

# 中子自旋回波：研究蛋白质结构域动力学的利器\*

孙喆忻<sup>1</sup> 崔腾飞<sup>1,2</sup> 储祥蓄<sup>2,†</sup>

(1 中国工程物理研究院研究生院 北京 100193)

(2 香港城市大学物理系 香港 SAR 999077)

## Neutron spin echo spectrometer: advanced in studying protein domain motions

SUN Zhe-Xin<sup>1</sup> CUI Teng-Fei<sup>1,2</sup> CHU Xiang-Qiang<sup>2,†</sup>

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

(2 Department of Physics, City University of Hong Kong, Hong Kong SAR 999077, China)

2024-01-18收到

† email: xiangchu@cityu.edu.hk

DOI: 10.7693/wl20240306

**摘要** 蛋白质作为生物系统这种复杂分子机器的重要组成部分之一，理解它们内部的结构及其在不同时间及空间尺度上的运动，对于研究生命的运作机理至关重要。相较于其他实验手段，中子自旋回波技术能探测到更大时空范围的性质，在研究蛋白质内部的结构域动力学方面具有独特的优势。这是一门横跨核物理与核技术、非平衡态统计物理学、分子生物学与蛋白质组学等前沿交叉领域的学科，充满着诸多未知与挑战，也遍布着一探生命奥秘的机遇。文章简述了中子自旋回波实验技术的基本原理和发展历程，阐述其在研究蛋白质结构域动力学方面的方法和技术优势，并介绍了部分实验案例，最后对其应用前景进行探讨与展望。

**关键词** 中子散射，中子自旋回波，蛋白质结构域动力学，核技术及应用

**Abstract** With protein being one of the most important components in biological systems, it is essential to know the dynamics of the internal motions of proteins for further understanding of the mechanisms of life. Utilizing the unique properties of thermal neutron scattering with hydrogen isotopes to study the dynamics inside proteins takes full advantage of the low beam energy and high spatiotemporal resolution of neutron spin echo spectroscopy over other experimental methods. This cutting-edge discipline spans nuclear physics and technology, non-equilibrium statistical physics, molecular biology, and proteomics. There are plenty of unknowns and challenges, as well as opportunities to peek at the mysteries of life. In this article, we review the principles of neutron spin echo spectroscopy, the history of its development and its advantages with some examples of experiments that have been performed on protein domain dynamics, then discuss various future applications.

**Keywords** neutron scattering, neutron spin echo, protein domain motion, nuclear technology and applications

\* 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: U2230207)资助项目

# 1 引言

中子自旋回波<sup>[1]</sup> (neutron spin echo, NSE)是一种中子散射实验技术<sup>[2]</sup>。它利用极化中子的自旋在磁场中的拉莫尔进动原理对中子的自旋进行操控,可检测到中子能量在散射前后的微小变化(neV至 $\mu\text{eV}$ 级),该能量变化又对应了时间尺度在ns到 $\mu\text{s}$ 之间的蛋白质结构域动力学性质,使中子自旋回波技术具备揭示蛋白质内结构域动力学性质的能力。其他中子散射技术,如小角中子散射(small angle neutron scattering, SANS)和中子衍射(neutron diffraction, ND)多应用于研究生物大分子在原子分子层面的结构,准弹性中子散射(quasi-elastic neutron scattering, QENS)、非弹性中子散射(inelastic neutron scattering, INS)可以探测到皮秒级的蛋白质动力学性质<sup>[3, 4]</sup>,中子自旋回波在较大范围内填补了蛋白质结构域动力学的可探测时空尺度,与其他散射实验技术互补,有助于进一步揭示蛋白质内部结构域的动力学行为<sup>[5]</sup>。

生命在于运动,蛋白质作为生物系统这种复杂分子机器的重要组成部分之一,理解它的结构和运动对于研究生命的运作机理至关重要<sup>[6]</sup>。蛋白质是一种大分子,常由氨基酸排列组合成长肽链,再经过复杂的折叠乃至组装拼接后成为有各种生物功能的蛋白质复合体。蛋白质的功能运作通常伴随个别原子、基团或亚结构为单位的结构域之间的构型变化,其运动方式和构象变化都对它在生物系统中执行的功能起着决定性的影响。不同尺寸、不同结构、不同功能的蛋白质内部结构在时空尺度上的差异跨度非常大,运动的时间尺度可以从fs到s级,空间尺度覆盖 $\text{\AA}$ 到微米级,蛋白质结构域运动刚好处于中子自旋回波技术可以适用的探测范围。目前对蛋白质结构域运动的中子自旋回波实验研究中,还离不开对其静态结构的详细了解(较为常见的有蛋白质晶

体衍射方法、冷冻电镜、核磁共振和原子力显微镜等方法),将中子自旋回波实验结果与其他散射和非散射的实验技术得到的结果相互参照,方可得到完善的蛋白质内部结构域的动力学特征和相应的功能性质。在可以预见的未来,中子自旋回波散射实验会成为研究蛋白质结构域动力学性质最有力的手段之一。

## 2 中子自旋回波实验技术与发展历程

### 2.1 中子自旋回波实验技术原理

中子是一种电中性的费米子,自旋为1/2,有自旋向上和自旋向下两种量子态。从经典物理的观念来看,中子在磁场中运动时,其自旋矢量会绕着磁场矢量方向发生进动<sup>[7]</sup>,即拉莫尔进动,如图1所示。

中子自旋矢量 $\mu$ 在磁场中的进动遵循 $\frac{d\mu}{dt} = \gamma\mu \times B$ ,易得进动角频率 $\omega_L$ 与磁场强度成正比相关: $\omega_L = |\gamma B|$ ,其中 $\gamma$ 为中子的旋磁比,其数值 $|\gamma/2\pi| \approx 30 \text{ MHz/T}$ ;而中子自旋矢量的总进动角即为 $\varphi = \omega_L t = \frac{\gamma B l}{v}$ ,其中 $v$ 是中子的飞行速度, $l$ 是中子在磁场中的飞行距离。

