

# 利用中子散射探索生命世界中的物理奥秘\*

韩晶晶 储祥蓄<sup>†</sup>

(中国工程物理研究院研究生院 北京 100193)

2019-09-27 收到

<sup>†</sup> email: xqchu@gscaep.ac.cn

DOI: 10.7693/wl20191202

## Using neutron scattering to explore the mysteries in biophysical sciences

HAN Jing-Jing CHU Xiang-Qiang<sup>†</sup>

(Graduate School of China Academy of Engineering Physics, Beijing 100193, China)

**摘要** 中子散射是利用入射中子与原子核发生碰撞以后中子动量与能量的改变来研究微观世界的一种技术。由于中子对氢原子的散射截面远大于其他元素的独特属性,使得中子散射在研究包含大量氢元素的生物大分子的结构以及动力学特性方面都有卓越的应用。文章对中子散射在生物方面的应用进行了探讨,重点介绍了中子衍射、结合衬度变换技术的小角中子散射、准弹性/非弹性中子散射和中子自旋回波技术,以及它们在研究生物大分子结构、动力学及其功能方面的应用。最后对中子散射未来在生命科学中探索新的物理现象进行了探讨和展望。

**关键词** 中子散射, 生物大分子结构及动力学, 小角散射, 衬度变换, 准弹性中子散射, 中子自旋回波

**Abstract** Neutron scattering is a technique that helps to unravel the mysteries of the microscopic world by studying the changes in the momentum and energy of incident neutrons after collision with nuclei. Because the scattering cross section of a hydrogen atom is much larger than that of other atoms, neutron scattering has excellent applications in studying the structure and dynamics of biological macromolecules containing a large number of hydrogen atoms. In this paper, we introduce the principles and recent progress of primary neutron scattering techniques that can be applied in the field of biological science, including neutron crystallography and variable contrast small angle neutron scattering for structural biology, quasi-elastic neutron scattering, and neutron spin echo techniques for macromolecular dynamics studies. Finally, future challenges for discovering new physics phenomena in the biological sciences by neutron scattering are discussed.

**Keywords** neutron scattering, biological macromolecular structure and dynamics, small angle scattering, contrast variation, quasi-elastic neutron scattering, neutron spin echo

## 1 引言

在有机体的生命周期里展开的事件,显示出一种美妙的规律性和智慧性,我们碰到过的任何一种无生命物质都是无法与之相比的<sup>[1]</sup>。除了膜

拜于造物者的精心巧匠,我们更想揭开生物体内部的神秘面纱。复杂系统,特别是复杂生物系统的行为涉及各组成部分的装配和功能,以及它们之间的相互作用。在生命体中,无数生物大分子处于无时无刻的运动中,它们的形态在三维空间中是时间的函数并服从已知的物理规律。然而人们对于具体是何种物理规律以及规律又是如何作

\* 国家自然科学基金委员会—中国工程物理研究院联合基金(批准号: U1730449)、国家自然科学基金(批准号: 11875051)资助项目

用于复杂生物体系却知之甚少<sup>[2]</sup>。对于物理学家来说，基于现有的科技手段，大部分生物体系都过于复杂而难于理解，而从分子层面去理解复杂的生物体系是一个很好的切入点<sup>[3]</sup>。最核心的生物大分子非蛋白质莫属，它们在生物体中像是一个个小巧而精确的机器。蛋白质是由大约20种氨基酸组成的长链，这个长链通过不同折叠方式形成不同结构的蛋白质。它们彼此又相互影响，进而在生物体中发挥着不同的生理功能。同时，仅仅用某个时刻下定格的结构并不能完全描述包括蛋白质在内的生物大分子的活性与功能。近年来越来越多的研究表明，蛋白质的功能更决定于它的运动过程，即蛋白质动力学。我们要用什么技术方法才能看到这些蛋白质分子中原子的位置和运动，它们又是如何被精确调控体现不同功能、传递信号以及在生物体中发挥不同作用的？近年来，各种用于在原子分子层面研究生物系统，特别是蛋白质结构与动力学的先进技术手段层出不穷，如单分子荧光光谱、冷冻电镜、核磁共振、拉曼光谱、红外光谱、原子力显微镜等等。其中中子散射以其独特的优越性而占有不可或缺的地位<sup>[4]</sup>。

中子散射研究生物体系的最大优势在于中子对氢原子的敏感性以及能区分同位素的特质。在生物体系中，氢是含量最丰富的一个元素，大约占到所有原子数的一半。无论是研究水与生物体系的相互作用，还是探索生物分子在各种生物过程中的结构和动力学信息，氢原子在其中都扮演着举足轻重的角色。然而，氢原子只有一个电子，利用X射线、电子或荧光很难被检测到。而中子因为是直接和原子核发生散射，对氢原子却有非常好的响应信号。图1比较了中子对不同元素的非相干散射截面(灰色左半球)和相干散射长度(右半球)。由图可见，氢原子的非相干散射截面比其他元素至少高

一个数量级<sup>[5, 6]</sup>。另外中子不带电的特点也决定了其具有很强的穿透能力，无需克服库仑力直接和原子核相互作用，因此可以应用于复杂的样品环境中；同时中子入射能量低，几乎不会对生物样品造成辐射损伤，与X射线和电子显微镜技术相比，它对生物样品的影响忽略不计，这使得中子散射可以进行非破坏性的原位研究。

中子散射在研究生物体系时独特的能力更体现在其能覆盖更广的时间和空间尺度，能够提供分子生物学特定区域的结构、动力学乃至功能的关键信息<sup>[7]</sup>。图2总结了不同的中子散射技术可以应用在广泛的时间和空间尺度上对生物体系进行分门别类的研究。在结构相关的研究中，中子衍射、小角散射、反射和成像技术能够在空间上覆盖从原子到微米尺度，从而成为生物大分子结构研究的理想选择。在动力学相关的研究中，入射

