前肽(propeptide)分子给覆盖了。据此,可以帮助科研人员找到或者开发出有效的药物,封闭这种酶的活性,以杀死布氏锥虫<sup>[15]</sup>。该项研究成果被美国*Science*杂志选为2012年度十大重大突破之一。

#### 3.2 重要膜蛋白晶体结构解析

在基因组所编码的蛋白质中,大约30%是膜蛋白,在目前的药物开发中,有近70%的药物靶点为膜蛋白,而蛋白质数据库中却只有不到1%的结构数据来自膜蛋白。这主要是由于在膜蛋白纯化及结晶的过程中常需添加去垢剂或磷脂以维持膜蛋白的稳定并提高其可溶性,但在结晶过程中



理解、掌握、调控生物分子实施功能的过程。当前，第三代同步辐射光源能达到的最好的时间分辨率约为 100 ps；然而，许多关键的结构变化发生的时间尺度要比这个快很多，利用 XFEL 固有的超快时间分辨能力，能够以亚纳米尺度的空间分辨能力研究飞秒时间尺度的超快动力学过程，这是同步辐射光源的时间分辨所不可企

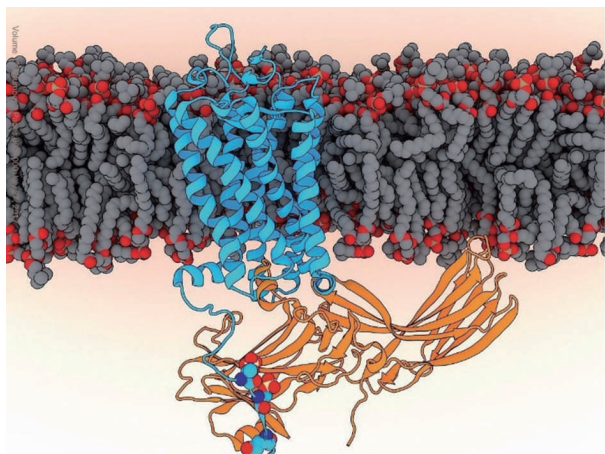


图4 磷酸化视紫红质和阻遏蛋白复合物的高分辨率三维结构。蓝色所示为视紫红质；黄色所示为阻遏蛋白；视紫红质嵌入的灰色部分为细胞膜；靠近阻遏蛋白部分的深蓝色、蓝色和红色的小球为视紫红质的磷酸化氨基酸

及的。

2014年，来自亚利桑那州立大学的 Petra Fromme 教授领导的研究小组，利用 LCLS 自由电子激光装置首次获得了光系统 II (photosystem II) 将水分解为氢和氧时这一分子复合体的动态结构<sup>[22]</sup>。为了观测运作中的光系统 II，研究小组生长了蓝细菌光系统 II 复合体的微纳米晶体。实验流程如图 5 所示，晶体样品流经过频率为 60 Hz 的 527 nm 泵浦激光触发 110 μs 后，启动光驱动的水分解过程；样品先后经过脉冲时间宽度分别为 90 ns 和 150 ns、间隔时间为 210 μs、波长为 527 nm 的两次可见激光脉冲照射，570 μs 后样品到达脉冲频率为 120 Hz、脉冲宽度为 50 fs 的自由电子激光样品点进行衍射数据收集，衍射图谱在暗态和光双闪状态间交替。60 Hz 的激光触发和 120 Hz 的自由电子激光的照射使得水分解过程实现从“暗”的 S1 态到双激发的 S3 态的转换，最终科学家获得了分辨率分别为 5 Å(S1) 和 5.5 Å(S3) 的光系统 II 复合体结构，成功测量到了这一过程中分子的构象变化，但因分辨率还不够高，仍不能获得结构变化的精细信息。PSII 中快速原初光化学反应和缓