中子自旋回波正是利用中子的拉莫尔进动,使用磁场对入射和出射中子的自旋矢量进行编码和解码,测量中子极化率的变化以得到中子在磁场中飞行时间的差异,由此极大地提高了中子散

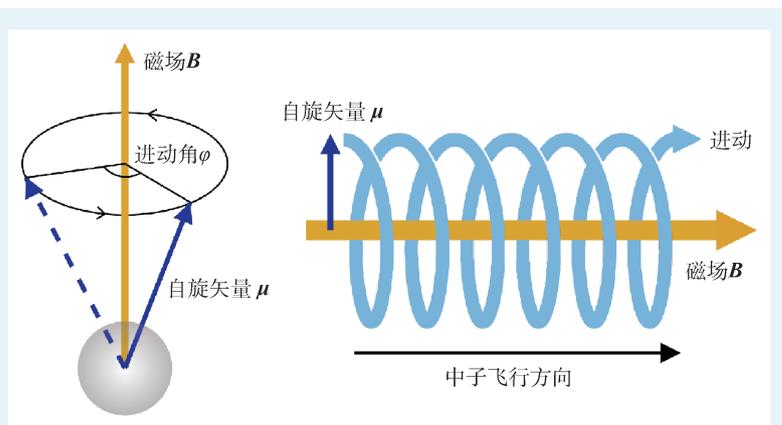


图1 中子在磁场中运动时,自旋矢量的进动示意图

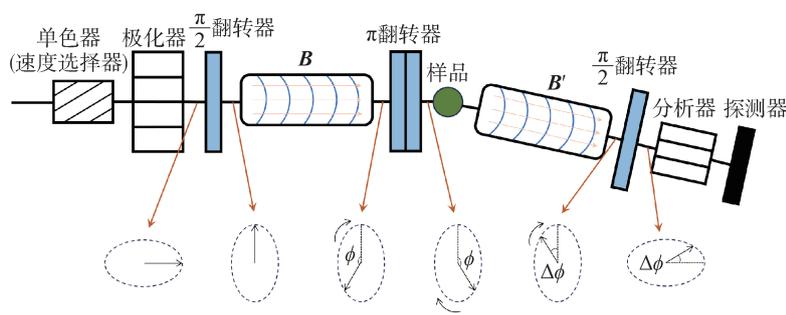


图2 典型的中子自旋回波谱仪设备布局示意图<sup>[14]</sup>。在反应堆中子源上，单色器常为速度选择器；利用一个可以让入射中子的进动角 $\phi$ 改变 $\pi/2$ 或 $\pi$ 的磁场，使经过单色和极化的中子束流的平均自旋矢量指向垂直于引导磁场 $B$ 的方向，由此开始使用引导磁场对入射中子自旋的进动角进行编码，这类能让中子的进动角 $\phi$ 改变 $\pi/2$ 或 $\pi$ 的小型磁场装置被称为 $\pi/2$ 翻转器(flipper)、 $\pi$ 翻转器；中子与样品散射后，其能量发生了微弱的改变，利用出射引导磁场 $B'$ 对极化中子的自旋进动角进行解码，可通过分析和探测中子平均自旋的回波强度，得到散射谱即为中间散射函数 $I(\mathbf{Q}, t)$ ，与准弹性中子散射谱 $S(\mathbf{Q}, \omega)$ 互为傅里叶变换的关系

射的能量分辨率，测得的谱可直接反映样品的微观动力学性质。

对中子自旋回波信号的精确探测离不开自旋矢量高度极化的中子束流<sup>[8]</sup>，常用的中子极化器有：极化氦-3气室<sup>[9, 10]</sup>、由铁磁性层与非铁磁性层交替沉积而成的中子极化超镜<sup>[11-13]</sup>、磁性晶体等。经过极化的中子束流，其平均自旋矢量的大小与其极化率直接相关。

在一台典型的中子自旋回波谱仪布局中，如图2所示<sup>[14]</sup>，被极化的中子束首先经过一个 $\pi/2$ 翻转器，使中子平均自旋矢量的方向不再与引导磁场 $B$ 平行，入射中子进入磁场后发生拉莫尔进动，再经过一个 $\pi$ 翻转器使其自旋矢量方向完全翻转，然后被样品散射。出射中子进入到第二个引导磁场 $B'$ 中进行方向相反拉莫尔进动，再经过第二个 $\pi/2$ 翻转器的翻转。整个过程使极化中子束流的平均自旋矢量方向产生改变，记该角度差为 $\Delta\phi$ 。

理想情况下，两个进动引导磁场完全相同；如果中子与样品仅发生弹性散射，就有 $\Delta\phi = 0$ ，探测器所获得的“自旋回波”强度达到最大值；如果中子与样品发生非弹性散射，出射中子能量发生改变，那么这些中子通过前后两个引导磁场的飞行时间不同，从而使其进动角无法回到初始

角度， $\Delta\phi$ 便不为零，中子自旋回波就是通过精确检测 $\Delta\phi$ 的大小达到neV级的能量分辨率。

通过调整两个引导磁场的大小或选择不同的人射中子能量，可以改变所探测的动力学关联时间 $t$ 。另外还可以通过调整出射探测设备的布局角度和单色中子的选择波长，改变所探测的散射矢量 $\mathbf{Q}$ 。在这两个维度上改变中子自旋回波的探测参数，可获取样品在不同时空范围的散射谱，进一步分析该散射谱从而研究样品的动力学性质。

