



(<http://www.ibp.cas.cn/>)

(<http://www.ibp.cas.cn/>)

生物成像中心研发成功用于冷冻电镜单颗粒实验的新型支持膜载网——非晶镍钛微阵列支持膜载网

发布时间: 2020年08月10日

2020年8月6日, 生物物理所生物成像中心与生物大分子国家重点实验室孙飞课题组、北京大学尹长城课题组合作在《Progress in Biophysics and Molecular Biology》杂志上发表题为“Amorphous nickel titanium alloy film: A new choice for cryo electron microscopy sample preparation”的研究成果。该项工作开发了一种使用镍钛合金材料制备冷冻电镜单颗粒技术用微阵列支持膜载网技术。

冷冻电镜单颗粒技术是结构生物学研究的重要工具之一。这种技术针对的样品类型是生物大分子溶液样品。相对于X射线晶体学技术, 这项技术对样品要求低, 不需要结晶, 但其样品制备依然存在很多瓶颈问题。理想的冷冻电镜样品要求样品以完整的形态均匀分散且取向随机地分布在支持膜孔内的薄冰层中, 并且要求样品有足够的导电性。然而, 现实中的样品制备经常遇到——样品颗粒主要分布在支持膜上而非孔中, 分布在孔中的样品量少, 样品分布存在取向优势, 样品在气液界面作用下发生变性、样品导电性差导致冷冻电镜成像漂移严重等问题。要解决这些问题, 已有的方法包括铺设连续超薄膜(碳膜、石墨烯膜、氧化石墨烯膜、蛋白二维晶体膜等), 使用亲和膜选择性吸附更多样品到连续超薄膜上, 改变支持膜的制材(如使用纯金支持膜)等。这些方法能改善一种或多种问题, 或使样品均匀分布到支持膜孔中, 或使样品远离气液界面以避免取向优势和样品变性, 或通过增强支持膜的导电性来改善整体样品的导电性等。

在本项成果中, 研究人员开发了利用镍钛合金来制备非晶态的镍钛微阵列支持膜载网(图1)。与纯金支持膜不同, 这种镍钛微阵列支持膜与传统碳微阵列支持膜同为非晶态支持膜, 使用方式一致, 可以直接应用于目前成熟的冷冻电镜样品制备和数据收集流水线。研究人员发现, 相对于传统碳微阵列支持膜, 该非晶镍钛微阵列支持膜具有更好的导电性(高4个数量级), 能有效减少电子束照射引发的样品漂移, 在相同的条件下, 可以获得更高分辨率的冷冻电镜三维重构结果。此外, 非晶镍钛微阵列支持膜与传统碳膜的表面性质不同, 这表现在该非晶镍钛微阵列支持膜与生物分子的非特异性相互作用很小, 比传统碳膜小1个数量级, 这使得生物样品不会因为与支持膜的非特异相互作用而发生变形和聚焦, 因而在非晶镍钛微阵列支持膜孔里的分布密度更高, 分散度更好。另外, 细胞培养实验表明该非晶镍钛微阵列支持膜的生物毒性低, 可以用于细胞生长和原位冷冻电镜研究。这些实验结果表明该非晶镍钛微阵列支持膜载网是一种新的性能优良的冷冻电镜单颗粒实验用载网, 为广大冷冻电镜应用研究人员提供了一种新的选择。

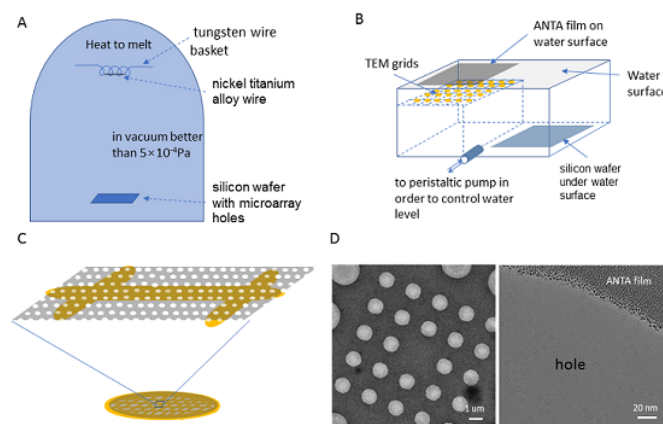


图1. 非晶镍钛微阵列支持膜载网的制备方法和冷冻电镜照片

该项研究成果应主编斯坦福大学Wah Chiu教授和新加坡国立大学Sheemei Lok教授的邀请发表在《Progress in Biophysics and Molecular Biology》杂志上, 作为其专刊CryoEM Developments的一部分。

该项研究成果已申请中国发明专利(申请号201810326897.5), 并于2018年实现了技术授权, 授权给镇江乐华电子科技有限公司进行生产和销售(商品名为“CryoMatrix-非晶合金膜”), 为我国冷冻电镜研究领域提供服务。目前, 已有很多用户利用该支持膜制备冷冻电镜样品并获得成功, 代表性的成果有:

(1) Hua, T. et al. (2020). Activation and Signaling Mechanism Revealed by Cannabinoid Receptor-Gi Complex Structures, Cell. 180, 655-665 e18.

(2) Qiao, A. et al. (2020). Structural basis of Gs and Gi recognition by the human glucagon receptor. Science, 367: 1346-1352.

(3) Wu, C. et al. (2019). High-quality, high-throughput cryo-electron microscopy data collection via beam tilt and astigmatism-free beam-image shift. J. Struct. Biol. 208, 107396.

该项工作的通讯作者为生物大分子国家重点实验室孙飞研究员。蛋白质平台生物成像中心黄小俊正高级工程师与北京大学医学院尹长城课题组张雷博士为本项工作的共同第一作者。孙飞课题组的温作令在冷冻电镜图像处理，姜继忠课题组的陈辉在原子力测定实验，生物成像中心的李硕果和季刚在细胞培养和荧光实验方面参与了项目研究工作。感谢阎锡蕴课题组提供高质量的铁蛋白作为测试样品，物理所丁玮博士在前期数据处理中的帮助。研究工作得到了国家自然科学基金、科技部重点研发项目、中科院关键技术创新人才基金和北京市科委的支持。

文章链接:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079610720300742>
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079610720300742>)

(供稿: 孙飞研究组)



<http://www.cas.cn/>

版权所有: 中国科学院生物物理研究所 119 京ICP备
05002792号 京公网安备 110402500011 号
地址: 北京市朝阳区大屯路15号 邮编: 100101
电话: 010-64889872 电子邮件: webadmin@ibp.ac.cn



(<http://bszs.cas.ac.cn/>)
<http://bszs.cas.ac.cn/>
[method=show&i](http://bszs.cas.ac.cn/)