



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 111220679 B

(45) 授权公告日 2022.08.02

(21) 申请号 201811406739.7

G01N 33/68 (2006.01)

(22) 申请日 2018.11.23

审查员 张馨丹

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 111220679 A

(43) 申请公布日 2020.06.02

(73) 专利权人 中国科学院大连化学物理研究所

地址 116023 辽宁省大连市沙河口区中山路457-41号

(72) 发明人 张丽华 赵丽丽 赵群 李潇

杨开广 梁振 张玉奎

(74) 专利代理机构 沈阳科苑专利商标代理有限公司

公司 21002

专利代理师 马驰

(51) Int. Cl.

G01N 27/62 (2021.01)

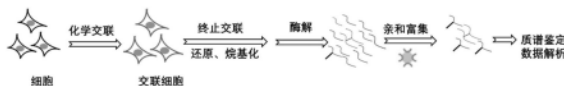
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法

(57) 摘要

本发明涉及一种基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法,该方法首先通过在生物样品保持质膜结构存在下使用不透过质膜的化学交联试剂与质膜蛋白质发生化学交联反应,然后对质膜蛋白质进行还原、烷基化和酶解的样品预处理操作,进一步对肽段样品进行质谱鉴定和数据检索,从而实现基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定。本发明的优点是实验操作简单快速,可以实现质膜蛋白质相互作用的高效捕获,为研究质膜蛋白质的相互作用提供重要的技术支撑。



1. 基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法, 其特征在于: 在保持生物样品质膜结构的前提下进行实验,

使用不透过生物样品质膜的化学交联试剂与生物样品的质膜蛋白质发生化学交联反应;

然后对质膜蛋白质进行还原、烷基化和酶解的样品预处理操作, 得到肽段样品, 进行质谱鉴定和数据检索, 获得基于化学交联策略的质膜蛋白质相互作用信息;

所使用的化学交联试剂, 含有能使其不通过生物样品质膜的特征基团; 所使用的化学交联试剂, 含有两个能与氨基酸残基发生化学反应形成共价键的反应活性基团; 不通过质膜的化学交联试剂的特征基团为磺酸根、铵根、磷酸根、硫鎓离子中的一种或两种以上;

所述化学交联试剂含有或不含有富集基团, 若所述化学交联试剂含有富集基团, 则富集基团包括直接富集基团或由间接富集基团引入直接富集基团;

直接富集基团为生物素、金刚烷中的一种; 间接富集基团为烯基、炔基、叠氮中的一种;

所述交联反应过程为: 用于分散生物样品的溶液为pH范围为6.0到9.0、浓度为 1mM 到 200mM 的羟乙基哌嗪乙硫磺酸缓冲液, 或pH 范围为6.0 到9.0 的 $1 \times$ 磷酸盐缓冲液; 用于溶解化学交联试剂的有机相溶剂为二甲基亚砷、二甲基甲酰胺中的一种, 溶解后化学交联试剂加入交联反应体系中; 发生交联反应的生物样品的浓度为 1 到 1×10^{100} 个/mL; 发生交联反应的化学交联试剂的浓度为 0.001 到 50mM; 发生交联反应时有机相与水相的体积比为 1:1000 到 10:1; 交联反应温度为 0 到 50°C; 交联反应时间为 1min 到 48h; 所述试剂的浓度均为于交联反应体系中的终浓度; 所述交联样品, 经过三(2-羧乙基) 膦酸盐或二硫苏糖醇还原、碘代乙酰胺烷基化及酶解步骤得到肽段样品; 生物样品为含有质膜的细胞;

所得到的肽段, 若为通过不含有富集功能基团的化学交联试剂反应得到, 则应通过强阳离子交换或体积排阻色谱的方式对含有蛋白质相互作用信息的交联肽段进行富集;

所得到的肽段, 若为含有富集功能基团的化学交联试剂反应得到, 则应通过富集反应, 将含有富集功能基团的肽段富集出来。

2. 根据权利要求 1 所述的鉴定方法, 其特征在于: 质膜蛋白质相互作用信息包括质膜蛋白质的空间结构、质膜上蛋白质-蛋白质相互作用关系。

3. 根据权利要求 1 所述的鉴定方法, 其特征在于: 两个能与氨基酸残基发生化学反应形成共价键的反应活性基团, 包括氨基反应活性基团, 巯基反应活性基团, 光反应活性基团中相同的一种或不同的两种; 所述氨基反应活性基团为 N-羟基琥珀酰亚胺酯、亚胺酸酯、碳化二亚胺中的一种或两种以上; 巯基反应活性基团为马来酰亚胺; 光反应活性基团为芳基叠氮、双吡丙啶、二苯甲酮中的一种或者两种以上。