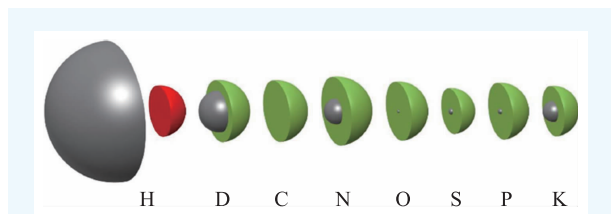


图1 不同元素对中子的非相干散射截面和相干散射长度。非相干散射截面用左半球表示，相干散射长度用右半球表示。红色的半球表示氢原子的相干散射长度为负，绿色的半球表示其他原子的相干散射长度为正<sup>[6]</sup>

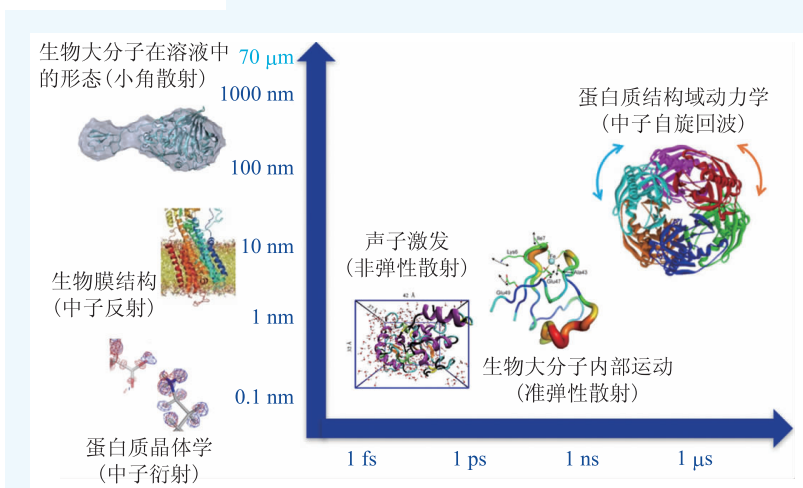


图2 不同中子散射技术在探索生物体系结构和动力学方面的应用。纵坐标代表不同空间尺度下的结构研究，横坐标代表不同时间尺度下的动力学研究。括号内总结了针对不同研究对象所用到的中子散射技术

中子能量与生物大分子热运动能量相近，可以表征从亚皮秒到微秒时间尺度上生物系统的内部运动，这一时间分辨率允许中子散射探索生物系统中的功能性的自运动、集体运动、振动、扩散、结构域动力学等诸多方面的动力学性质。因此，当今中子散射技术领域的长足进步使得人们可以利用不同的中子技术研究包括生物大分子、蛋白质溶液、磷脂生物膜，甚至于活细胞等多尺度、多层级的生物复杂体系，从而更加深入和直观地理解生命科学的本质问题。

近十年来，中子技术的进步和各项辅助领域的飞跃让中子散射实验结果的分析更加准确，理解更加透彻。当今正是中子散射技术在生物体系中广泛应用和蓬勃发展的新兴时期。基于中子散射在生物复杂体系中的独特优势，科学家们利用中子散射技术取得了卓越的研究成果，其中包括利用中子衍射解析生物大分子的晶体结构，小角中子散射原位检测生物分子复合体某一组分在溶液中的形态变化和尺寸分布，利用准弹性中子散射探测蛋白质动力学以及蛋白质与水的相互作用，利用非弹性中子散射和中子自旋回波解析生物膜的分层动力学，借助中子衍射研究生物分子中氢键的作用，通过中子反射分析蛋白质在细胞膜界面的运动等<sup>[8]</sup>。这些工作不仅向人们展示了中子散射在生物体系中强大的研发能力，更为未来中子散射在生物体系中的应用提供了更有价值的参考方法。接下来，本文将对中子散射在生命科学中的应用从结构和动力学方面分别进行总结，并对中子散射在当前和未来的研究中能够发挥的作用进行了展望。

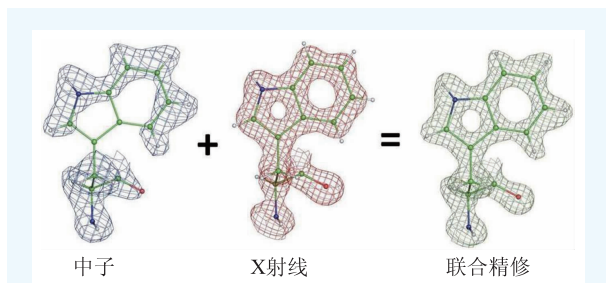


图3 中子和X射线衍射联合精修可以得到更清晰的图谱。  
图片修改自文献[9]

## 2 用于探索生物体系结构的中子散射技术

结构影响功能，功能决定结构。生物大分子通常由多个结构域组成，每个结构域具有特定的功能。小角中子散射、中子衍射和中子反射技术都可以用来研究原子到分子尺度上的生物物质结构。文章将主要介绍中子衍射与小角中子散射这两种在探测生物大分子结构方面非常成熟的技术。

### 2.1 中子衍射与蛋白质晶体学

与X射线衍射类似，中子衍射也可以得到生物大分子在原子精度上的高分辨结构。相比X射线，中子衍射在直接观测生物大分子中的氢原子方面具有独特的优势<sup>[6, 9]</sup>，其中氘原子(<sup>2</sup>H或D)作为氢原子(<sup>1</sup>H)的同位素，对中子衍射非常敏感。中子衍射在研究酶催化机理、pH调节的蛋白质功能、蛋白质-配体相互作用、体系中水分子结构和氢键网络、蛋白质动态研究方面都有重要的应用，尤其对蛋白质工程和药物的理性设计有重要的意义。但是由于中子束强度非常弱(比同步辐射的X射线强度低几个数量级)，中子衍射需要生长大体积的晶体，一般要求蛋白质的晶体体积在1 mm<sup>3</sup>以上，即使是全氘代蛋白质的晶体体积也需要0.1 mm<sup>3</sup>以上。这对于生物样品的制备是非常大的挑战。为了克服中子衍射强度的瓶颈，科研工作者在结晶条件的优化、中子束强度的提高、衍射数据的收集和处理程序的改进、蛋白质氘代技术的应用、晶体结构的解析程序等多方面都做出了不懈的努力并取得了重要的成果<sup>[6, 10]</sup>。

