**靶向治疗癫痫有戏了 科学家“看清”疾病关键蛋白**

　　人体细胞内钾、钠、氯的离子浓度失衡，会导致高血压、抑郁、癫痫等一系列疾病。在细胞膜上，有一类被称为阳离子-氯离子共转运蛋白的蛋白质，它们就像是一个个门户，专门负责调控人体细胞内外的离子浓度。

　　长期以来，由于缺乏精确的结构信息，人们对这类膜蛋白的工作机理认识非常有限。日前天津大学生命科学学院青年教师刘斯与合作者首次解析出人源钾-氯共转运蛋白（KCC1）的高分辨结构，提出了钾-氯共转运机理，为癫痫等相关疾病治疗和药物设计提供了新的视角。刘斯以第一作者身份在顶级学术期刊《科学》上发表了相关论文。

　　转运蛋白突变能引发癫痫

　　癫痫俗称“羊角风”或“羊癫风”，是大脑神经元突发性异常放电，导致短暂的大脑功能障碍的一种慢性疾病。癫痫病因复杂多样，包括遗传因素、脑部疾病、全身或系统性疾病等。其中遗传因素是导致癫痫尤其是特发性癫痫的重要原因。分子遗传学研究发现，一部分遗传性癫痫的分子机制为细胞离子通道或相关分子的结构或功能改变。

　　活体细胞不停地进行新陈代谢活动，就必须不断地与周围环境进行物质交换，而细胞膜上的离子通道或转运蛋白等离子运输蛋白就是这种物质交换的重要途径。人们已经知道，大多数对生命具有重要意义的物质都是水溶性的，如各种离子、糖类等，它们需要进入细胞，而生命活动中产生的水溶性废物也要离开细胞，这些过程都需要离子运输蛋白。其中，转运蛋白位于细胞膜上，能够介导水溶性小分子的跨膜运输。

　　“在神经胶质细胞和外周神经系统神经元中，阳离子-氯离子共转运蛋白的作用尤为重要，它们把守着细胞的门户，专门负责调控人体细胞内外的离子浓度，利用细胞膜内外两侧的钾离子浓度梯度将细胞内的钾-氯共转运至细胞外，对于维持细胞的电离平衡，保障生物细胞活性至关重要。”刘斯介绍说，近年来的遗传和生化研究表明，在人类神经系统中，钾氯共转运蛋白突变，会显著影响其向细胞外转运氯离子的活性，进而引发癫痫等疾病。

　　钾-氯共转运蛋白这种重要的生理功能，也使它成为临床上治疗癫痫等疾病的药物靶点。了解KCC1蛋白的精确结构信息，将有助于基于该结构开展药物研发，从而为临床上治疗相关疾病提供精准的数据支持。

　　捕捉“冰冻”蛋白让其结构一目了然

　　要想解析KCC1的蛋白精确结构，就要先“捕捉”到这种蛋白的“样子”。据了解，单颗粒冷冻电镜技术是时下最先进的蛋白结构解析技术，其解析结构的方法是通过用电子显微镜对冷冻固定在玻璃态冰中的生物大分子进行成像，然后用计算机对所摄取的生物大分子图像进行处理和计算，进而重构出生物大分子的三维结构。刘斯解释说，这一技术应用的核心操作就是样品冷冻、冷冻成像和三维重构，简单来说就是要对被观测的蛋白溶液进行“速冻”，然后对冻结在溶液中数以万计的蛋白进行“拍照”，再对海量的平面照片进行大规模运算处理，形成三维立体的密度图。

　　当好“摄影师”对于科研人员来说并不轻松，KCC1的分子量非常小，并且胞内区结构域状态不固定。刘斯等人将表达KCC1蛋白的基因包裹在杆状病毒中，用哺乳动物细胞过量表达。为了得到均一性良好的KCC1，对去垢剂的种类也进行了筛选，最终获取到高纯度的人源KCC1蛋白样品。

　　不仅如此，要想分析出蛋白的三维结构，需要保证被拍摄蛋白能够具有正常蛋白形态。“为了获得最接近生理状态下的KCC1蛋白，我们将蛋白构建到纳米盘（模拟细胞膜的脂双分子层）上。”刘斯说，蛋白溶液样品被滴入事先准备好的“网”中，再将“网”放入液态乙烷中“速冻”。每个网格里都聚集着数百个中空孔，蛋白颗粒就被冻结在其中。

　　最终，刘斯与课题组依托单颗粒冷冻电镜技术，成功解析出3个人源KCC1的原子分辨率结构，发现KCC1是以二聚体的形式存在，并阐释了该转运蛋白以1∶1的比例同时、同向转运钾离子和氯离子的机理，提出了KCC1共转运钾离子和氯离子的模型。此项研究成果对研发以阳离子-氯离子共转运蛋白为靶点的癫痫病治疗药物，具有巨大的现实意义和应用价值。