## 2.2 发展历程与仪器设备

早在50多年前，就有科学家尝试利用中子在磁场中的拉莫尔进动提高热中子散射的能量分辨率，以探测当时既有实验方法无法看清的物理性质，比如高分子的微观动力学过程。1969年，苏联科学家G.M. Drabkin等人首次在实验中测到了中子在磁场中的拉莫尔进动<sup>[15]</sup>，但他们的工作受时局所限，未能直接推动中子自旋回波技术的发展。1972年，匈牙利科学家F. Mezei独立研究了中子在磁场中的拉莫尔进动，并系统性地提出了中子自旋回波技术的基本原理和方法<sup>[16]</sup>，同时在匈牙利布达佩斯的BRR (Budapest Research Reactor)进行了最初的实验仪器搭建与验证。随后的1973年，法国格勒诺布尔的劳厄-郎之万研究所(ILL)设计了世界第一台实用性的、通过检测极化中子在磁场中的拉莫尔进动以提高能量分辨率和尺寸分辨率的准弹模式中子自旋回波谱仪IN11，在1977年建设完工并测试后，于1978年开放使用。后来在中子自旋回波的原理基础上，又进一步发展出了横向共振型中子自旋回波TNRSE (transverse neutron resonance spin-echo, 有时直接简称NRSE)<sup>[17, 18]</sup>、纵向共振型中子自旋回波LNRSE

(longitudinal NRSE)<sup>[19, 20]</sup>, 以及可以测量样品磁特性的零场中子强度调制MIEZE (modulated intensity with zero effort)等技术。

目前世界上对用户开放使用的中子自旋回波谱仪(包括采用NRSE和LNRSE技术),除了法国ILL的IN11<sup>[21]</sup>(旧设备已停用)、IN15<sup>[22]</sup>、WASP<sup>[23]</sup>(取代IN11),还有法国利昂-布里渊实验室位于萨克雷反应堆上的MUSES<sup>[24]</sup>;美国橡树岭国家实验室散裂中子源SNS的BL-15-NSE<sup>[25]</sup>,美国国家标准与技术研究院NCNR的CHRNS-NSE<sup>[26]</sup>;日本散裂中子源J-PARC上的TNRSE模式谱仪VIN-ROSE<sup>[27, 28]</sup>,日本东京大学固体物理研究所在JRR-3研究堆上的C2-3-1 iNSE<sup>[18]</sup>;德国海因茨·迈尔-莱布尼茨中心(Heinz Maier-Leibnitz Zentrum, MLZ)在FRM II研究堆的NL2a J-NSE-PHOENIX<sup>[29-31]</sup>、NL5-S RESEDA<sup>[20]</sup>(LNRSE模式)和MIRA<sup>[32]</sup>(NRSE模式),另外德国柏林亥姆霍兹中心(Helmholtz-Zentrum Berlin, HZB)在BER II研究堆的FLEXX<sup>[33]</sup>和V5/SPAN<sup>[34]</sup>(WASP的原型机)已于2019年随反应堆关停,FLEXX的部分设备将迁往FRM II成为LaDiff谱仪。图3是几张中子自旋回波谱仪的照片<sup>[26, 35, 36]</sup>。

对于中子自旋回波谱仪用户来说,需要着重关注的设备指标有:散射矢量 $Q$ ,其可取范围越大,能反映信息的空间尺度范围就越大,它取决于中子束流波长以及设备散射角的可调整范围;关联时间 $t$ ,其可取范围越大,能反映信息的时间尺度范围就越大,它取决于进动磁场的可变范围和控制精度;中子通量,尤其是样品处的中子束流通量,它往往取决于中子源本身的技术指标,中子通量的大小直接决定了实验数据采集的快慢,对于某些在短时间内就易于变质的样品,比如部分蛋白质,信号谱采集速度至关重

要。表1是几类不同技术路线中子自旋回波谱仪的特色,供读者参考。

与此同时,中国绵阳研究堆(China Mianyang Research Reactor, CMRR)正在建设调试一条中子自旋回波谱仪束线C32,其借鉴了德国RESEDA采用的三臂双模式布局,由一条入射主磁场臂、一条LNRSE出射臂、一条MIEZE出射臂构成,分别安装两台谱仪。相较于日本VIN-ROSE采用的TNRSE只有较小的关联时间取值范围,CMRR的C32采用的布局和设计选型既能使用LNRSE获取较大的关联时间取值范围,又能利用小体积线圈的优势,获得较大散射角度调整范围,还能在同一条束线上复用入射引导磁场的线圈组和射频翻转器,设置另一套MIEZE设备,实现更多探测功能。其中LNRSE谱仪已于调试中成功获得自旋

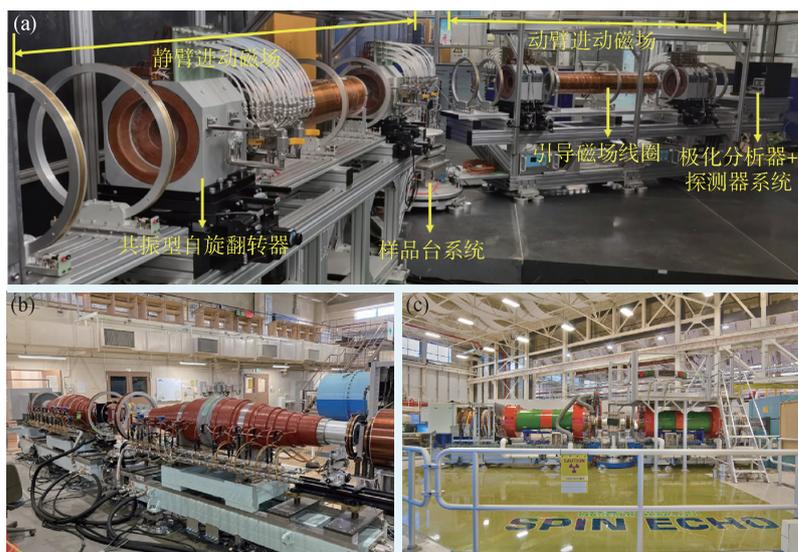


图3 中子自旋回波谱仪设备 (a)中国绵阳研究堆(CMRR)建设调试中的LNRSE谱仪设备;(b)日本iNSE谱仪设备<sup>[35]</sup>,使用了特殊形状的螺线管电磁线圈结构<sup>[36]</sup>;(c)美国国家标准与技术研究院的CHRNS-NSE谱仪<sup>[26]</sup>