慢催化反应时间分别约为 3 ps 和 2 ms，高重复频率的 X 射线自由电子激光可提供高达兆赫兹的脉冲频率，可以显著增加衍射数据，实现更高分辨，捕获反应过程中的精细结构信息，最终了解整个反应的细节，从而为人工模拟光合作用提供强有力的依据。

许多生物体已进化出检测光线并对光线作出反应的机制，这种反应是由光子吸收后光敏蛋白结构发生变化所介导的，初始步骤常常涉及一种与光敏蛋白偶联的发色团发生光异构化。这种光异构化的发生非常快，而且显著受到发色团所处环境的影响。PYP(photoactive yellow protein) 是一种蓝光感受蛋白，在特定细菌的光合作用中起作用，PYP 蛋白捕获蓝光光子之后，会经过一系列中间结构获得光

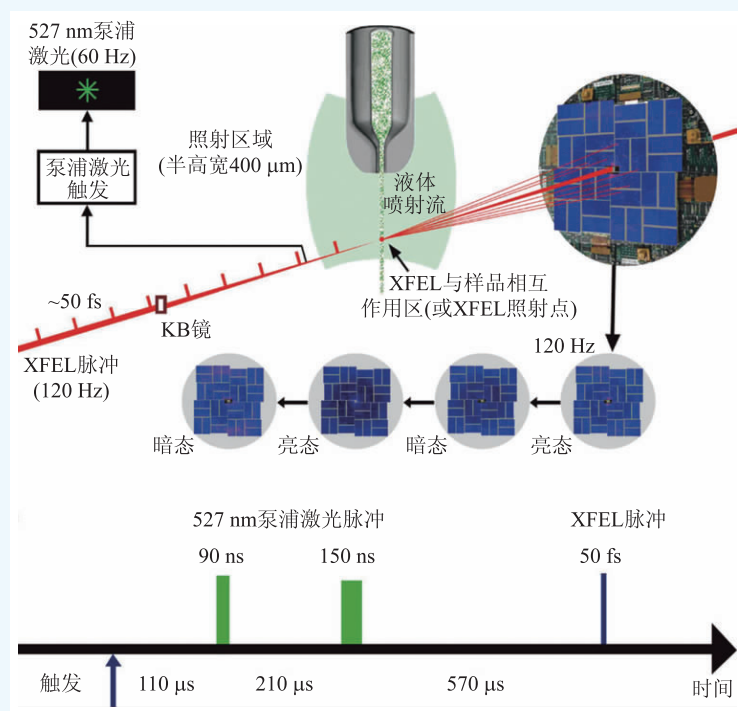


图5 在 LCLS 利用 SFX 研究光系统 II 实验方法示意图

子的能量，然后再回到初始状态。PYP光循环的绝大多数步骤已被科学家们研究过，是验证新方法的理想模型。威斯康星大学Milwaukee分校的研究人员将其作为模式系统，制造了微小的PYP晶体，这些晶体的直径大多小于0.01 mm。他们在LCLS的SFX系统中喷射这些微晶体，并用精确同步的蓝光脉冲启动它们的光循环，利用X射线自由电子激光脉冲拍摄快照，在从100 fs到3 ps的时间范围内对光敏黄蛋白微晶体进行时间分辨串行晶体学研究，实现了光敏黄蛋白(Photoactive yellow protein)在吸收光子后3 ps以内的光致异构化过程的实时观测(图6)，捕捉到了PYP在光循环不同阶段的形态改变，分辨率达到了前所未有的1.6 Å，从而确定这种光异构化反应的结构动态变化，验证了这个新技术的可靠性，同时还揭示了PYP光循环的更多细节<sup>[23]</sup>。这一技术的时间分辨率非常高，能揭示快于1 ps的分子活动，这是以前无法想象的。由此可见，利用具有超高亮度及高重复频率的自由电子激光，时间分辨串行晶体学能够揭示其他方法无法企及的分子动态过程。