4. 根据权利要求1 所述的鉴定方法, 其特征在于: 所述间接富集基团是通过点击化学反应引入直接富集基团, 然后进行富集反应。

基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法,利用不通过质膜的化学交联试剂与质膜蛋白质发生化学交联反应,然后对质膜蛋白质进行样品预处理,得到肽段样品进行质谱鉴定和数据解析,实现基于化学交联策略的质膜蛋白质复合体的分析,为研究质膜蛋白质的空间结构及质膜蛋白质相互作用网络提供重要的技术支撑。

背景技术

[0002] 质膜是围绕在细胞最外层,由脂质和蛋白质组成的生物膜。质膜蛋白质作为质膜功能的主要体现者,具有信号传导,分子运输,细胞-细胞或细胞-基质间信息传递等重要生物功能(Wei,X;Song,H;Yin,L;Rizzo,M G;Sidhu,R;Covey,D F;Ory,D S;Semenkovich,C F.Nature.2016,539(7628):294-298;Lun,X K;Zanotelli,V R;Wade,J D;Schapiro,D;Tognetti,M;Dobberstein,N;Bodenmiller,B.Nat.Biotechnol.2017,35(2):164-172)。质膜蛋白质与癌症,阿尔兹海默及小儿麻痹症等多种疾病密切相关(Byun,D J;Wolchok,J D;Rosenberg,L M;Girotra,M.Nat.Rev.Endocrinol.2017;Leth-Larsen,R;Lund,R R;Ditzel,H J.Mol.Cell.Proteomics.2010,9(7):1369;Lukiw,W J.Front Physiol.2013,4:24;Madan,V;Sanchez-Martinez,S;Vedovato,N;Rispoli,G;Carrasco,L;Nieva,J L.J.Mol.Biol.2007,374(4):951-);有超过60%的已知药物靶标为质膜蛋白质(Sant,D G;Tupe,S G;Ramana,C V;Deshpande,M V.J.Appl.Microbiol.2016,121(6):1498-1510;Boczek,T;Lisek,M;Ferenc,B;Zylinska,L.Biochem.Biophys.Res.Comm.2015,465(2):312-7;Damaghi,M;Tafreshi,N K;Lloyd,M C;Sprung,R;Estrella,V;Wojtkowiak,J W;Morse,D L;Koomen,J M;Bui,M M;Gatenby,R A;Gillies,R J.Nat.Commun.2015,6:8752)。质膜蛋白质通过相互作用形成复杂的复合物,从而精密、有序地调控细胞膜的生命活动过程。对质膜蛋白质复合物的精细解析,绘制质膜蛋白质构象折叠变化及质膜蛋白质之间的相互作用网络,已成为当前生命科学的研究热点,对于理解复杂的生物膜系统、揭示疾病发生发展机制、筛选疾病相关的生物标志物,以及寻找药物的靶标具有重大意义。然而,由于质膜蛋白质丰度低,且缺乏可被特异反应的基团,因此难以对其相互作用展开全面的分析。

[0003] 传统研究蛋白质结构和相互作用的方法已成功地应用于蛋白质复合物的解析,如酵母双杂交、免疫共沉淀、蛋白质结晶结合X射线衍射以及核磁共振等技术(Smits,A.H.;Vermeulen,M.Trends Biotechnol.2016,34,825-834;Saito,Y.;Nakagawa,T.;Kakihana,A.;Nakamura,Y.;Nabika,T.;Kasai,M.;Takamori,M.;Yamagishi,N.;Kuga,T.;Hatayama,T.;Nakayama,Y.J.Cell.Biochem.2016,117,2109-2117)。然而,以上技术存在诸多局限性:酵母双杂交技术可以鉴定两个蛋白质之间的直接相互作用,但不适用于体内复杂的蛋白质相互作用网络分析,并且存在假阳性率的问题;免疫共沉淀技术虽能鉴定体内相互作用的蛋白质,但不能区分直接和间接的相互作用,并且对于瞬时、微弱的相互作用,难以实