表1 几类不同技术路线的中子自旋回波谱仪在建设和性能方面的大体异同及其代表装置的特色

技术	装置差异	进动磁场方案	代表装置及特点
传统中子自旋回波(NSE)	线圈体积较大、质量较大(大于3 t)、功耗较高(大于100 kW)	螺线管线圈组(相对简单)	IN15,可获得相当长的关联时间,极限可达1 $\mu$ s
		反亥姆霍兹线圈组(体积大)	WASP,相当大的可探测散射角度,5°—135°
新型共振型中子自旋回波(NRSE)	线圈体积较小、质量较小(小于100 kg)、功耗较低(小于20 kW)	TNRSE线圈组合(较难)	VIN-ROSE,最长关联时间不到1 ns,有MIEZE模式
		LNRSE线圈组合(较难)	RESEDA,最长关联时间超过50 ns,有MIEZE模式

回波信号<sup>[37]</sup>，最大关联时间达到 14 ns，单色中子可取波长范围 0.4—1.2 nm。这台从无到有、自主研发谱仪的落成，为中国实现了中子自旋回波谱仪零的突破，也是国际上继 RESEDA 之后的第二台采用 LNRSE 技术的先进装置。虽然中国的首台中子自旋回波谱仪在测试中的个别指标目前仍不及国际顶尖装置的水平，但它的设计理论极限极高，理论最长关联时间可达 1 μs，中国的科学家和工程师们还在不断探索并努力优化设施，追赶国际先进水平，终将让国内的科研工作者们可以不出国门就穿上最先进的中子自旋回波设备，开展最前沿的研究。

### 3 中子自旋回波探测蛋白质结构域动力学的理论与模型

#### 3.1 蛋白质结构域建模

蛋白质在溶液中的动力学行为包括平移、旋转，以及蛋白质内部运动。大多数蛋白质的空间尺寸都很小，在数纳米范围，蛋白质复合体的尺寸可达数十纳米，中子自旋回波技术可探测的时空尺度很适合应用于研究蛋白质在溶液中的结构域动力学。

若想充分利用中子自旋回波揭示蛋白质中粒子的动力学行为，首先需要对其静态结构有完善的了解。可以通过电子显微镜、晶体学衍

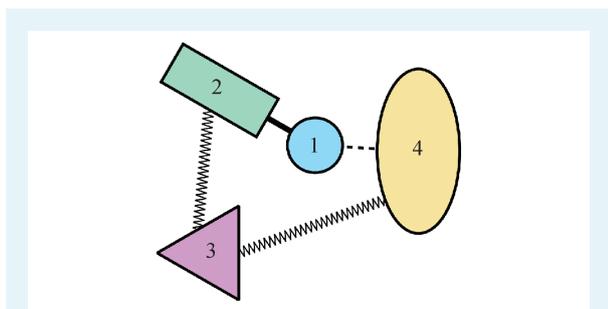


图4 一个包含4个域的蛋白质二维结构示意图，以球棍和串珠弹簧模型近似描述其结构域之间的动力学特征。实际的蛋白质分子大多呈现更为复杂的三维结构，但往往仍然可以沿用球棍和串珠弹簧模型在三维空间中近似描述其结构与动力学行为

射、小角散射、NMR 等方式，先获取研究对象的大体结构，再使用理论模型建立其运动张量，拟合有效扩散系数  $D$ 。得到其中各项动力学系数。受限于实验设备实际可探测的尺寸分辨率，一种经过实践可行的折中做法是：将蛋白质大分子中可区分的结构域进行划分，建立刚体粒子的球棍模型，将其结构域之间的运动近似为弹性谐振运动或过阻尼运动<sup>[38, 39]</sup>等，由此拟合蛋白质内部结构域(次级粒子)的运动张量(图4)。另外可以结合第一性原理计算、分子动力学模拟等手段<sup>[40, 41]</sup>，对其结构和动态行为进行更深入的研究和分析。

#### 3.2 蛋白质结构域动力学理论模型

经过对前人工作的系统性整理与分析，刘云于 2017 年发表成果<sup>[42]</sup>，采用动态解耦近似的方法，提出了蛋白质溶液状态下中间散射函数的形式理论。对于任意浓度的蛋白质溶液，零点归一化的中间散射函数有如下形式：

$$\frac{I(Q, t)}{I(Q, 0)} = \frac{S_{\text{self}}(Q, t) + \beta(Q) [F(Q, t) - F_s(Q, t)]}{1 + \beta(Q) [S(Q) - 1]}, \quad (1)$$

其中， $Q$  表示散射矢量的长度。此表达式将蛋白质不同部位的结构与不同的运动模式区分开来，其中  $S_{\text{self}}(Q, t)$  包含了单个蛋白质的平动、转动和其内部不同部位的运动信息； $\beta(Q)$  只与单个蛋白质的形状有关，而  $S(Q)$  代表的是各个蛋白质分子之间位置关联的结构因子； $F(Q, t)$  与  $F_s(Q, t)$  都只包含蛋白质分子的平动，二者分别表示粒子的集体运动与单粒子运动。由此，经由这套理论框架描述，可以通过分析中子自旋回波实验的数据，得到蛋白质中各个结构域的动力学信息。