2015年，发表在*Science*上的一篇文章报道了通过自由电子激光对CO肌红蛋白配体解离后超快速集体运动的直接观察。血红素蛋白(hemoprotein)和肌红蛋白(myoglobin)是研究蛋白质动力学过程的理想模型系统。利用X射线自由电子激光进行了时间分辨串行晶体学研究，解析了在铁—一氧化碳(Fe—CO)键光解过程中一氧化碳肌红蛋白的超快速结构变化(图7)，在500 fs内结构变化贯穿整个蛋白，C、F和H螺旋远离血红素辅基而E和A螺旋则逐渐靠近<sup>[24]</sup>。

这种泵浦探测技术不仅适应于光合作用，也可应用于催化反应，为了获得最快的酶动力学，光活化的笼蔽底物可以用于触发酶的活性<sup>[25]</sup>。更常见的情况是利用光(例如与光电子遗传学及生物光执行器相结合)操纵生物系统并实时实地触发特定残基<sup>[26]</sup>，这是一个迅速生长的生物学研究领域，也将与利用高重复频率自由电子激光进行动态研究紧密相关。

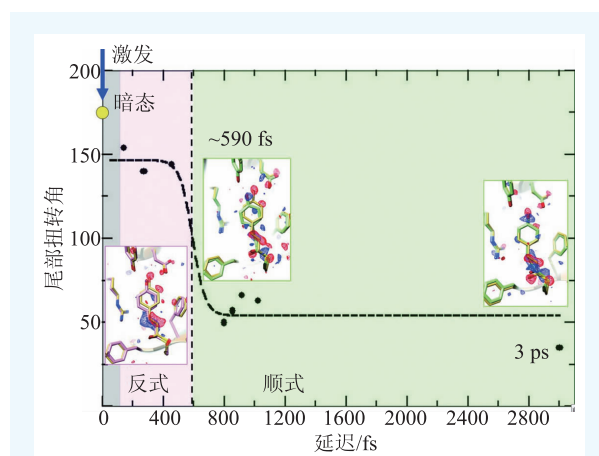


图6 光敏黄蛋白在吸收光子后的100 fs—3 ps 生色团光致异构化过程的实时观测

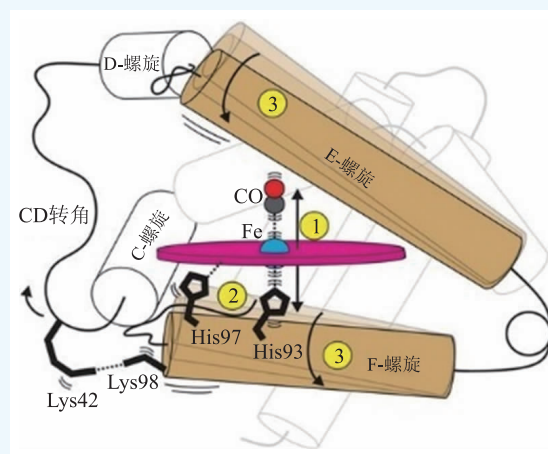


图7 肌红蛋白超快局部模式与较慢的全局运动的耦合

### 3.4 底物驱动的慢反应过程监测

由于底物在晶体内部的扩散速度依赖于晶体的尺寸，SFX结构研究所用的小晶体尺寸有助于实现毫秒级时间分辨率，这在目前只能利用大晶体的时间分辨同步辐射研究中是不可能实现的；此外，利用小晶体的另一优势是诱发的构象变化在整个晶体中的时间和空间上更为一致。通过串行晶体学实验方法，还可以通过混合后注入(mix-and-inject)的样品输送方式对底物触发的慢反应过程进行观测。核糖开关是一种存在于细菌中的特殊开关，一般位于mRNA的3' 端未翻译区域，配体结合于开关的适配体结构域之后可向下游基因翻译平台触发一个信号。美国科学家利用

