# 单个病毒的X射线3D成像

(北京大学 王树峰 编译自 Keith A. Nugent. *Physics*, March 2, 2015)

自从1957年确立肌红蛋白的结构以来，研究人员利用X射线晶体学确定了数以万计蛋白、核酸和其他生物分子的结构，并由此展开了分子功能研究。这种方法要求被研究的分子必须可以形成晶体，当X射线通过晶体时会发生衍射，由此可获得结构信息。但是，很多重要的分子无法结晶，因此不能用这种方法来研究。这就是X射线晶体学的“阿喀琉斯之踵”。科学家们正在寻找重建分子结构的新方案：他们希望只需要将单分子注入到自由电子激光(XFEL)的强激光束中即可通过X射线衍射信息重建分子结构。由瑞典Uppsala大学Hajdu领导的研究小组报道了一项关键进展：如果利用随机取向的单个病毒获得大量的衍射图样，那么就有可能重建病毒的三维结构。

XFEL发出的激光强度很高，其亮度比传统的同步辐射加速器发出的光束要亮10个量级。但从单个分子衍射出的信号可能还是不够强，不足以用来重构完整的分子结构。实验上就把多个单分子的衍射图样加以叠合。但有几个关键问题需要解决：首先，X射线脉冲是否够短，能否在分子不可避免地发生爆裂前产生足够的衍射用于重建分子结构？Neutze等人用模型演示了生物分子在强X射线束中的行为，证明脉冲宽度低于5 fs是个必要条件。Chapman等人的原理性实验实现了在纳米结构发生爆炸前完成衍射成像。其次，能否从非晶结构的衍射强度图样中重建出结构？自从15年前Miao等人演示了第一个结果以来，人们逐步认识到相干衍射成像在实践中是可行的。最后，是否可以将成百上千，甚至上百万的分子衍射叠加在一起，克服噪声以及分子的随机取向的影响？Hajdu小组的工作则向我们展示了这一关键问题的解决方法。

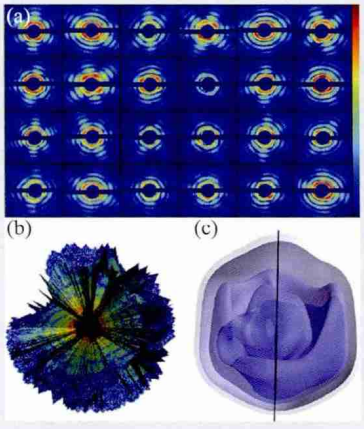



图1 (a) 24幅随机取向单病毒衍射图；(b) 由198幅衍射图叠合的完整衍射图样；(c) 重建的拟菌病毒三维电子密度分布图，分辨率为125 nm

他们用巨拟菌病毒作为研究对象。这种病毒大概有0.5 μm，是人类已知的最大的病毒之一。1992年，人们第一次从一个水塔里的变形虫体内分离出这种病毒。与较小的蛋白分子相比，这么大的病毒个体比较容易注入到X射线里，对于环境也更稳定，衍射的X射线也更多。美国斯坦福线性加速对撞机的Linac相干光源是世界上第一个产生硬X射线的XFEL。研究小组将病毒一个个地注入光束，获得一系列的衍射图样。该小组一共获得了198幅衍射图样，每一幅所对应的病毒都具有不确定的随机取向(见图1)。

为了将这些衍射图样排序组合成可用的三维衍射数据，这个小组分析了由康奈尔大学的Elser和Loh于2009年开发的数学方法。通过迭代优化算法，可以找到每一幅图样对应粒子的相对取向。将这些图样叠加，就可以重构完整的三维衍射图样。然后，通过X射线相干衍射成像的位相复原方法，最终可以得到病毒的三维图像。

Hajdu和合作者们在单分子重建成像方面迈出了关键一步，尽管这个病毒图像仅仅具有125 nm的空间分辨率，但这证明了这一方法在原理上是完备的。现在我们知道如何将独立粒子的数据组合在一起，也知道如何解决相干衍射数据中的位相问题，因此这一方案是可行的。但是，单个生物分子的成像仍然需要克服一些困难。比如必须验证如何可靠地向X射线束注入单分子，既不会破坏也不会改变它的结构。此外，尽管原子核在几个飞秒的时间尺度上不发生运动，但X射线衍射是电子散射，电子的运动比原子核快得多，因此对电子结构的影响也是未知的。最后，单分子实验需要进一步提升空间分辨率，以达到生物学关心的尺度。更多内容详见：Tomas Ekeberg et al. *Phys. Rev. Lett.*, 2015, 114：098102。



?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net