由于中子衍射强度弱，每次采集数据时间都很长(几个小时甚至几天)。为了提高效率，中子衍射的数据完整度往往不高(一般不高于85%)，使得结构精修过程中数据和参数比例(data-to-parameter ratio)很低，原子核密度图不完整。相比之下，X射线衍射强度高，所需时间



短,数据完整度很高(一般大于95%)。因此,在实际应用中,可以同时使用中子衍射和X射线衍射数据进行联合精修(joint X-ray and neutron refinement)来达到最佳效果(图3)。在联合精修中,中子衍射可以提供X射线衍射所不能提供的包括氢原子在内的所有原子的空间位置。我国在中子蛋白质晶体学方面的研究虽然刚刚起步,但是已处于世界领先水平。南京农业大学万群教授课题组利用氘/氕对比条件下中子衍射的优势,对木糖醇酶的质子化状态进行了研究,并向人们展示了氢键的可视化图像<sup>[11, 12]</sup>。这方面的研究成果对于生物蛋白催化机理方面的探索有着非常深刻的意义,为理解生物质子催化、氢键作用等问题提供了更为直观和清晰的方法。

## 2.2 小角中子散射与衬度变换技术

小角散射(SAS)也是一种研究生物大分子结构,特别是生物大分子在溶液中的表征的成熟方法<sup>[13-15]</sup>。相比于其他高分辨率的结构生物学方法,如大分子晶体学、核磁共振或冷冻电镜,小角散射是一种相对低分辨率的技术。然而,相对于其他结构生物学方法,小角散射的一个独特优势是特别适用于生物溶液系统,允许在最广泛的溶液条件和样品环境(包括温度梯度、流、剪切场、照明、高压、电场和磁场)下进行研究,可测量各种颗粒大小,并获得柔性系统的体积特性,如生物聚合物、无序蛋白或柔性蛋白等。小角散射包括小角X射线散射(SAXS)和小角中子散射(SANS)。相比于SAXS,SANS最大的优势在于衬度变换这一独特的技术手段。结合氘代技术,SANS可以用来研究复杂系统中的单个组分,如细胞膜中不溶于水的膜蛋白,而不用将它们单独分离出来。

图4展示了用于研究

生物大分子溶液的小角中子散射实验示意图。从中子源出来的中子束经过各种中子光学元件(中子慢化器、中子导管、单色器、准直器等),在到达溶液样品之前得到单一波长的入射中子束,然后经过样品散射之后被二维探测器捕获,经过数据处理后可得到只与散射角相关的一维谱线。因为在小角散射中只考虑与结构研究相关度最高的弹性散射,在这种情况下散射强度仅依赖于散射矢量 $Q$ ,其定义是入射波矢 $k$ 和出射波矢 $k'$ 的差值<sup>[14, 15]</sup>。因为在弹性散射中波矢 $k$ 和 $k'$ 的大小相等,夹角为散射角 $2\theta$ ,由几何关系可得到 $Q=4\pi\sin\theta/\lambda$ 。一般来说生物大分子溶液样品都是各向同性的,所以测量得到的散射强度 $I(Q)$ 只依赖于散射矢量 $Q$ 的大小。在小角中子散射中,散射矢量 $Q$ 的测量范围一般在 $0.001-0.6 \text{ \AA}^{-1}$ ,对应的大分子空间尺度约为 $10-6000 \text{ \AA}$ ,刚好对应于生物大分子的构象尺度<sup>[16]</sup>。

在溶液小角中子散射中,散射强度 $I(Q)$ 本质上反映的是溶质与溶剂的衬度 $\Delta\rho(r)$ ,其定义为溶质的散射长度密度(SLD)与溶剂的SLD之差。对于中子来说,氢元素是一个特殊的存在。氢与它的同位素氘( $^1\text{H}$ 或 $^2\text{H}$ )对于中子的散射长度差别非常大(图1),小角中子散射独有的衬度变换技术就是利用了中子的这一特性。图5展示了不同类型的生物分子在水和重水混合溶剂中,不同比例下的散射长度密度SLD<sup>[17]</sup>。从图5中可以看出,当重水在混合溶剂中占比约40%时,水/重水混合溶剂的散射长度密度与蛋白质基本一致,从而在此条件下,中子将无法区分蛋白质和溶剂的信号,

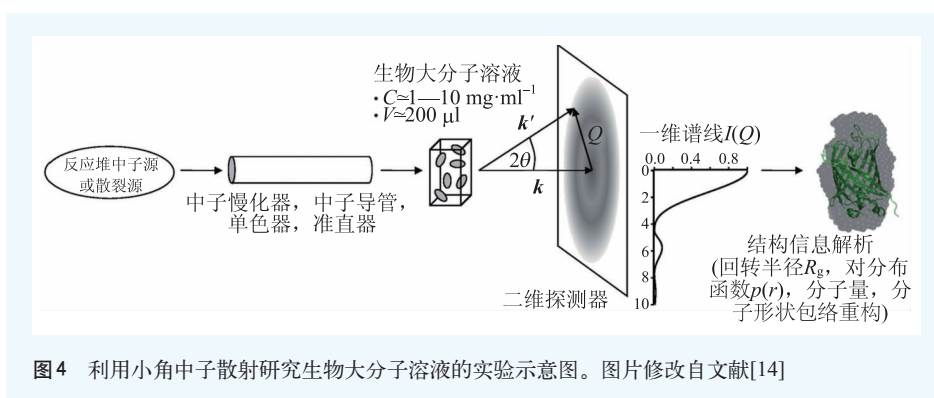


图4 利用小角中子散射研究生物大分子溶液的实验示意图。图片修改自文献[14]