在蛋白质分子动力学研究中，如果只关注单个蛋白质大分子的内部运动，通常把蛋白质制备为稀溶液，一般可以认为浓度在 0.3 % w/v (质量/体积，取 g/mL) 以下的溶液满足稀溶液模型。利用稀溶液极限下  $S(Q) \rightarrow 1$  的近似，有  $F(Q, t) \approx F_s(Q, t)$ 。

此时，中间散射函数只包含  $S_{\text{self}}(\mathbf{Q}, t)$  一项，即蛋白质在稀溶液状态下，中子自旋回波测得的就是单个蛋白质分子的动力学信息。2005年，卜子梅等人结合了 J. M. Schurr 的工作，在 高分子高斯链 (串珠弹簧随机链) 模型的基础上，将蛋白质大分子拆解、抽象为刚性的结构域粒子，结构域之间有软性连接，考虑粒子间的相对平移和转动，发表了关于中子自旋回波实验应用于探测稀溶液中蛋白质结构域动力学的模型<sup>[43]</sup>：

$$\frac{I(\mathbf{Q}, t)}{I(\mathbf{Q}, 0)} = e^{-Q^2 D_c(\mathbf{Q})t}, \quad (2)$$

$D_c(\mathbf{Q})$  为有效扩散系数，

$$D_c(\mathbf{Q}) = \frac{k_B T}{Q^2} \times \frac{\sum_j \langle b_j b_l (\mathbf{Q} \cdot \mathbf{H}_{jl}^T \cdot \mathbf{Q} + \mathbf{L}_j \cdot \mathbf{H}_{jl}^R \cdot \mathbf{L}_l) \cdot e^{i\mathbf{Q} \cdot (\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_l)} \rangle}{\sum_j \langle b_j b_l \cdot e^{i\mathbf{Q} \cdot (\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_l)} \rangle}, \quad (3)$$

上式中， $b_j$  和  $b_l$  分别是蛋白质分子中的粒子 (能散射中子的抽象点)  $j$  和  $l$  中全部原子的平均相干散射长度； $\mathbf{r}_j$  和  $\mathbf{r}_l$  则分别是粒子  $j$  和  $l$  的中心相对整个大分子中心的位移，即  $\sum_j \mathbf{r}_j = 0$  始终成立； $\mathbf{H}_{jl}^T$  是粒子间的相对位移张量； $\mathbf{H}_{jl}^R$  是粒子间的相对转动张量；转矩  $\mathbf{L}_j = \mathbf{r}_j \times \mathbf{Q}$ ，且  $\mathbf{L}_l$  同理可得。此模型重点描述了中子自旋回波探测稀溶液中粒子间的相对运动，在散射过程参数恰当的情况下，同样适用于探测束流为 X 光的散射实验，以及其他动力学行为符合串珠弹簧链模型大分子在稀溶液中的散射实验。

对于蛋白质浓溶液体系，R. Biehl 等人在 2011 年提出<sup>[38]</sup>，可以将浓溶液中蛋白质域的运动行为近似为非球形刚性粒子在粘性液体中的布朗运动。蛋白质间的平移运动导致的信号不可简单忽略，这部分平移运动贡献的扩散系数记作  $D_T(\mathbf{Q})$ 。浓溶液中蛋白质转动贡献的扩散系数记作  $D_R$ 。那么将中子自旋回波在蛋白质浓溶液中探测到的信号减去全部蛋白质刚体模型的平移  $D_T$  和转动  $D_R$  导致的信号，便可获得因蛋白质内部结构域运动导致的信号  $P_1(\mathbf{Q})$ <sup>[44]</sup>。

### 3.3 几种模型方法的异同

无论是早期卜子梅等人提出的有效扩散系数方法<sup>[43]</sup>，分析稀溶液中蛋白质的结构域运动模式；或是 R. Biehl 等人后来进一步发展出的中间散射函数模型<sup>[38]</sup>，提取浓溶液中蛋白质的结构域运动信息；还是新近刘云提出的动态解耦近似，覆盖描述中子自旋回波中间散射函数和有效扩散系数，用于研究各种浓度中的蛋白质结构域运动<sup>[42, 44]</sup>；它们都为中子自旋回波实验技术应用于研究蛋白质结构域运动起到了理论上的指导作用。中子自旋回波研究蛋白质结构域动力学的数据分析过程大致可归结为：构建蛋白质的结构域模型，调整其中的动力学参数，比对拟合相应浓度中蛋白质样品的中子自旋回波信号。

早期的模型方法对于蛋白质在不同溶液浓度中行为的近似处理较为传统，应用范围相对受限，但也足以在对应浓度实验的数据分析中发挥作用；新近提出的模型吸纳了前人对于单个蛋白质结构域动力学行为分析方法的优点，通过将溶液中蛋白质的群体运动和内部结构域运动贡献的信号互相解耦的近似，建立起分析各种浓度溶液中蛋白质结构域运动信息的方法模型。然而由于中子自旋回波谱仪设备较少、实验条件苛刻，使用中子自旋回波实验研究蛋白质结构域动力学的成果数量仍然相对匮乏，各类模型方法的泛用性和可靠性依旧有待更多实验进行验证和进一步发展。

## 4 中子自旋回波研究蛋白质结构域动力学的应用案例

在具备了前述理论模型可供参考使用的条件下，使用中子自旋回波研究蛋白质结构域动力学变得有理可循。随着理论模型的持续发展和不断完善，再有使用中子作为探测束流时可以凸显或掩盖样品部分信号的氘代<sup>[45, 46]</sup>技术加持，已经有一些优秀的成果展示了使用中子自旋回波实验研究蛋白质结构域运动性质的独特优势。

#### 4.1 对实验数据直接进行拟合分析

使用中子自旋回波研究蛋白质的最早期尝试之一是由 M. C. Bellissent-Funel 以及 A. Gall 等人在 1998 年完成并发表<sup>[47, 48]</sup>，他们使用中子自旋回波对氘代处理的光合反应中心和捕光复合体 2 两种蛋白质进行了动力学方面的比对研究。

