亮点

cryoSPARC 软件: 生物大分子冷冻电子显微镜 三维重构技术的最新进展

苏晓东*, 高宁

北京大学生命科学院, 北京 100871

* 联系人, E-mail: xdsu@pku.edu.cn

收稿日期: 2017-02-21; 接受日期: 2017-02-24; 网络版发表日期: 2017-03-12

2017 年 2 月 6 日, *Nature Methods* 杂志在线发表了加拿大多伦多大学和约克大学的电子工程与计算机科学系、生物化学系、医学生物物理系等多学科人员联合组成的研究小组开发的应用于冷冻电子显微镜(cryo-electron microscopy, cryo-EM)生物大分子结构解析的软件, cryoSPARC(cryo-EM single-particle ab initio reconstruction and classification), 可以进行由低到高分辨率的快速、自动化的生物大分子结构解析^[1]. 与目前普遍应用的冷冻电子显微镜软件相比, cryoSPARC 有两个独特的算法改进, 一是利用随机梯度下降法(stochastic gradient descent, SGD), 可以快速寻找低分辨率的三维模型, 可以从电子显微镜数据上直接搭建初始模型. 二是引入了分支界限最大似然优化法(branch-and-bound maximum likelihood optimization), 用于改进大分子颗粒的投影角度寻找, 减少冗余计算, 从而节约大量计算资源以及加速了高分辨率的重构步骤. 利用 cryoSPARC 程序, 研究组在普通配置的工作站上对几套已发表的数据进行了测试, 在类似条件下, cryoSPARC 仅用几十分钟或数个小时, 即可完成以前需要数小时到几天的大分子三维重构计算过程. 这一进展将极大地推动冷冻电子显微镜在结构生物学中的广泛应用.

原子分辨率(大于 3.5 埃)的冷冻电子显微镜单颗粒三维重构技术已经毋庸置疑地成为结构生物学发展的热点, 大有取代 X 射线晶体学在大分子结构分析中优势地位的趋势. 这一技术发源于英国剑桥 Medical Research Council(MRC)实验室, 衍生于 X 射线晶体学技术, 先驱为晶体学家 Aaron Klug(1982 年诺贝尔化学奖得主). 一个早期的代表性成果是 MRC 实验室的 Henderson 及 Unwin, 首先利用电子显微镜技术得到了膜蛋白 7 埃的电子晶体结构^[2], 明确指明了利用电子显微镜获得膜蛋白原子分辨率三维结构的可能性. 随着国际上多个不同实验室在生物大分子(包括病毒)的样品制备的快速冷冻技术^[3]及单颗粒三维重构技术^[4]方面的几十年不懈的努力, 美国加州大学洛杉矶分校的周正红实验室于 2008 年率先发表了高对称的病毒颗粒的近原子分辨率结构^[5], 开创了冷冻电子显微镜单颗粒方法解析生物大分子原子分辨率三维结构的先河. 晶体学出身的 Henderson 教授很早就对利用电子显微镜进行生物大分子的结构解析进行了深入系统地探讨及理论推测^[6], 为原子分辨率结构解析工作指明了方向.

近年来, 随着电子显微镜及计算机技术的不断进步, 特别是直接电子探测器的发明使用(快速记录

引用格式: 苏晓东, 高宁. cryoSPARC 软件: 生物大分子冷冻电子显微镜三维重构技术的最新进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 345–346
Su X D, Gao N. cryoSPARC: Recent progress in three-dimensional reconstruction for biological cryo electron microscopy. *Sci Sin Vitae*, 2017, 47: 345–346, doi: 10.1360/N052017-00047

电子显微镜图像的方式及图片质量和信噪比都有了极大的提升)以及以 RELION^[7]为代表的高分辨图像处理算法在软件及硬件方面的改进(友好的用户界面、更好的三维分类算法, 以及 GPU 加速技术), 使得利用冷冻电子显微镜方法解析生物大分子原子分辨率三维结构几乎成为“新常态”, 美国加州大学旧金山分校的程亦凡教授 2013 年发表的 TRPV1 原子分辨率结构被公认为是启动冷冻电子显微镜结构生物学“新浪潮”的标志性工作^[8]。我国近年来在冷冻电子显微镜方向也进入了快速发展阶段, 获得了一系列具有重大国际影响的研究成果^[9]。

冷冻电子显微镜大分子单颗粒图像是单分子记录, 与目前广泛应用的晶体学(需要亿万个大分子样品的有序排列成为晶体)或者 NMR 波谱(需要溶液中巨大量随机分布的分子)技术中的海量分子的物理平均观测具有物理本质上的不同。然而, 冷冻电子显微

镜目前解析生物大分子三维结构的数理原理与晶体学方法是等价的, 可以简化概括为利用计算机对于多个(几千到几十万)单颗粒大分子进行“共同取向的排序(类似于结晶)和平均分析”, 得到这些单颗粒的平均的具有共性的三维结构。如果仅仅如此, 电子显微镜图像中的非常重要的单颗粒个性信息还没有被很好地利用, 这些“个性”信息中包含有大分子的构象变化及结构柔性区等对于理解生物学功能至关重要的信息。高效的三维分类算法正是用来对具有构象或组成异质性的数据进行分析处理, 在三维重构的同时完成不同结构状态的单颗粒的分类。在大分子复合物的静态结构被基本解析以后, 动态信息的提取、解析与理解将成为结构生物学的具有更大挑战性的未来方向, 可以对大量图像进行快速分类处理的 cryoSPARC 及相关软件必将在这个未来方向得到广泛应用和进一步发展。

参考文献

- 1 Punjani A, Rubinstein J L, Fleet D J, et al. cryoSPARC: algorithms for rapid unsupervised cryo-EM structure determination. *Nat Methods*, 2017, 14: 290–296
- 2 Henderson R, Unwin P N. Three-dimensional model of purple membrane obtained by electron microscopy. *Nature*, 1975, 257: 28–32
- 3 Adrian M, Dubochet J, Lepault J, et al. Cryo-electron microscopy of viruses. *Nature*, 1984, 308: 32–36
- 4 Radermacher M, Wagenknecht T, Verschoor A, et al. Three-dimensional reconstruction from a single-exposure, random conical tilt series applied to the 50S ribosomal subunit of *Escherichia coli*. *J Microsc*, 1987, 146: 113–136
- 5 Yu X, Jin L, Zhou Z H. 3.88 Å structure of cytoplasmic polyhedrosis virus by cryo-electron microscopy. *Nature*, 2008, 453: 415–419
- 6 Rosenthal P B, Henderson R. Optimal determination of particle orientation, absolute hand, and contrast loss in single-particle electron cryo-microscopy. *J Mol Biol*, 2003, 333: 721–745
- 7 Scheres S H W. RELION: Implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination. *J Struct Biol*, 2012, 180, 519–530
- 8 Liao M, Cao E, Julius D, et al. Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy. *Nature*, 2013, 504: 107–112
- 9 Wang H W, Lei J, Shi Y. Biological cryo-electron microscopy in China. *Protein Sci*, 2017, 26: 16–31