

王欢—未来三年工作计划

研究目标

以单分子液相电镜为主要手段研究大分子形貌、动态与反应、功能的关系，探索化学体系中“单”到“多”的非平衡涌现现象。

研究背景

实现对溶液中单分子无标记全构型直接成像，是单分子实验的一个长远目标。区别于小分子，大分子体系由于其本征构象易受扰动，且往往是特定构象决定其特点功能，因而对其在生化反应中的形貌和动态变化进行实时追踪至关重要。譬如，蛋白质折叠的路径选择、蛋白质-蛋白质相互作用或蛋白质与核酸识别结合过程中是“构象选择”还是“构象适应”问题、以及核酸转录过程中的产错和错修机制等。经典的单分子动态成像方法如荧光方法需要标记，虽能捕捉动态，却受限于几十纳米的分辨率。经典的单分子结构解析方法虽无需标记但通常不能捕捉动态，如x射线衍射方法，不能应用于不能被结晶的结构解析；如冷冻电镜方法，能解析不同时间下的瞬时冻存结构却依然不能实时捕捉其演化过程。液相电镜方法时空分辨率兼备，在单分子动态成像上潜力很大，申请人前期工作已开展对高分子单链以及核酸杂化过程和中间态的实时成像，其对于功能蛋白质体系的成像和动态解析尚未实现。

研究内容

- (1) 实时解析蛋白质的溶液态形貌分布和相互转化。拟研究与核酸作用的蛋白体系，包括经典的限制内切酶、DNA结合蛋白以及基因编辑蛋白等，实验将与模拟结果进行比对。此外，探索溶液态蛋白尺寸与单分子液相电镜解析精度的关系。

- (2) 开发低信噪比图像的单粒子追踪程序和蛋白质形貌识别程序，关联晶体数据库里的蛋白质晶体结构与液相电镜解析出的溶液态形貌。
- (3) 实时原位解析蛋白质与核酸相互作用过程中动态和形貌变化，关注活性结合位点，偶发产错机制，为基因编辑蛋白的脱靶，序列特异性等提供直接成像证据；定量生化反应体系传质和能量的转化耗散。

预期成果

探索和推动原位液相电镜技术在软物质和生物体系研究上的应用，为解析大分子化学反应中间态和能量转化提供新方法。此外，将非平衡物理统计方法、活性物质理论应用于分子动态解析。预计发表论文和专利等3-5篇。