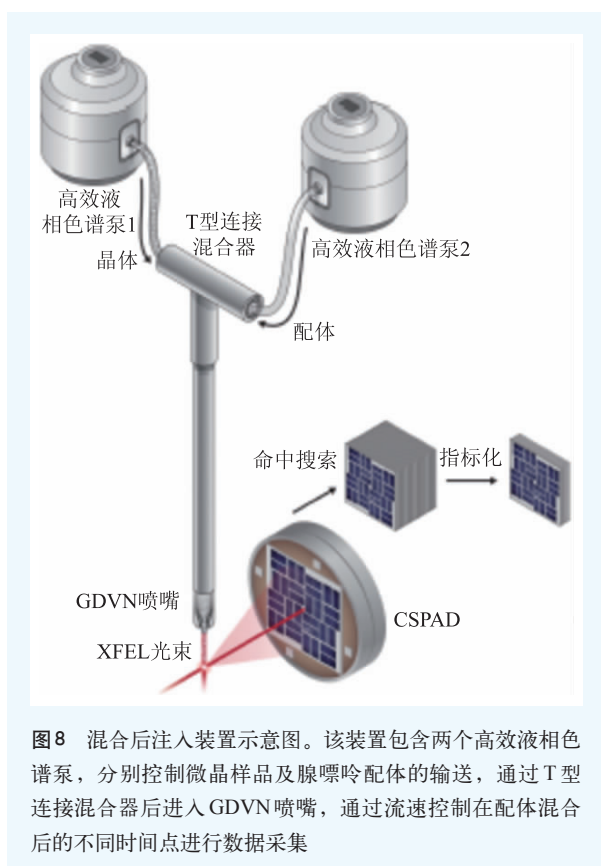


图8 混合后注入装置示意图。该装置包含两个高效液相色谱泵，分别控制微晶样品及腺嘌呤配体的输送，通过T型连接混合器后进入GDEVN喷嘴，通过流速控制在配体混合后的不同时间点进行数据采集

此方法对创伤弧菌的一个核糖开关展开了研究<sup>[27]</sup>，当细菌内的腺嘌呤过多时，腺嘌呤分子进入核糖开关的口袋，使开关变为另一个形态，改变蛋白质和腺嘌呤生产的速度。研究人员把这种核糖开关制成纳米晶体，通过图8所示装置，将其与含有腺嘌呤分子的溶液混合。每一个晶体都很小，腺嘌呤可以快速均匀地渗透进去，进入核糖体开关的口袋。随后研究人员用X射线激光器以特定的

时间进行晶体衍射，最终获得了未结合状态、配体结合中间态及最终配体结合状态的结构；其中核糖开关的未结合配体的空口袋初始状态存在两个稍有不同的构象，只有其中一个参与了开关活性，此外还首次观察到了一个转瞬即逝的中间态结构。

最近，科学家还报道了结核分枝杆菌的内酰胺酶与包头孢曲松钠未结合与结合状态下分辨率分别为2.8 Å和2.4 Å的晶体结构<sup>[28]</sup>。这些开创性的实验结果表明，通过SFX方法可对酶和其他配体驱动的生物过程进行时间分辨动力学研究。

## 4 总结与展望

串行晶体学作为问世不久的新事物，已经在结构生物学领域取得多个突破性成果，实现了多个重要生物分子及蛋白复合物的无损伤室温结构测定以及亚皮秒时间分辨率的分子电影观测。然而作为一项年轻的技术，本身还有一些关键问题需要解决，许多新的应用还有待开发。相信随着高重复频率、新一代XFEL设施及多用途实验站的建设，探测器技术的发展、新的样品传输系统的开发及数据处理方法的进步，基于XFEL的结构生物学研究领域的前景将是无限光明的。上海高重复频率硬X射线自由电子激光装置的建设，将为我国科学家在结构生物学的前沿领域开展研究提供一个全新的平台，开拓结构生物学研究的新领域。