现有效的鉴定;蛋白质结晶结合X射线衍射和核磁共振技术以及冷冻电镜技术能够提供蛋白质复合物的高精度结构信息。然而,这些方法还有一个共同缺点是均无法提供蛋白质相互作用的界面信息,并且分析通量较低。

[0004] 新技术和新方法的发展一直是推动蛋白质功能研究的关键和强大动力。化学交联-质谱技术是利用化学交联剂实现空间距离足够近的蛋白质的共价交联,利用质谱技术进行蛋白质中交联肽段的鉴定,并结合后续的生物信息学处理,实现蛋白质复合物组成和相互作用界面的精细解析(Tran, B. Q.; Goodlett, D. R.; Goo, Y. A. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016, 1864, 123-129.)。与其它蛋白质复合物解析技术相比,它能够同时分析细胞内近1000个相互作用蛋白,具有分析灵敏度高、通量高的优势。同时该技术对于蛋白质样品的准备要求低,在蛋白质复合物的规模化解析方面具有重要的应用潜力,已成为持续增长的新的科研热点(Arlt, C.; Gotze, M.; Ihling, C. H.; Hage, C.; Schafer, M.; Sinz, A. *Anal. Chem.* 2016, 88, 7930-7937.)。对于质膜蛋白质的研究,由于其丰度低,因此,富集和纯化通常是质膜蛋白质研究的第一步。超高速离心法是目前质膜蛋白质富集最为常见的一种方法,通常结合蔗糖密度离心获得更高纯度的质膜蛋白质(Suski, J M; Lebidzinska, M; Wojtala, A; Duszynski, J; Giorgi, C; Pinton, P; Wieckowski, M R. *Nat. Protoc.* 2014, 9 (2) : 312)。然而,由于部分亚细胞器具有相似的浮力密度,因此该方法对质膜蛋白质的富集选择性仍待提高(Damaraju, S; Zhang, N; Li, N; Tao, L; Damaraju, V L; Dufour, J; Santos, C; Sun, X J; Mackey, J; Wishart, D S; Cass, C E; Li, L. *Anal. Biochem.* 2010, 396 (1) : 69),且无法保证质膜蛋白质的相互作用的保持。

[0005] 此专利,我们利用不通过质膜的化学交联剂,在保持质膜结构水平高特异性的与质膜蛋白质发生化学交联反应,然后对质膜蛋白质进行高效的样品预处理,实现基于化学交联策略的质膜蛋白质复合体的分析,为推动质膜蛋白质结构解析、蛋白质-蛋白质相互作用的研究提供重要的技术支撑。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于发展一种基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法,该方法通过对质膜蛋白质进行化学交联反应及样品预处理,提高质膜蛋白质酶解产物所占比例,实现基于化学交联策略的质膜蛋白质相互作用的分析。

[0007] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

[0008] 一种基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法,使用不透过生物样品质膜的化学交联试剂与质膜蛋白质发生化学交联反应,然后利用质膜这一天然屏障,对质膜蛋白质进行还原、烷基化和酶解的样品预处理操作,得到肽段样品,进行质谱鉴定和数据检索,实现基于化学交联策略的质膜蛋白质相互作用的规模化分析。

[0009] (1) 将具有质膜结构的生物样品与不通过质膜的化学交联剂发生化学交联反应,实现质膜蛋白质的交联;进一步将质膜蛋白进行还原、烷基化、酶解处理,得到肽段样品,进行质谱鉴定和数据处理。

[0010] (2) 其中不通过质膜的化学交联剂,含有能使其不通过生物样品质膜的特征基团;含有两个可以与氨基酸残基发生化学反应形成共价键的反应活性基团;含有或不含有富集基团,若所述交联剂含有富集基团,则富集基团包括直接富集基团或由间接富集基团引入

直接富集基团；

[0011] (3) 使交联剂不通过质膜的特征基团包括磺酸根、铵根、磷酸根、硫鎓离子中的一种或两种以上。

[0012] (4) 与氨基酸残基发生化学反应的反应活性基团,包括氨基反应活性基团,巯基反应活性基团,光反应活性基团中相同的一种或不同的两种。

[0013] (5) 氨基反应活性基团为N-羟基琥珀酰亚胺酯、亚胺酸酯、碳化二亚胺;巯基反应活性基团为马来酰亚胺;光反应活性基团为芳基叠氮、双吡丙啶、二苯甲酮。

[0014] (6) 富集基团,包括直接富集基团:生物素、金刚烷中的一种;间接富集基团:烯基、炔基、叠氮中的一种,通过点击化学反应引入生物素或金刚烷,再进行富集反应。