在 2005 年发表的成果中<sup>[43]</sup>，卜子梅等人利用中子自旋回波实验研究 Taq DNA 聚合酶，且一并提出了中子自旋回波研究稀溶液中蛋白质结构域的建模分析方法。而后 B. Farago 等人在 2010 年发表成果<sup>[49]</sup>，沿用稀溶液中的结构域建模方法，解析了 NHERF1 与 FERM 复合体蛋白内部结构域间

的运动<sup>[50]</sup>。实验上，他们使用氘代技术对 NHERF1-FERM 复合体中特定蛋白质的氢原子进行氘代处理，以此凸显和掩盖特定区域的中子自旋回波信号；分析上，他们将每一个结构域单独看作一个刚性粒子，建立该复合体蛋白质结构域的运动模型，计算拟合不同部位氘代样品经中子自旋回波实验获得的  $D_e$ ，以证明所建立的结构和弹性运动模型可以贴切地反映蛋白质内部结构域真实的动力学性质(图 5)<sup>[5, 49, 51]</sup>。

#### 4.2 综合多种手段与模型方法研究复杂体系

在考虑蛋白质浓溶液的中子自旋回波实验数据

处理并解析与蛋白质内部结构域动力学性质时，R. Biehl 等人分别以 5% w/v 浓度的 PGK 酶蛋白溶液和 5% w/v 浓度的 ADH 酶蛋白溶液为研究对象<sup>[50]</sup>，随后于 2012 年与 N. Smolin 等人合作，使用 GROMACS<sup>[52]</sup>软件对此 3PGK 实验体系进行了分子动力学(molecular dynamics, MD)计算模拟<sup>[40]</sup>，得出了和先前实验相吻合(在可接受的差异范围内)的结果，并将蛋白质内部的结构域运动进一步可视化(图 6)。随后 J. C. Smith 课题组对 PGK 蛋白溶液体系继续深入研究<sup>[53]</sup>，使用 SANS 实验和 MD 模拟结合中子自旋回波数据，研究解释了 PGK 结构域内部扩散系数与其内部结构因子呈反比关系背后的原因。在他们的另一个工作中对汞离子还原酶 MerA 及其柔性连接复合体 fl-MerA (flexible linker, fl) 进行了多视角的研究，在原子级分辨率解析了其静态结构和结构域间的动力学<sup>[54]</sup>。

随着用多种实验综合表征、

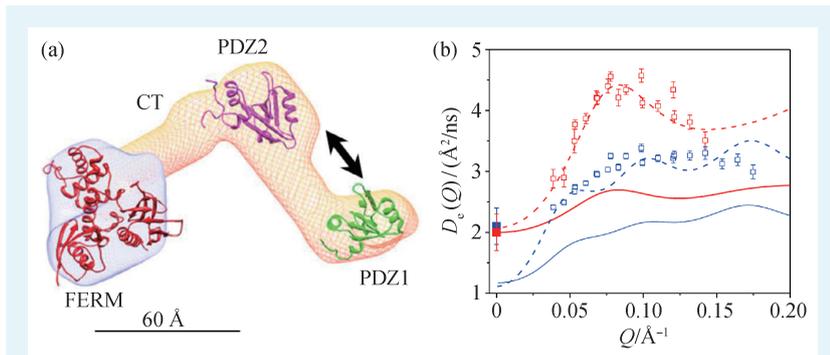


图5 利用中子自旋回波研究 NHERF1-FERM 蛋白质复合体的结构域运动，使用刚体和软体模型分析实验数据<sup>[5, 49, 51]</sup> (a) NHERF1-FERM 蛋白质复合体的结构模型，用于建立其运动张量；NHERF1 中有两个 PDZ 域，FERM 与其中的 PDZ2 端相连的 CT 结合，其与 PDZ1 的距离大约 11 nm，会产生相对明显的结构域间的运动；(b) 对中子自旋回波数据处理得出的有效扩散系数进行拟合分析，样品均为 NHERF1-FERM 蛋白质复合体，红色数据(方块)采集自 FERM 蛋白经氘代标记的复合体样品，蓝色数据(方块)采集自非氘代的复合体样品；实线使用刚体模型拟合，虚线使用考虑了结构域间动力学行为的弹性模型拟合

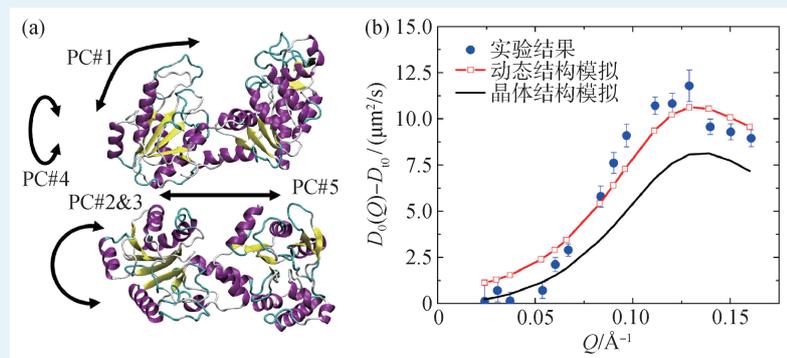
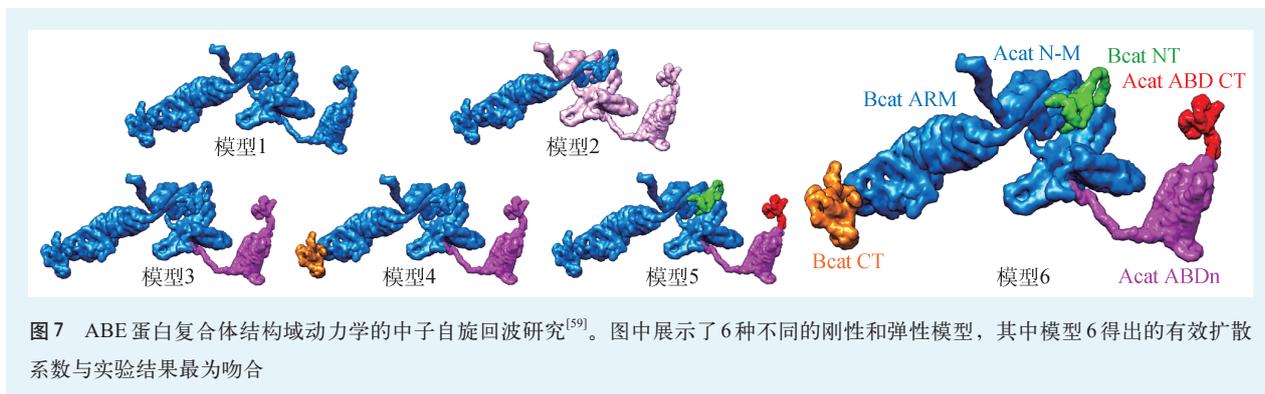


