



吴皓团队通过冷冻电镜与AlphaFold相结合揭示核孔复合体精细结构

日期: 2022-06-13 浏览次数: 314

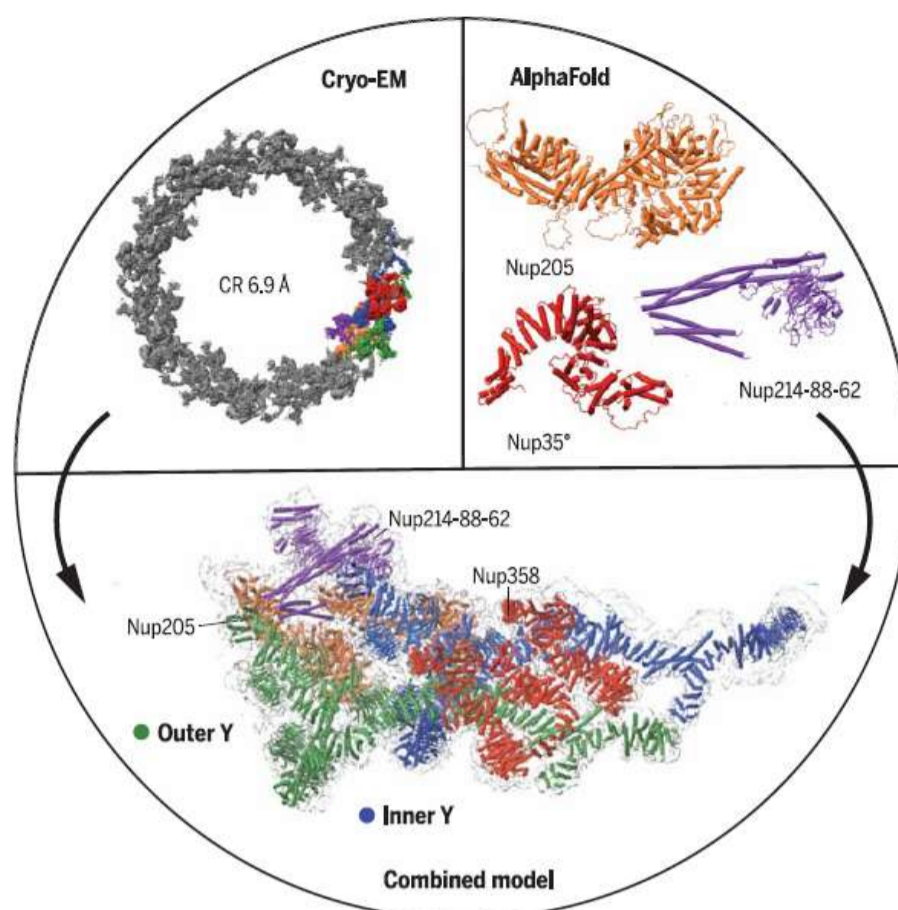
来源: BioArt

核孔复合体 (Nuclear Pore Complex, NPC) 是真核生物中调节核膜内外生物大分子转运的重要分子机器。脊椎动物的NPC大约有110-125兆道尔顿, 直径约120纳米。NPC有四个主要组成部分: 胞质环 (Cytoplasmic Ring, CR), 内环 (Inner Ring, IR), 腔内环 (Luminal Ring, LR) 和核质环 (Nuclear Ring, NR)。每个环大致形成八重对称, 并且由多个核孔蛋白 (Nucleoporins) 的重复单元组成。NPC参与了许多重要的生物学过程。它们的功能异常和许多人类的严重疾病密切相关。虽然近年来有许多关于NPC的研究进展, 但是我们仍然缺乏对于NPC的组成, 动态, 以及复杂性的深层次研究。

6月9日, *Science*发表了核孔复合体结构解析的系列报道, 哈佛大学吴皓教授团队发表冷冻电镜和AlphaFold结合解析的核孔复合体精细结构, 题为: **Structure of cytoplasmic ring of nuclear pore complex by integrative cryo-EM and AlphaFold.**