但是仍然跟DNA有差别，从而可以观测到DNA的中子散射信号。这样，人们就可以通过调整水

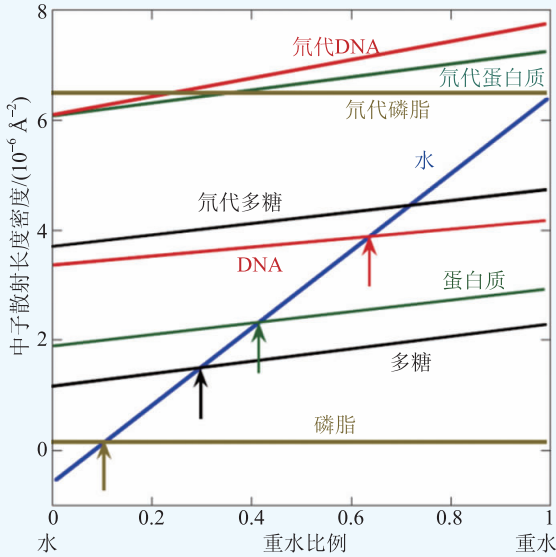


图5 磷脂、蛋白质、核酸等样品在水/重水混合溶剂中的中子散射长度密度(SLD)。图片修改自文献[17]

和重水的比例，单独研究蛋白质与核酸混合体系中的蛋白质或者核酸的形态变化。然而，如果研究体系是散射长度密度相似的复杂体系，如蛋白质—蛋白质复合物，那么就需要对其中的部分蛋白质进行氘代，从而利用氘代蛋白质更高的散射长度密度加以分辨。在这些情况下，氘代技术的引入使得中子散射能够分辨生物大分子某一特定部分的结构，并对其进行原位研究<sup>[18]</sup>。这大大增强了小角中子散射对复杂生物体系结构的研究能力。

衬度变换技术特别适合用来研究的一类体系是膜蛋白溶液。膜蛋白是存在于细胞膜中的蛋白质，它们一般不溶于水。要形成膜蛋白溶液，需要加入一些特殊的媒介，如较简单的极性分子(去垢剂/脂类)，还有一些更复杂的最新技术如nano-discs、bicelles等。近期中国工程物理研究院储祥蕃课题组利用小角中子散射和衬度变换技术

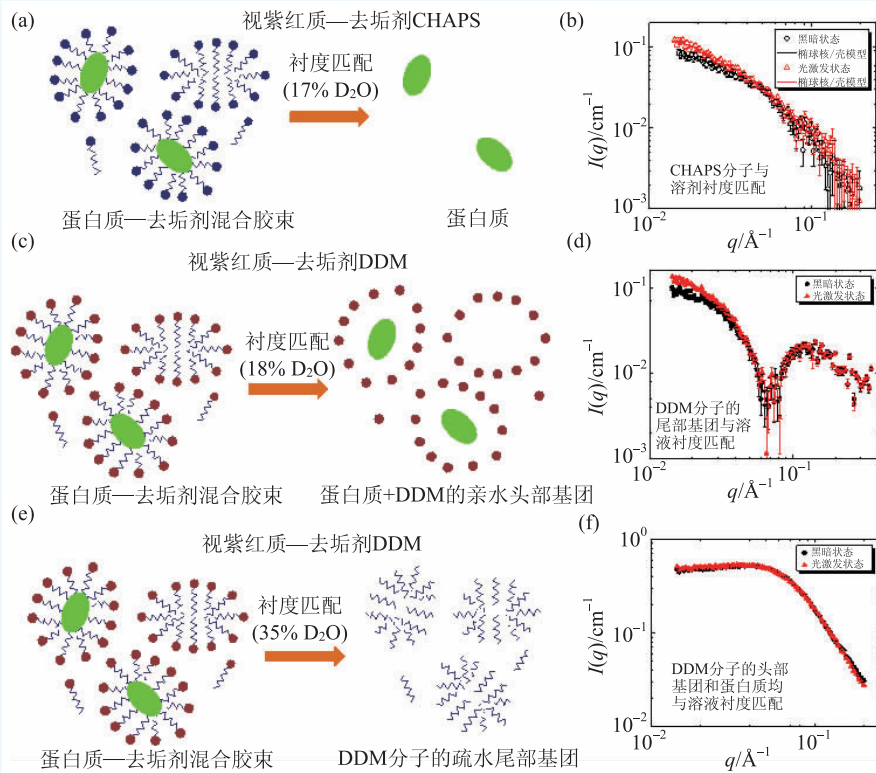


图6 利用小角中子散射衬度变换技术测量膜蛋白rhodopsin在黑暗状态(dark state, DS)和光激发状态(light activated state, LAS)之间的结构差异<sup>[19]</sup>。通过调节从上至下三种不同的溶剂衬度，可以屏蔽掉不同去垢剂中不同部分的信号。黑色曲线是黑暗状态的SANS谱线，红色曲线是光激发状态下的SANS谱线

首次观察到了视紫红质(rhodopsin)在溶液中对光激发的结构变化<sup>[19]</sup>。视紫红质作为G蛋白偶联受体(GPCR)家族中最重要的成员之一，是深受科学家青睐的人类基因组膜蛋白。它们在各种生物环境中控制着生理过程<sup>[20]</sup>。了解 rhodopsin 在光激发过程中发生的结构变化对开发新的治疗药物至关重要。然而，因为其水溶液组分太复杂，在此之前没有其他技术手段可以研究 rhodopsin 在其自然状态水溶液中的结构变化。图6展示了如何利用小角中子散射衬度变换技术研究 rhodopsin 在有去垢剂存在的水溶液中，通过调整溶剂中重水的比例，从而