图6 (a)磷酸甘油酸激酶 PGK 的 5 种结构域运动主成分(PC)示意图(计算分析所得运动的主成分)；(b) PGK 动力学性质的中子自旋回波实验与 MD 模拟计算的结果比较<sup>[40]</sup>



共同分析方法的展开，蛋白质内部的大尺度运动也可被中子自旋回波实验观测到。在2015年发表的一篇关于Y型人类免疫球蛋白IgG内部结构的研究中<sup>[55]</sup>，L. R. Stingaciu等人使用了解耦方法建立模型，分析了该蛋白质氘代样品的中子自旋回波实验数据，并结合 SAXS 和 DLS 实验，揭示了 IgG 三个刚体结构域之间的弹性连接可由简单的谐振势描述，展现了复杂的免疫系统背后有着简单的动力学原理。M. Katava 等人在2016年的工作<sup>[56]</sup>中使用中子自旋回波实验结合 SAXS 和 DLS 实验，以及 MD 模拟软件 GROMACS 提供的 PCA(主要成分分析)和粒子轨迹追踪等分析手段，研究了真核生物乳酸脱氢酶 LDH 蛋白在温度改变的影响下产生较大范围的内部运动，发现其类似于在细菌 LDH 上观察到的别构效应。J. C. Smith 组的工作<sup>[57]</sup>则展示了结合中子自旋回波、中子背散射以及 MD 模拟研究细胞色素蛋白 CYP101 在两种解析结构间转变的结构域动力学行为。

时至2021年，B. Farago 和 I. D. Nicholl 等人在已使用中子自旋回波研究  $\alpha$ -catenin 蛋白质结构域动力学的基础上<sup>[58]</sup>，又发表了对 ABE (E-cadherin· $\beta$ -catenin· $\alpha$ -catenin) 复合物结构域动力学的中子自旋回波研究<sup>[59]</sup>。ABE 复合蛋白是粘附分子与细胞骨架相连的重要蛋白网络，有着更为复杂的结构域间运动行为，也是经典的蛋白质复合物研究对象。他们对三个组成蛋白分别进行氘代并组合成复合物，对特定结构域起到选择性氘代的效果，实现不同结构域中子散射信号强度的区分，以利用中子自旋回波获取各个结构域的动力学行为。通过建立不同结构域运

动模型，结合 SAXS 实验和 MD 计算模拟结果，他们成功地分析了 ABE 复合物在纳秒到微秒时间尺度上的激活行为，并进一步从熵的角度解释了复合物与特定肌动蛋白的结合行为受到张力调控(图7)。

## 5 总结与展望

经历了50余年<sup>[16]</sup>的理论发展与技术进步，中子自旋回波谱仪设备在世界各地的中子源<sup>[60-62]</sup>建设落地，还有若干谱仪正在建设中。中子自旋回波技术在各个学科领域的应用都取得了长足进展，尤其是在研究软物质和生命科学方面的优势逐渐为更多人所知。它的探测精度高、时空信息覆盖范围广，相较于使用其他束流的探测实验手段，中子自旋回波技术使用冷中子作为探针，其能量较低、不易破坏生物样品分子结构，可以采用氢的同位素替代手段实现探测信号的衬度变换，获取特定位点、特定区域、特定界面的结构、成键、运动等信息，使得中子自旋回波成为研究蛋白质单体、多蛋白复合物、蛋白-DNA 复合物以及其他各种生物大分子单体或复合体的内部结构域动力学特性方面的最佳实验手段之一。针对蛋白质结构域这些动力学特性的研究可以辅助科学家理解许多重要生物过程的动态机理，还能对药理的研究提供参考与帮助，促进新型药物的研发和筛选。

然而，尽管中子自旋回波实验原理和方法提出至今已有50余年，全球范围内中子自旋回波谱仪设施总量稀少、实验样品条件苛刻、数据采集

时间偏长、数据分析处理较难等客观因素仍旧制约着中子自旋回波的广泛使用,加之其相对较短的发展历史,与X射线散射等其他实验探测手段相比,已发表的中子自旋回波实验研究成果并不算多,利用中子自旋回波实验研究生物物质、蛋白质结构域动力学的成果数量更是相对匮乏,模型方法的泛用性和可靠性依旧有待进一步发展<sup>[44]</sup>。将中子自旋回波技术应用于研究蛋白质结构域动力学时,要与其他实验,如小角度、广角度、掠入射的中子散射,还有X射线散射、单分子荧光光谱、拉曼光谱、红外光谱、非弹性X射线散射、非弹性中子散射、核磁共振、DLS等等实验结果相结合<sup>[41]</sup>,方可实现对研究对象的静态结构和动态行为有多角度、多因素的了解,联合多方面实证结果对中子自旋回波实验数据进行分析,解出贴近真实情况的动力学特征。虽然目前中国还没有对用户开放使用的中子自旋回波谱仪,但随着绵阳CMRR的LNRSE谱仪的落成,国内的科研工作者们在不久的将来就可以方便地用上世界一流的中子自旋回波谱仪设备,对包括蛋白质结构域动力学在内的各类适用中子自旋回波研究的前沿课题进行研究。

