

# 简介

回顾历史：

- DNA的X-光衍射 => 螺旋的衍射理论 => Fourier Bessel analysis。
- EM（按时间）：
  - 第一个解出的螺旋结构：helical tail of bacteriophage T4；
    - 发展出的其他高对称的结构（正二十面体病毒）；
  - cryo-EM中第一个近原子分辨率结构：2D crystals of bacteriorhodopsin；
  - flagellar filament and the tubular nicotinic acetylcholine receptor。
- 随后SPA主要朝着非对称的方向发展，因为许多分子没有对称性（本身也是cryo-EM的优势，不需要观察的结构有高度对称性）。
- 到今天，SPA技术已经redefine了结构生物学，因此从今天的SPA技术出发重新做螺旋重构有许多软件，但是重大挑战仍然是决定初始的螺旋对称。

本文：综述当前SPA技术中螺旋重构的进展。

## 螺旋对称的数学模型

主要是螺旋对称参数，见图1A：

- helical rise  $z$ ；
- helical twist  $\varphi$ ；
- pitch  $P$ ；
- number of units per turn  $N = \frac{2\pi}{\varphi} = \frac{P}{z}$ ；

## 螺旋对称的决定

算法流程，图2。

## Fourier方法

### Layer lines

- 螺旋投影的Fourier谱的特征，图3A-C；
- 近端和远端的信号分别贡献两部分layer lines，图3D-G；
- 每一级layer line  $\Leftrightarrow \nu$ 级Bessel函数  $\Leftrightarrow$  柱面上波动 $\nu$ 次的柱面波， $\nu$ 在这里必然为整数；
- layer line距离子午线的垂直距离可以用来区分layer line的编号，例如第 $l$ 级距离第 $l$ 近，图4；
- layer line彼此相距的垂直距离为helical repeat distance  $c$ 的倒数（？？？这里repeat distance不是pitch，似乎也不是rise）；
- layer line本身的信号和Bessel函数的强度有关，所以呈现一段一段的条纹型。

## 算法

使用Fourier方法估计螺旋对称的大体流程是计算功率谱，标记layer lines，再测算各种参数。

- 功率谱：
  - 裁切出螺旋的一段，在螺旋周围padding均值密度；
  - 有时需要做padding到3倍imagesize，使得layer line能够区分；
  - 有时信号并不完美，有弯曲、有倾斜、有noise、有CTF，尽可能取出好的信号；
  - 当使用SPA时，会截取螺旋的片段为一串颗粒，平均出功率谱增强信噪比。
- 计算layer lines的指标：
  - 测量layer line height  $h$ ，即第1级layer line距离赤道的垂直距离，需要识别出第1级layer line；

- 计算每条layer line的级数，通过参考实空间的半径 $r$ 和该layer line距离子午线的距离来决定，两边的相位差可以用来帮助决定该layer line的级数是奇数还是偶数；
- 注意螺旋的手性是无法通过投影图决定的（手性概念在数学上是不存在的？）。
- 利用这些指标推导螺旋参数。

## 困难和挑战

- 信噪比的降低或者pixel过大采样不好的情况下，无法辨识和编号layer line；
- 螺旋的柔性（参数变化、弯曲）；
- EM图像中有CTF和high resolution amplitude decay（MTF？）；
- 螺旋有倾斜：图6；
- 总结：基本上只有低分辨率的低级的layer lines可以被观察到；
- 额外对称性带来的歧义（？）：图5C-D。

## 实空间方法

作者关于此部分叙述不够清晰。

- single-view class averages、class-based helical reconstruction？
- sub-volume averaging（cryo-ET），不假定任何的对称性，挑出螺旋的单元后单纯进行subtomo averaging，图7。

## 其他方法

- STEM：提供了mass measurements of biomolecules。
- shadowing to coat the helical surface with a fine metal grain：决定手性；
- atomic force microscopy (AFM)：也可以提供手性；

## 其他

- 螺旋参数精修与螺旋重构：略，文章阐述不多，基本与单颗粒的迭代方法相差无多。
- 软件：略，见文章，有各种软件，图9。