得到仅来自于蛋白质的信号<sup>[19]</sup>。由图可见，当SANS探测到的信号来自蛋白质时(图中绿色椭圆代表膜蛋白 rhodopsin)，所得到的谱线在黑暗状态和光激发状态有明显变化(图 6(b)和(d))；而如果把蛋白质信号通过衬度变换屏蔽掉，SANS 信号在光激发前后不发生变化(图 6(f))。

总而言之，小角中子散射对生命过程的基本了解产生广泛影响，其在蛋白质结构的研究中有非常大的潜力，包括在神经系统疾病(如阿尔茨海默症、帕金森症等)中聚集、相分离和自组装系统<sup>[21]</sup>。小角中子散射技术还可以与中子反射技术相结合，在纳米尺度上提供了天然无序系统的结构信息，比如处于生理相关状态的生物膜。人们普遍认为生物膜中脂质和蛋白质的空间结构在细胞的生命及其功能中起着至关重要的作用<sup>[22]</sup>。小角中子散射已被证实是一种研究纳米级膜结构域大小及结构的强有力的技术。

### 3 用于探索生物体系动力学的中子散射技术

生命在于运动。在生命体中，无数具有不同功能的生物大分子处于无时无刻的运动中，就如同生命的呼吸与舞蹈。仅仅只用某个特定时刻下定格的结构并不能完全描述它们的活性与功能。随着人们对于生命现象本质的理解加深，越来越多的生物学家和物理学家都意识到其实生物大分子的动力学性质对其功能在更深的层次上具有决定性的作用<sup>[23, 24]</sup>。中子散射不仅可以在空间尺度上给出结构信息，还可以在时间尺度上提供复杂生物系统的动力学信息。

可以用来探测生物大分子动力学的中子散射技术包括准弹性中子散射(QENS)，非弹性中子散射(INS)以及中子自旋回波(NSE)等(图 2)。这些技术的共同点是可以在一个较大的空间范围内探测生物大分子在不同时间尺度的动力学行为，这对于揭示不同类型运动的物理起源是至关重要的。

### 3.1 准弹性中子散射与氢动力学

由于中子对氢原子的非相干散射截面远大于其他元素的特性(图 1)，使得准弹性中子散射在研究包含大量氢元素的生物大分子的动力学特性方面有着特别的优势。准弹性中子散射覆盖的时间和空间范围正是与蛋白质、核酸、磷脂等生物分子活性最相关的时间尺度(皮秒到纳秒级)和空间尺度(纳米级)<sup>[7]</sup>。另外，准弹性中子散射(QENS)的独特性质使得我们可以将得到的蛋白质动力学信息直接与蛋白质的能量景观(energy landscape, EL)物理图像联系起来，而EL是理解蛋白质动力学深层生物物理意义的关键<sup>[24-26]</sup>。

在中子散射实验中，中子被原子核散射，与样品交换动量和能量。之前本文提到的用来研究结构的中子散射技术，包括衍射、小角散射以及反射，都是仅考虑弹性散射，即中子经过样品散射之后能量(波矢的大小)不发生改变，仅仅动量(波矢的方向)发生改变，这对于探测样品中的结构信息已经足够。而在动力学的研究中，我们不仅要考虑弹性散射，还要考虑到入射波和散射波能量不相等的非弹性/准弹性散射。在非弹/准弹性散射实验中，散射信号同时是能量转移  $E = \hbar\omega$

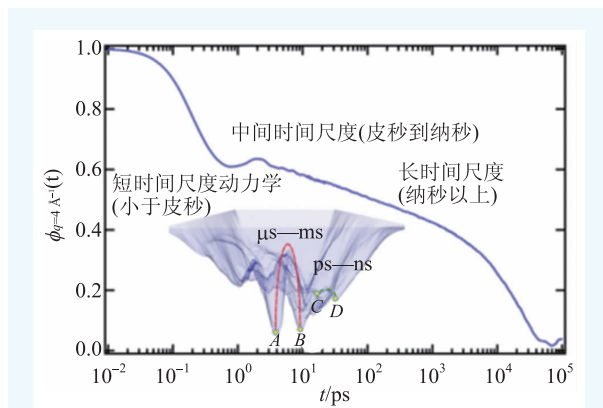


图 7 分子动力学模拟计算出的蛋白质动力学在不同时间尺度的图像。其中纵轴反映的是粒子间的关联函数，在散射实验中又称中间散射函数(ISF)，它的值总是随着时间增长从 1 衰减到 0。插图为多维能量景观(energy landscape)在三维空间上的投影。图片修改自文献[27]



和散射矢量  $Q$  的函数。其中准弹性散射对应的是能量转移非常小(微电子伏到毫电子伏量级)的情况,正好可以覆盖很多生物体系活性最相关的时间尺度(皮秒到纳秒级)。通过数据处理,我们可以得到准弹性散射给出的散射函数  $S(Q, \omega)$ , 又称作动态结构因子,其中包含有样品的动力学信息<sup>[7, 28]</sup>。动力学的研究本质在于知道样品中某一个原子在某个特定时刻的相对位置,于是我们引入关联函数这一概念。图7展示的就是分子动力学模拟计算给出的蛋白质分子中氢原子之间的关联函数。它的值总是随着时间增长从1衰减到0,其物理含义是氢原子在时间为  $t$  的时刻与它自身在时间为0时刻的位置相关程度。而散射实验所得到的动态结构因子  $S(Q, \omega)$  可以直接通过傅里叶变换得到关联函数:

$$S(Q, \omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} F(Q, t) \exp\{-i\omega t\} dt,$$

上式中  $F(Q, t)$  为中间散射函数,等价于计算中给出的关联函数。于是通过傅里叶变换,我们实现了从能域到时域的转换,得到了实时包含动力学信息的中间散射函数(图8)。

