
生物物理所等在pH敏感探针研究中取得进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/14577.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

囊泡胞吐作用是一个快速的动态过程，通过控制囊泡包裹的活性肽或神经递质向细胞外部释放，从而调节重要的生理功能。目前对囊泡胞吐的检测技术主要包括电生理和光学成像的方法。基于膜片钳的电生理检测技术可以对单个细胞的胞吐事件进行检测，该技术的主要优势是操作的时间分辨率高，可在毫秒尺度上检测单个细胞中囊泡的胞吐事件。然而，电生理检测技术主要用于离体单个细胞或脑片中单个细胞的检测，较难实现多个细胞的同时检测及在体监测。另外，膜片钳技术检测的是单个细胞中多个囊泡胞吐的表观事件，无法对单个囊泡的锚定和融合过程进行观察和检测。而基于光学成像的检测技术可以同时多个细胞中的囊泡胞吐事件进行追踪和记录，该技术还可以对单个囊泡的胞吐事件进行检测，这对于在分子水平揭示囊泡与质膜锚定、融合的调控机理十分重要。在此过程中，荧光蛋白融合标记为显微成像提供了有力工具。与可透膜的荧光染料相比，荧光蛋白成像背景低、信噪比高、生物毒性低、表达量可控，是活细胞成像的首选。

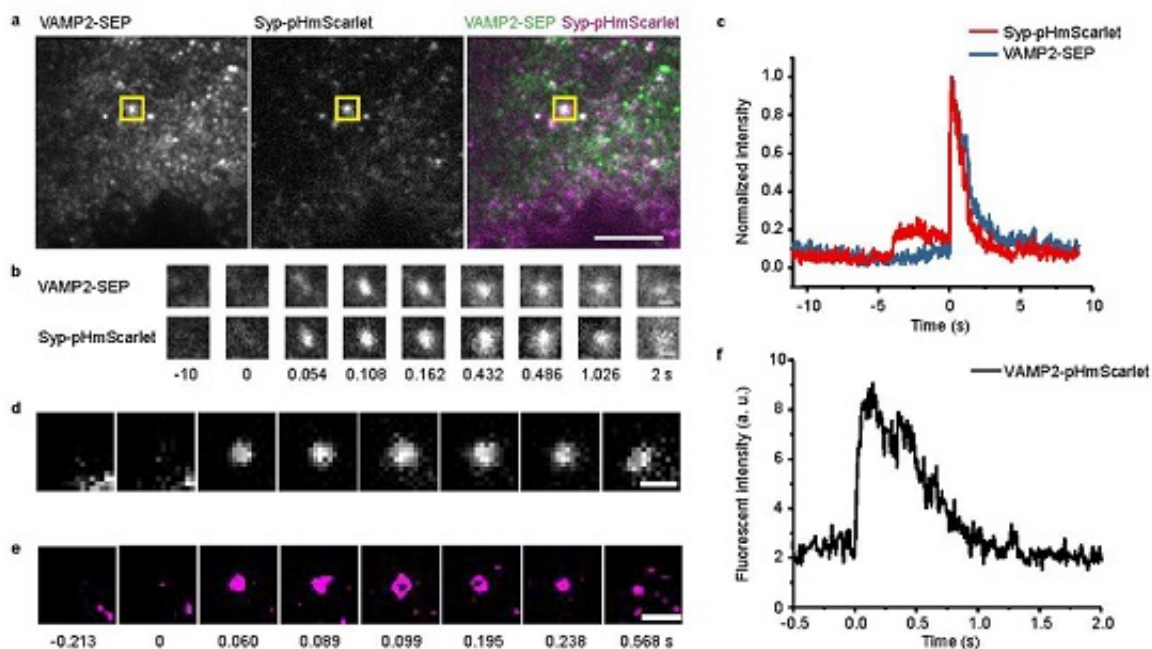
成熟的囊泡腔内为酸性pH环境（pH约为5.6）。囊泡胞吐时，囊泡膜与质膜发生融合，腔内pH瞬间切换为偏碱性的细胞外环境（pH约为7.4）。基于此特性，科学家通过氨基酸突变及筛选，最终获得pH敏感型GFP突变体pHluorin，目前已被广泛用于检测突触囊泡、分泌小泡和再循环内体的胞吐作用。然而，由于发生膜融合前，位于质膜附近囊泡内的pHluorin荧光信号弱，限制了其追踪囊泡锚定步骤的应用。此外，现有的红色pH敏感荧光蛋白探针与pHluorin相比，pH敏感性相差甚远。其中，pHuji的性质相对较好，但该蛋白荧光强度低且具有快速的荧光衰减特性，其荧光强度在<2s的连续照明下即降到初始荧光的35%，不适合囊泡分泌检测和动力学跟踪。

中国科学院生物物理研究所研究员徐平勇课题组在Nature Communications上，发表了题为pHmScarlet is a pH-sensitive red fluorescent protein to monitor exocytosis docking and fusion steps

的研究文章。该研究开发出一个亮度高、稳定性好、pH敏感性强的红色荧光蛋白探针pHmScarlet。该探针在现有红色荧光蛋白中具有最高的pH敏感性，能检测到更多的分泌事件，并且可同时可视化分泌事件中的囊泡锚定和融合步骤。在用于囊泡分泌事件检测时，pHmScarlet具有与绿色pH敏感荧光蛋白pHluorin媲美的分泌信号。此外，pHmScarlet还具有pHluorin不具备的检测能力。pHmScarlet的pKa值使得其在酸性条件下可检测完整囊泡中的荧光强度，实现对囊泡锚定步骤的追踪和记录。该探针还可以与pHluorin结合，对多个囊泡蛋白进行双色成像（如图（a-c））。此外，尽管pHmScarlet的发射波长与pHluorin相比明显红移，但其空间分辨率足够高，可以使用Hessian结构光照明显微镜（Hessian-SIM）进行超高分辨率成像，解析出囊泡融合孔的环形结构（如图（d-f））。可以预测，该pH敏感红色荧光蛋白探针将在囊泡分泌与运输领域有更广泛的应用。

该研究由中科院生物物理所、北京大学、中科院遗传与发育生物学研究所等合作完成。研究工作得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、中科院战略性先导科技专项，以及中科院科研仪器设备研制等的支持。

[论文链接](#)



(a-c) pHmScarlet与pHluorin对不同囊泡膜蛋白进行双色成像；(d-f) 囊泡分泌事件的超高分辨显微成像

研究团队单位：生物物理研究所

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](#)转发