[0015] (7) 用于鉴定的质膜蛋白质复合物的来源为:具有完整质膜结构的细胞或微生物中的一种或二种以上。

[0016] (8) 交联反应的特征在于:用于分散细胞或微生物的溶液为浓度为1mM到200mM的羟乙基哌嗪乙硫磺酸缓冲液,pH范围为6.0到9.0或1×磷酸盐缓冲液,pH范围为6.0到9.0中的一种;用于溶解交联剂的有机溶剂为二甲基亚砷、二甲基甲酰胺中的一种;发生交联反应的生物样品的浓度为1到 1×10^{100} 单位/mL;发生交联反应的交联剂的浓度为0.001到50mM;发生交联反应时有机相与水相的体积比为1:1000到10:1;交联反应温度为0到50℃;交联反应时间为1min到48h。

[0017] (9) 将交联的质膜蛋白,通过还原、烷基化、酶解处理得到肽段样品。

[0018] (10) 得到的肽段样品,若为通过不含有富集功能基团的交联剂反应得到,通过强阳离子交换、体积排阻色谱的方式对含有蛋白质相互作用信息的交联肽段进行富集;若为含有富集功能基团的交联剂反应得到,则通过亲和反应,将含有富集功能基团的肽段富集出来。

[0019] (11) 将得到的肽段样品进行液相色谱联用质谱分析,然后对得到的质谱数据进行数据检索和分析整理,得到质膜蛋白质复合物的相互作用信息。

[0020] (12) 本发明利用不通过质膜的化学交联试剂高效的与质膜蛋白质发生化学交联反应,然后对质膜蛋白质进行高效的样品预处理,得到肽段样品进行质谱鉴定和数据解析,实现基于化学交联策略的质膜蛋白质复合体的分析,为研究质膜蛋白质的空间结构及质膜蛋白质相互作用网络提供重要的技术支撑。

[0021] 所述的基于化学交联质谱解析的质膜蛋白质相互作用的鉴定方法,应用于将得到的肽段样品进行液相色谱联用质谱分析,然后进行数据检索,实现基于化学交联策略的质膜蛋白质复合体的分析,研究质膜蛋白质的空间结构、构建质膜蛋白质相互作用网络。

[0022] 本发明具有如下优点:

[0023] 1. 在保持生物样品质膜结构的前提下进行实验,可以得到更真实的质膜蛋白质结构及相互作用信息。

[0024] 2. 实验操作步骤简单,耗时短,通量高,可以实现对质膜蛋白质相互作用的鉴定。

[0025] 3. 使用的化学交联剂不通过质膜,可以实现与质膜蛋白质的高效反应。

[0026] 4. 在保持质膜完整的前提下进行样品预处理操作,实现对质膜蛋白质的高效处理,得到高比例的质膜蛋白质相互作用肽段样品,实现质膜蛋白质相互作用的高效鉴定。

附图说明

[0027] 图1为对海拉细胞质膜蛋白质进行相互作用信息鉴定的实验流程图

[0028] 图2为使用赖氨酸特异性可富集型不透膜交联剂对海拉细胞质膜蛋白质相互作用肽段鉴定分类统计图

具体实施方式

[0029] 实施例1

[0030] 对海拉细胞质膜蛋白质进行相互作用信息鉴定

[0031] 实验流程如图1所示:

[0032] (1) 细胞的获取:将培养皿中的海拉细胞使用胰蛋白酶在37℃消化2min后,用4℃预冷的1×磷酸盐缓冲液洗3次,离心3000rpm,5min,4℃。

[0033] (2) 化学交联反应:将所得细胞计数,1×10⁷细胞加入1mL 1×磷酸盐缓冲液(pH8.0)+1%赖氨酸特异性可富集型不透膜交联剂(使用二甲基亚砷溶解),交联剂初始浓度为10mM,有机相(二甲基亚砷):水相=1:99,室温,反应1h。离心3000rpm,5min,4℃,去掉上清液。

[0034] (3) 还原、烷基化:加入相同体积的终浓度为50mM的碳酸氢铵终止交联,同时其中含有50mM三(2-羧乙基)膦盐酸盐,将细胞打散后,再加入终浓度为10mM的碘代乙酰胺,室温避光反应30min。离心3000rpm,5min,4℃,去掉上清液。