由图1可以看出,氢原子的非相干散射截面远大于其他元素。所以如果样品中含有大量的氢元素,比如生物大分子、蛋白质或水,我们得到的准弹性中子散射信号主要来源于样品中氢原子的相对自身的运动。长期以来,准弹性中子散射技术用于研究生物分子的动态过程,为设计蛋白

质和药物投递提供新思路<sup>[25, 29-31]</sup>。例如储祥蓄课题组通过准弹性中子散射,提出了嗜热蛋白能够承受深海高温高压的机理,为设计结构更加稳定的蛋白质奠定了理论基础<sup>[25, 30]</sup>。在另一项研究中,储祥蓄课题组利用准弹性中子散射实验和计算机模拟相结合,分析出转运核糖核酸 tRNA 在纳米金刚石表面上的动力学,这项新发现可能为更安全、更完善的药物输送平台提供新的设计原则<sup>[29]</sup>。此外,蛋白质动力学在很大程度上依赖于蛋白质表面附近水的动力学,因此,准弹性中子散射被广泛应用于蛋白质及其表面水的动力学研究中,表征生物大分子及其表面水从振动到结构弛豫的各种动态过程<sup>[30-34]</sup>。

### 3.2 中子自旋回波技术与蛋白质结构域动力学

中子自旋回波(Neutron Spin Echo, NSE)技术在对功能性蛋白的研究中也发挥着非常重要的作用。中子自旋回波所测量的动力学范围是与很多生物系统(如细胞膜和蛋白质的结构域运动)的功能最相关的时间尺度(纳秒及以上)。与其他中子散射技术测量的是中子在散射前后的能量/动量改变不同,中子自旋回波测量的是散射前后中子自旋的改变。其中使用磁场操控中子自旋方向的技术,类似于核磁共振自旋回波技术中利用脉冲的持续时间控制原子核的自旋方向,这就是“中子自旋回波”名字的由来<sup>[35]</sup>。中子自旋回波技术的

优势在于,其他非弹/准弹性中子散射技术测量的是动态结构因子  $S(Q, \omega)$ , 而中子自旋回波技术直接测量的是中间散射函数  $F(Q, t)$ , 数据可以直接与计算机模拟的数据结果相比较,而不需要通过傅里叶变换把动态结构因子转换成实时的中间散射函数(图9)<sup>[36]</sup>。

中子自旋回波技术(NSE)在表征蛋白质结构域运动方面具有独特的能力。蛋白质的长期构象

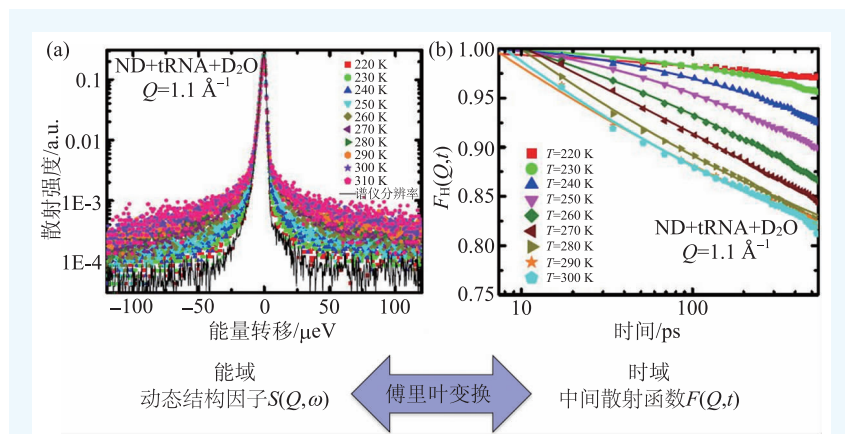


图8 准弹性中子散射谱(a)和傅里叶变换后的中间散射函数(b)<sup>[29]</sup>

变化在生物学中普遍存在，用于信号的传输和放大；这种构象的改变可以通过小幅度、纳秒级的蛋白质结构域运动来触发。蛋白质运动是蛋白质协调精确生物学功能的关键。要理解构象变化是如何开始的，需要在这些时间尺度上以及在与蛋白质维度相当的长度尺度上对蛋白质域运动进行表征<sup>[37]</sup>。NSE揭示了长期变构是蛋白质内部运动的一个重要结果，蛋白质可以在自身内部进行通信，从而实现长期的变构信息传递<sup>[38, 39]</sup>。因此，利用NSE研究生物学相关的系统成为当前最有前途的发展方向之一<sup>[8]</sup>。然而，全球NSE谱仪到目前为止一共只有不超过十台。束流时间的稀缺，加上数据收集时间较长，限制了NSE的用户规模，是把NSE应用到生物物理领域的最主要障碍。目前国内的首台NSE谱仪正在中国绵阳研究堆(CMRR)搭建(图10)，这将为中国在此领域的发展提供新的机遇。中子自旋回波技术会成为未来研究复杂生物学系统最强劲的技术之一。

前面讲到我们可以利用准弹性中子散射(QENS)和中子自旋回波(NSE)在相对较长的时间尺度上对生物大分子的动力学进行表征。而利用非弹性中子散射(INS)可以对更短时间尺度(小于皮秒)的蛋白质动力学，如蛋白质中的声子色散关系进行研究，相对来说这是物理学家更感兴趣的方向。由于在相关的研究中感兴趣的是蛋白质分子之间的关联运动(collective motion)，所以需要使用氘代蛋白质作为样品以去除氢元素非相干散射信号的影响，从而探测声子在蛋白质分子内部以及分子间传播的色散关系，