团队利用非洲爪蟾的卵母细胞中的核膜作为研究材料。非洲爪蟾卵母细胞具有高密度, 大直径的NPC颗粒, 无需去垢剂进行提取和纯化, 可以很方便的对NPC进行原位观察。研究人员通过解剖提取卵母细胞核, 然后把核膜铺展到冷冻电镜载网上, 并进行清洗和冷冻制样。由于每一个NPC在载网上具有相同的方向, 他们再利用倾转不同角度的方法克服颗粒优势取向的问题, 并对NPC进行三维重构。最后团队利用人工智能软件AlphaFold, 辅助预测蛋白结构和搭建模型。

团队重构了胞质环单体的结构, 分辨率为6.9 Å; 其核心区最高分辨率达到6.7 Å。由于很多核孔蛋白仍然没有高分辨结构, 他们借助了AlphaFold对每一个非洲爪蟾的核孔蛋白单独进行结构预测, 然后拟合到冷冻电镜图谱中。对于一些拟合困难的蛋白亚基, 探索出一种高效并且准确的模型搭建方式: 首先, 尝试寻找可能与其具有相互作用的蛋白亚基, 然后用AlphaFold对其复合体进行结构预测。非常有趣的是, 他们发现AlphaFold能够很好的揭示很多蛋白亚基的相互作用, 从而大大简化和方便了搭建模型的过程。团队成功搭建了胞质环的原子模型, 其元件包括内环和外环 Y-复合体 (Y-complexes), 两个重复单元的 Nup205, 两个重复单元的Nup214-Nup88-Nup62复合体, 一个单元的Nup155, 以及五个重复单元的Nup358。作为NPC中最大的核孔蛋白, Nup358结构具有很高的复杂性。其组成包括一个S-型球状结构域 (S-shaped globular domain), 一个卷曲螺旋结构域 (coiled-coil domain), 以及一个很大的含有苯基丙氨酸-甘氨酸重复 (FG repeats) 的无序C-端结构域 (disordered C-terminal)。这一结构域形成一个致密的胶状结构, 组成底物选择性的孔道结构。研究人员成功鉴定出了五个重复单元的Nup358, 它们以钳夹状结构固定住内环和外环Y-复合体的衔接处, 起到了固定胞质环的重要作用。更加值得一提的是, 借助AlphaFold预测, 还发现Nup358的卷曲螺旋结构域, 能够形成并且倾向于形成一个同源五聚体结构, 这一预测结果与五个重复单元的Nup358在数目对应上达成了精妙的一致性。通过体外表达纯化Nup358的卷曲螺旋结构域, 也证明其能够形成五聚体。他们推测Nup358五聚体的形成, 能够在NPC组装起始的过程中能够起到降低阈值, 促进核小体富集的作用, 这也与以往关于Nup358的相关功能报道高度一致。



与以往NPC的结构研究不同的是，吴皓团队探索出一种AlphaFold与冷冻电镜相联合的方法，来对超大蛋白复合物亚纳米水平分辨率的电镜图谱进行更加精确和完整的结构建模。这拓展了我们对NPC复合物亚单元相互作用的认识，以及重要核孔蛋白的深层次生物学意义的理解。这是科学家解析NPC的全结构和功能，认识其组装和调节又迈出的重要一步。

原文链接：<https://doi.org/10.1126/science.abm9326>



微信公众号



官方抖音号



哔哩哔哩号

Copyright (c) 2016-2021 中国生物物理学会 版权所有

地址：北京市朝阳区大屯路15号 (100101)

电话：010-64889894/64887226

传真：010-64889892

E-mail: bscoffice@bsc.org.cn (<mailto:bscoffice@bsc.org.cn>)

京ICP备05002793号-2 (<https://beian.miit.gov.cn>)

学术团体

=== 学术团体 ===

相关组织

中华人民共和国科学技术部