[0035] (4) 酶解:加入相同体积的固定化胰蛋白酶,室温酶解30min。

[0036] (5) 获得肽段样品:离心40000g,30min,4℃。取上清,即为肽段样品。

[0037] (6) 使用链霉亲和素琼脂糖球对上述样品进行亲和富集。

[0038] (7) 将富集得到的样品进行质谱鉴定,使用Orbitrap Fusion Lumos质谱仪,HCD的质谱采集模式。

[0039] (8) 将得到的质谱数据使用pLink2软件进行检索,数据库为2016年7月27日在Uniprot上下载,共鉴定到100对cross-link型交联肽段,经进一步分析,其中81对为质膜蛋白质的相互作用肽段,占总交联肽比例的81%。具体结果如图2所示:

[0040] 图2为使用赖氨酸特异性可富集型不透膜交联剂对海拉细胞质膜蛋白质相互作用肽段鉴定分类统计图。

[0041] 上述数据结果表明,通过使用赖氨酸特异性可富集型不透膜交联剂作为化学交联剂对海拉细胞进行化学交联反应,共鉴定到100对相互作用肽段,其中81%为质膜蛋白质相互作用肽段,实现了对人源海拉细胞质膜蛋白质相互作用信息的高效规模化鉴定。

[0042] 实施例2

[0043] 对Jurkat细胞质膜蛋白质进行相互作用信息鉴定

[0044] (1) 细胞的获取:将培养的Jurkat细胞用4℃预冷的1×磷酸盐缓冲液洗3次,离心3000rpm,5min,4℃。

[0045] (2) 化学交联反应:将所得细胞计数,1×10⁸细胞加入1mL 1×磷酸盐缓冲液(pH7.4)+1%赖氨酸特异性不透膜交联剂(使用二甲基亚砷溶解),交联剂初始浓度为20mM,有机相(二甲基亚砷):水相体积比=1:99,室温,反应1h。3000rpm离心,5min,4℃,去掉上清液。

[0046] (3) 还原、烷基化:加入相同体积的终浓度为100mM的碳酸氢铵终止交联,同时其中含有25mM三(2-羧乙基)膦酸盐,将细胞打散后,再加入终浓度为20mM碘代乙酰胺,室温避光反应30min。离心3000rpm,5min,4℃,去掉上清液。

[0047] (4) 酶解:加入相同体积的1mg/mL的蛋白酶K,37℃酶解1h。

[0048] (5) 获得肽段样品:40000g离心,30min,4℃。取上清,即为肽段样品。

[0049] (6) 将上述得到的肽段样品进行质谱鉴定,使用Orbitrap Fusion Lumos质谱仪,HCD的质谱采集模式。

[0050] (7) 将得到的质谱数据使用pLink2软件进行检索,数据库为2016年7月27日在Uniprot上下载,共鉴定到152对cross-link型交联肽段,经进一步分析,其中132对为质膜蛋白质的相互作用肽段,占总交联肽比例的86.8%。

[0051] 上述数据结果表明,通过使用赖氨酸特异性不透膜交联剂作为化学交联剂对Jurkat细胞进行化学交联反应,共鉴定到152对相互作用肽段,其中86.8%为质膜蛋白质相互作用肽段,实现了对人源细胞Jurkat细胞质膜蛋白质相互作用信息的高效规模化鉴定。

[0052] 实施例3

[0053] 对大肠杆菌质膜蛋白质进行相互作用信息鉴定

[0054] (1) 大肠杆菌的获取:将40mL大肠杆菌菌液,离心4000rpm,4℃,6min。使用30mL 1*PBS洗两次,离心4000rpm,4℃,6min。

[0055] (2) 化学交联反应:将所得大肠杆菌计数, 1×10^8 加入1mL 1×磷酸盐缓冲液(pH7.8)+1%赖氨酸特异性不透膜交联剂(使用二甲基亚砷溶解),交联剂初始浓度为20mM,有机相(二甲基亚砷):水相=1:99,室温,反应2h。3000rpm离心,5min,4℃,去掉上清液。

[0056] (3) 还原、烷基化:加入相同体积的终浓度为100mM的碳酸氢铵终止交联,同时其中含有25mM的三(2-羧乙基)膦酸盐,将细胞打散后,再加入终浓度为20mM的碘代乙酰胺,避光室温反应30min。3000rpm离心,5min,4℃,去掉上清液。

