

## S-6-03 生物化学过程的单分子探测

赵新生

(北京分子科学国家实验室, 分子动态与稳态结构国家重点实验室, 北京大学化学与分子工程学院化学生物学系, 北京大学生物动态光学成像中心, 北京 100871)

单分子探测作为一种生物物理化学的研究方法可以实时追踪单个分子的运动和变化, 或者分辨复杂体系中分子性质的分布, 在生命科学研究中日益得到重视和应用。十多年前, 我们实验室着手发展自己的单分子探测手段[1], 开展了生物分子在活细胞中的转运[2], 小热休克蛋白的组装与解聚[3], DNA杂交[4], 蛋白质折叠[5,6], 细菌外膜蛋白质生成的质量控制[7], 酶的催化等生物化学过程的单分子探测, 取得一系列有意义的成果。本报告将介绍我们实验室常用的一些单分子探测技术, 然后重点讨论我们最近利用单分子探测技术研究H/ACA RNP假尿嘧啶合酶催化过程动力学机理的工作。

H/ACA RNP可以将很多重要的结构RNA (如rRNA, tRNA) 以及剪接体RNA上的特定位点的尿嘧啶修饰为假尿嘧啶。这一转化非常保守, 有重要的生物学意义。复合体中含有四个蛋白亚基: L7ae, Cbf5, Nop10和Gar1, 以及一个引导RNA。Cbf5是核心的反应亚基, 其中有一段称作拇指环的序列, 在反应中作用关键, 但目前对其功能的了解并不多。此外, Gar1虽然远离反应中心, 却对反应速率影响极大, 关于它发挥作用的分子机制很不清楚。我们的研究表明: RNP复合体与底物的亲和力远大于与产物的亲和力, 即复合体可以识别只在一个碱基上的尿嘧啶与假尿嘧啶的微小差别; 拇指环参与了关键的催化步骤, 拇指环的释放是反应的决速步; Gar1亚基的作用正是加快该决速步的反应速率。我们还表征了拇指环的多时间尺度构象变化: 拇指环结合底物到正确位点的反应时间在分钟量级, 在开、关之间作构象翻转的动态过程为毫秒量级, 在势能极小点附近的摆动在100微秒量级。

## S-6-04 蛋白质相互作用的生物力学技术与方法

龙勉

(中国科学院力学研究所 生物力学与生物工程中心, 北京, 100190)

随着结构生物学、蛋白质组学的迅猛发展, 对蛋白质功能定量化研究的需求日益增加; 而力学、物理、化学、数学等基础学科的介入, 为进一步定量认识蛋白质结构-功能关系提供了新概念、新方法和新技术。分子生物力学着重研究生物大分子的力学-生物学和力学-化学耦合规律, 主要包括生物大分子间特异性相互作用的定量测定, 受体-配体、抗体-抗原结合与解离的反应动力学, 作用力对蛋白质间相互作用的调控, 蛋白质变构和组装的分子动力学模拟等。

锚定于细胞或胞外基质表面的受体-配体相互作用有别于游离于胞外或胞质中可溶性蛋白质间相互作用, 呈现出动态、二维、随机、外力调控等特点, 在炎症反应、血栓形成、肿瘤转移等病理生理过程中起着重要的作用。如何从单个生物大分子或单个蛋白质复合物水平定量认识结构与构象改变、反应速率与亲和性、复合物结合强度, 不仅可以从新的视角阐明蛋白质的结构-功能关系, 而且还可对蛋白质功能调控提供预测。本文介绍了微管吸吮、光镊操控、原子力显微、平行流动等蛋白质功能检测实验技术, 以及力致、剪切分子动力学模拟等蛋白质构象分析方法, 并以选择素、整合素等细胞粘附分子为例, 说明上述技术和方法在阐明炎症反应的分子识别机理中的应用。