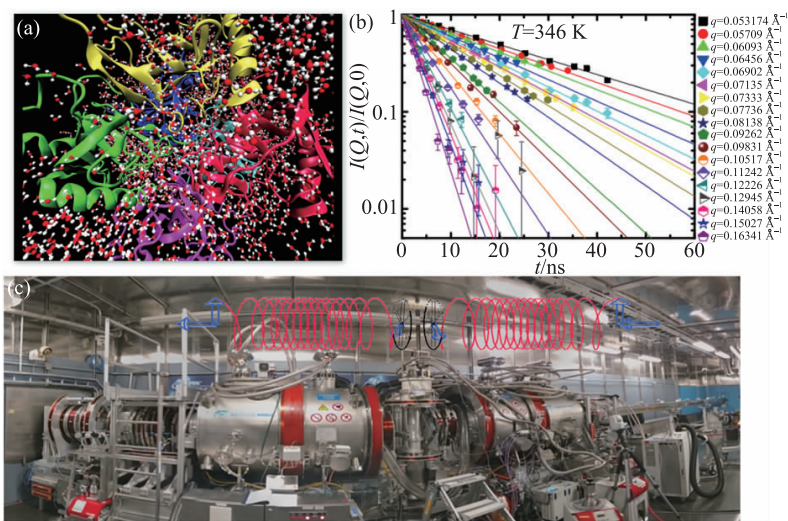


图9 中子自旋回波技术可以直接测量包含动力学实时信息的中间散射函数(b)，由此表征蛋白质结构域动力学并可直接与分子动力学模拟结果相比较(a)。数据由储祥嵩课题组测量于美国散裂中子源自旋回波谱仪(c)

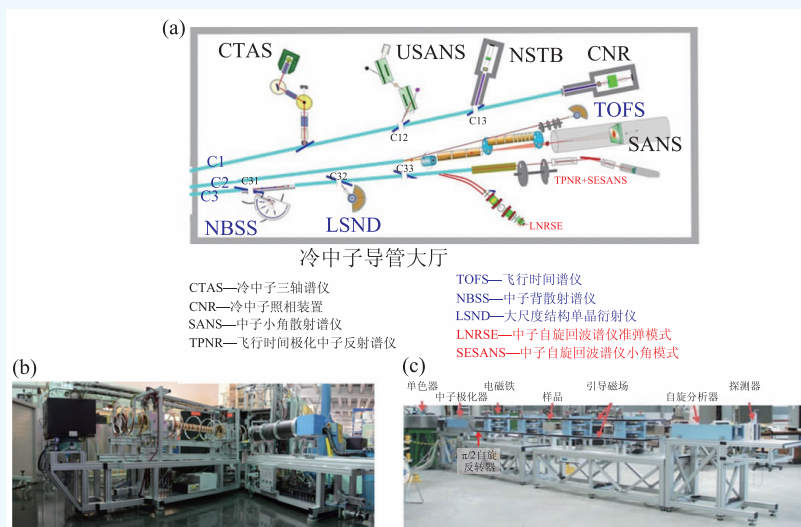


图10 (a)中国绵阳研究堆(CMRR)中子散射大厅谱仪分布布局图；(b)非弹模式纵向共振自旋回波(德国FRM2的RESEDA)；(c)小角模式自旋回波(荷兰IRI)

并将它与蛋白质的活性与功能联系起来<sup>[40]</sup>。

## 4 总结与展望

经历了科学家们的不断探索，中子散射在生命科学中的应用已经步入一个稳定而又充满活力的时代。中子不带电，具有非破坏、对氢元素超敏感、区别同位素等优势，可以提供用其他辐



射无法获得的见解。通过同位素替代可以提供特定原子、分子和区域位置的信息,帮助生命科学拼凑出理解功能所需的结构拼图。此外,在自然状态下,蛋白质不是静态物体,生物大分子中很多相对较弱的键的存在使得它们在常温下具有很大的柔性,得以在不同的构象之间来回变换。因此任何结构的描述都包含了动力学的元素,由于生物系统内部热能的交换接近中子的入射能量,中子散射作为一种直接探测原子和分子运动的方法,几乎没有竞争对手。

下面展望一下利用中子散射研究生物大分子在未来最具有前途的几个发展方向:(1)运用衬度变换的小角中子散射原位研究蛋白质/磷脂膜、蛋白质/DNA、蛋白质/蛋白质,蛋白质/RNA复合物中各自的结构特征,以及复合物中各个组分的结构如何随复合物的形成发生构象变化;(2)结合氘代技术和准弹性/非弹性中子散射,研究蛋白质及其表面水分子的动力学特征。理解表面水的生物意义,及功能相关的蛋白质动力学过程:例如药物分子的结合及释放,信息传递过程中蛋白质的构象变化;(3)运用氘代或部分氘代和中子衍射技术相结合揭示蛋白质分子和底物形成氢键的空间结构,帮助理解重要生物酶的催化机理(例如木质素降解酶的工作机制和效率改进)。同样的方法可以揭示蛋白质和水分子或者药物小分子氢键的结构,有利于新型高效药物分子的研发;(4)运用氘代技术和小角中子散射、准弹性中子散射和中子自旋回波技术研究磷脂膜上“脂筏”的结构及动力学过程,帮助理解“脂筏”的生物意义<sup>[8]</sup>。

时至今日,中子散射在生物领域已经有了广

泛的应用和深入的探索。世界各大中子源,包括美国的NIST和ORNL、法国的ILL、英国的ISIS、日本的J-PARC、澳大利亚ANSTO等都投入了巨大的资源在生物领域的研究当中。我国在使用中子散射研究生物大分子的结构和动力学方面虽然起步较晚,也已经培养了非常优秀的人才和队伍。在过去的几十年里,中子散射应用于生命科学中的进展是显著的。与其他技术包括冷冻电镜、核磁共振、X射线、拉曼光谱、红外光谱、单分子荧光光谱等相结合,以及在单个样品上结合小角度、广角和掠入射中子散射,有可能理解更复杂生物体系的变构和动力学路径,为预测更宏大的生命系统提供基础。另外大型计算机、机器学习辅助解读生物中子图谱的发展使得中子成为研究生物体系的一大利器<sup>[41]</sup>。来自全世界各地的研究人员在弥合技术差距方面取得了重大进展,不仅在中子散射仪器方面,而且在分子和细胞生物学、氘代和计算技术方面也取得了重大突破。以我国为例:(1)三大中子源:中国散裂中子源(CSNS)、中国绵阳研究堆(CMRR)、中国先进研究堆(CARR)的建设和投入运行,大大提高了我国在中子领域的科研能力;(2)我国的超级计算机“神威·太湖之光”和“天河二号”,以及各大高校、科研院所的超算系统等都为生物体系的模拟计算搭建了优质的计算平台,必将与中子实验研究相辅相成;(3)我国在生物氘代方面也取得了很好的进展。相信在不久的将来,中子散射将会以一种变革性的方式被使用,它将不仅是开启生命科学研究的敲门砖,更能将对生命科学的理解预测转变为现实。