[0057] (4) 酶解:加入相同体积的1mg/mL的蛋白酶K,37℃酶解30min。

[0058] (5) 获得肽段样品:40000g离心,30min,4℃。取上清,即为肽段样品。

[0059] (6) 将上述得到的肽段样品进行质谱鉴定,使用Orbitrap Fusion Lumos质谱仪,HCD的质谱采集模式。

[0060] (7) 将得到的质谱数据使用pLink2软件进行检索,数据库为2016年11月17日在Uniprot上下载,共鉴定到93对cross-link型交联肽段,经进一步分析,其中72对为质膜蛋白质的相互作用肽段,占总交联肽比例的77.4%。

[0061] 上述数据结果表明,通过使用赖氨酸特异性不透膜交联剂作为化学交联剂对大肠杆菌进行化学交联反应,共鉴定到93对相互作用肽段,其中77.4%为质膜蛋白质相互作用肽段,实现了对大肠杆菌质膜蛋白质相互作用信息的高效规模化鉴定。

[0062] 实施例4

[0063] 对囊膜病毒质膜蛋白质进行相互作用信息鉴定

[0064] (1) 病毒的获取:将病毒灭活,用4℃预冷的1×磷酸盐缓冲液洗3次,3000rpm离心,5min,4℃。

[0065] (2) 化学交联反应:将所得病毒计数, 1×10^7 细胞加入1mL 1×磷酸盐缓冲液(pH8.0)+1%赖氨酸特异性可富集型不透膜交联剂(使用二甲基亚砷溶解),交联剂初始浓

度为10mM,有机相(二甲基亚砷):水相=1:99,室温,反应1h。3000rpm离心,5min,4℃,去掉上清液。

[0066] (3) 还原、烷基化:加入相同体积的终浓度为50mM的碳酸氢铵终止交联,同时其中含有100mM三(2-羧乙基)膦盐酸盐,将病毒打散后,再加入终浓度为5mM碘代乙酰胺,避光室温反应1h。3000rpm离心,5min,4℃,去掉上清液。

[0067] (4) 酶解:加入相同体积的固定化胰蛋白酶,室温酶解20min。

[0068] (5) 获得肽段样品:40000g离心,30min,4℃。取上清,即为肽段样品。

[0069] (6) 使用链霉亲和素琼脂糖球对上述样品进行亲和富集。

[0070] (7) 将上述富集得到的样品进行质谱鉴定,使用Orbitrap Fusion Lumos质谱仪,HCD的质谱采集模式。

[0071] (8) 将得到的质谱数据使用pLink2软件进行检索,共鉴定到58对cross-link型交联肽段,经进一步分析,其中40对为质膜蛋白质的相互作用肽段,占总交联肽比例的69.0%。

[0072] 上述数据结果表明,通过使用赖氨酸特异性可富集型不透膜交联剂作为化学交联剂对囊膜病毒进行化学交联反应,共鉴定到58对相互作用肽段,其中69.0%为质膜蛋白质相互作用肽段,实现了对囊膜病毒质膜蛋白质相互作用信息的高效规模化鉴定。

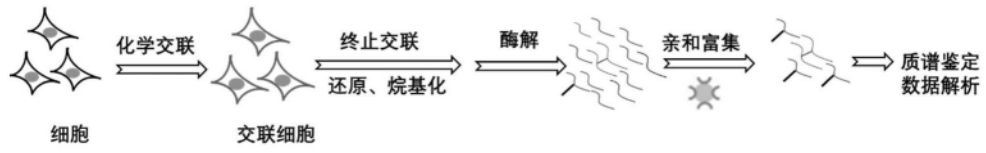


图1

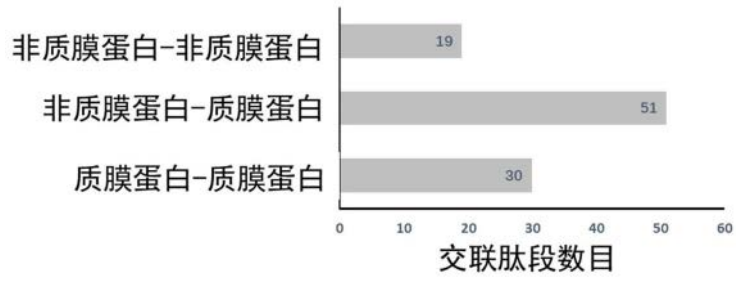


图2