## 参考文献

- [1] Neutze R, Wouts R, van der Spoel D *et al.* Nature, 2000, 406 (6797):752
- [2] Chapman H N, Fromme P, Barty A *et al.* Nature, 2011, 470 (7332):73-U81
- [3] Liang M N, Williams G J, Messerschmidt M *et al.* Journal of Synchrotron Radiation, 2015, 22: 514
- [4] Boutet S, Cohen A, Wakatsuki S. Synchrotron Radiat News, 2016, 29(1):23
- [5] Yabashi M, Tanaka H, Ishikawa T. Journal of Synchrotron Radiation, 2015, 22: 477
- [6] <https://www.xfel.eu>, SPB/SFX Instrument Configuration For Early User Experiments, 2017
- [7] <https://www.xfel.eu>, Technical Design Report: Scientific Instrument Single Particles, Clusters, and Biomolecules (SPB), 2013
- [8] Kirian R A, Awel S, Eckerskorn N *et al.* Struct. Dyn., 2015, 2(4): 041717
- [9] DePonte D P, Weierstall U, Schmidt K *et al.* Journal of Physics D-Applied Physics, 2008, 41(19): 195505
- [10] Sierra R G, Laksmono H, Kern J *et al.* Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography, 2012, 68: 1584



- [11] Weierstall U, James D, Wang C *et al.* Nature Communications, 2014, 5:3309
- [12] Chavas L M, Gumprecht L, Chapman H N. Struct. Dyn., 2015, 2 (4):041709
- [13] Kameshima T, Ono S, Kudo T *et al.* Rev. Sci. Instrum., 2014, 85 (3):033110
- [14] Boutet S, Lomb L, Williams G J *et al.* Science, 2012, 337(6092): 362
- [15] Redecke L, Nass K, DePonte D P *et al.* Science, 2013, 339 (6116):227
- [16] Santos R, Ursu O, Gaulton A *et al.* Nature Reviews Drug Discovery, 2017, 16(1):19
- [17] Liu W, Wacker D, Gati C *et al.* Science, 2013, 342(6165):1521
- [18] Zhang H T, Unal H, Gati C *et al.* Cell, 2015, 161(4):833
- [19] Zhang H T, Han G W, Batyuk A *et al.* Nature, 2017, 544(7650): 327
- [20] Kang Y Y, Zhou X E, Gao X *et al.* Nature, 2015, 523(7562):561
- [21] Zhou X E, He Y Z, de Waal P W *et al.* Cell, 2017, 170(3):457
- [22] Kupitz C, Basu S, Grotjohann I *et al.* Nature, 2014, 513(7517): 261
- [23] Pande K, Hutchison C D M, Groenhof G *et al.* Science, 2016, 352(6286):725
- [24] Barends T R M, Foucar L, Ardevol A *et al.* Science, 2015, 350 (6259):445
- [25] Ellis-Davies G C R, Nature Methods, 2007, 4(8):619
- [26] Gautier A, Gauron C, Volovitch M *et al.* Nature Chemical Biology, 2014, 10(7):533
- [27] Stagno J R, Liu Y, Bhandari Y R *et al.* Nature, 2017, 541(7636): 242
- [28] Kupitz C, Olmos J L, Holl M *et al.* Structural Dynamics, 2017, 4 (4):044003

## 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》

为答谢广大读者长期以来的关爱和支持，《物理》编辑部特推出优惠订阅活动：向编辑部连续订阅2年《物理》杂志，将获赠《岁月留痕—〈物理〉四十年集萃》一本。该书收录了1972年到2012年《物理》发表的40篇文章，476页精美印刷，定价68元，值得收藏。

希望读者们爱上《物理》!

订阅方式(编辑部直接订阅优惠价180元/年)

### (1) 邮局汇款

收款人地址：北京市中关村南三街8号中科院物理所，100190

收款人姓名：《物理》编辑部

### (2) 银行汇款

开户行：农行北京科院南路支行

为答谢广大读者长期以来的关爱和支持，《物理》编辑部

户名：中国科学院物理研究所

帐号：112 501 010 400 056 99

(请注明《物理》编辑部)

咨询电话：010-82649266；82649277

Email: physics@iphy.ac.cn