## 参考文献

- [1] Schrodinger E. What is life. Cambridge University Press, 1944
- [2] Alberts B. Science, 2011, 333(6047): 1200
- [3] Parak F, Frauenfelder H. Physica A: Statistical Mechanics & Its Applications, 1993, 201(1-3): 332
- [4] Frauenfelder H, Mezei F. Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography, 2010, 66(11): 1229
- [5] Sears V F. Neutron News, 1992, 3(3): 26
- [6] O'Dell W B, Bodenheimer A M, Meilleur F. Archives of Biochemistry & Biophysics, 2016, 602: 48
- [7] Gabel F, Bicout D, Lehnert U *et al.* Quarterly Reviews of Biophysics, 2002, 35(4): 327
- [8] Ashkar R, Bilheux H Z, Bordallo H *et al.* Acta Crystallogr. D: Struct. Biol., 2018, 74(12): 1129
- [9] Blakeley M P. Current Opinion in Structural Biology, 2008, 18(5): 593
- [10] Chen C H, Unkefer C J. IUCrJ, 2017, 4(1): 72

- [11] Wan Q, Bennett B C, Wilson M A *et al.* Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(51): 18225
- [12] Wan Q, Parks J M, Hanson B L *et al.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(40): 12384
- [13] Glinka C J, Barker J G, Hammouda B *et al.* Journal of Applied Crystallography, 1998, 31(3):430
- [14] Mahieu E, Gabel F. Acta Crystallogr. D: Struct. Biol., 2018, 74(Pt 8): 715
- [15] Dmitri S *et al.* 李娜 等译. 生物大分子小角散射. 清华大学出版社, 2019
- [16] Chen S H. Annual Review of Physical Chemistry, 1986, 37(1): 351
- [17] Hore M J A, Hammouda B, Li Y *et al.* Macromolecules, 2013, 46(19): 7894
- [18] Ankner J F, Heller W T, Herwig K W *et al.* Curr. Protoc. Protein Sci., 2013, 72: 17.16.1
- [19] Perera S, Chawla U, Shrestha U R *et al.* J. Phys. Chem. Lett., 2018, 9(24): 7064
- [20] Katritch V, Cherezov V, Stevens R C. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 2013, 53: 531
- [21] Dante S, Hauss T, Brandt A *et al.* J. Mol. Biol., 2008, 376(2): 393
- [22] Coskun U, Simons K. Structure, 2011, 19(11): 1543
- [23] Henzler-Wildman K A *et al.* Nature, 2007, 450(7171): 913
- [24] Frauenfelder H, Sligar S G, Wolynes P G. Science, 1991, 254(5038): 1598
- [25] Shrestha U R, Bhowmik D, Copley J R D *et al.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112: 14478
- [26] Henzler-Wildman K, Kern D. Nature, 2007, 450(7172): 964
- [27] Lagi M, Baglioni P, Chen S H. Phys. Rev. Lett., 2009, 103(10): 108102
- [28] Volino F, Dianoux A J. Mol. Phys., 1980, 41(2): 271
- [29] Dhindsa G K, Bhowmik D, Goswami M *et al.* The Journal of Physical Chemistry B, 2016, 120(38): 10059
- [30] Chu X Q, Gajapathy M, Weiss K L *et al.* J. Phys. Chem. B, 2012, 116(33): 9917
- [31] Chu X Q, Mamontov E, O'Neill H *et al.* J. Phys. Chem. Lett., 2013, 4(6): 936
- [32] Chu X Q, Mamontov E, O'Neill H *et al.* J. Phys. Chem. Lett., 2012, 3(3): 380
- [33] Grimaldo M, Roosen-Runge F, Zhang F *et al.* Quarterly Reviews of Biophysics, 2019, 52: e7
- [34] Chu X Q *et al.* J. Phys. Chem. B, 2009, 113(15): 5001
- [35] Mezei F. Z. Physik, 1972, 255: 146
- [36] Liu Y. Physical Review E, 2017, 95(2): 020501
- [37] Smolin N, Biehl R, Kneller G R *et al.* Biophys. J., 2012, 102(5): 1108
- [38] Bu Z, Biehl R, Monkenbusch M *et al.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2005, 102(49): 17646
- [39] Svergun D I, Burkhart N, Pedersen J S *et al.* Journal of Molecular Biology, 1997, 271(4): 588
- [40] Shrestha U R, Bhowmik D, Van Delinder K W *et al.* J. Phys. Chem. B, 2017, 121(5): 923
- [41] Franke D, Jeffries C M, Svergun D I. Biophys. J., 2018, 114(11): 2485



## 微弱信号检测 半个世纪的骄傲

Model 7210  
多通道锁相放大器

全球唯一  
通道之最



Model 197 光学斩波器



生产商: 阿美特克商貿(上海)有限公司北京分公司  
电话: 010-85262111-10 传真: 010-85262141-10  
Email: info@ametec.cn  
网址: www.signalrecovery.com.cn

中国代理商: 北京三尼阳光科技发展有限公司  
电话: 010-65202180/81 传真: 010-65202182  
Email: sales@sunnytek.net  
网址: www.sunnytek.net