### 参考文献

- [1] Mezei F. Neutron Spin Echo. In: Lecture Notes in Physics, Vol.128. Springer, 1980
- [2] 韩晶晶, 储祥蓄. 物理, 2019, 48(12): 780
- [3] Shrestha U R, Mamontov E, O'Neill H M *et al.* The Innovation, 2022, 3(1): 100199
- [4] Chu X Q, Gajapathy M, Weiss K L *et al.* J. Phys. Chem. B, 2012, 116(33): 9917
- [5] Callaway D J, Bu Z M. Curr. Opin. Struct. Biol., 2017, 42: 1
- [6] Schrödinger E. What is Life? The Physical Aspect of the Living Cell. Cambridge University Press, 1944
- [7] Keller T, Golub R, Gähler R. In: Pike R, Sabatier P eds. Scattering. Academic Press, 2002. pp.1264—1286
- [8] Jiang C Y. AAPPS Bull., 2023, 33(1): 21
- [9] Coulter K P, McDonald A B, Happer W *et al.* Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 1988, 270(1): 90
- [10] Greene G L, Thompson A K, Dewey M S. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 1995, 356(2): 177
- [11] Hino M, Oda T, Yamada N L *et al.* Journal of Nuclear Science and Technology, 2017, 54(11): 1223
- [12] Schneider M, Schanzer C, Böni P *et al.* Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 2020, 976: 164272
- [13] Maruyama R, Yamazaki D, Akutsu K *et al.* Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 2018, 888: 70
- [14] Luo X, Cui T, Chu X. Front. Phys., 2023, 11: 1279007
- [15] Дрaбкин ГМ, Забидаров Е И, Касман Я А *et al.* ЖЭТФ, 1969, 29: 261 (in Russian)
- [16] Mezei F. Z. Physik., 1972, 255(2): 146
- [17] Golub R, Gähler R. Physics Letters A, 1987, 123(1): 43
- [18] Nagao M, Yamada N L, Kawabata Y *et al.* Physica B, 2006, 385-386: 1118
- [19] Krautloher M, Kindervater J, Keller T *et al.* W. Review of Scientific Instruments, 2016, 87(12): 125110
- [20] Franz C, Soltwedel O, Fuchs C *et al.* Nuclear Instruments and

- Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment, 2019, 939:22
- [21] Farago B. *Physica B*, 1999, 267-268:270
- [22] Schleger P, Alefeld B, Barthelemy J F *et al.* *Physica B*, 1997, 241-243:164
- [23] Fouquet P, Ehlers G, Farago B *et al.* *Journal of Neutron Research*, 2007, 15(1):39
- [24] Zanotti J M, Combet S, Klimko S *et al.* *Neutron News*, 2011, 22(4):24
- [25] Monkenbusch M. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 2010, 21(2):30
- [26] Rosov N, Rathgeber S, Monkenbusch M. In: *Scattering from Polymers*, Vol 739. ACS Symposium Series. American Chemical Society, 1999. pp.103—116
- [27] Endo H, Oda T, Hino M *et al.* *Physica B*, 2019, 564:91
- [28] Kajimoto R, Yokoo T, Nakamura M *et al.* *Physica B*, 2019, 562:148
- [29] Holderer O, Monkenbusch M, Schätzler R *et al.* *Measurement Science and Technology*, 2008, 19(3):034022
- [30] Holderer O, Ivanova O. *JLSRF*, 2015, 1: A11
- [31] Pasini S, Holderer O, Kozielski T *et al.* *Rev. Sci. Inst.*, 2019, 90(4):043107
- [32] Georgii R, Weber T, Brandl G *et al.* *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 2018, 881:60
- [33] Groitl F, Keller T, Quintero-Castro D L *et al.* *Review of Scientific Instruments*, 2015, 86(2):025110
- [34] Pappas C, Triolo A, Mezei F *et al.* *Neutron Spin Echo Spectroscopy: Basics, Trends and Applications*. In: Mezei F, Pappas C, Gutberlet T eds. *Lecture Notes in Physics*. Springer, 2003. pp.35—47
- [35] iNSE ISSP, UTokyo. 中性子スピネコー分光器. 2023. <https://www.issp.u-tokyo.ac.jp/labs/neutron/inst/NSE/index.html> (in Japanese)
- [36] Takeda T, Komura S, Seto H *et al.* *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 1995, 364(1):186
- [37] Liu B, Wang Z, Wang Y *et al.* *J. Inst.*, 2020, 15(04):P04007
- [38] Biehl R, Monkenbusch M, Richter D. *Soft Matter*, 2011, 7(4):1299
- [39] Bu Z M, Callaway D J E. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. In: Donev R, ed. *Protein Structure and Diseases*, Vol 83. Academic Press, 2011. pp.163—221
- [40] Smolin N, Biehl R, Kneller G R *et al.* *Biophysical Journal*, 2012, 102(5):1108
- [41] Pan J, Cheng X, Sharp M *et al.* *Soft Matter*, 2014, 11(1):130
- [42] Liu Y. *Phys. Rev. E*, 2017, 95(2):020501
- [43] Bu Z M, Biehl R, Monkenbusch M *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, 102(49):17646
- [44] Liu Y. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2019, 42:147
- [45] Ankner J F, Heller W T, Herwig K W *et al.* *Curr. Protoc. Protein Sci.*, 2013, 72:17.16.1
- [46] Hore M J A, Hammouda B, Li Y *et al.* *Macromolecules*, 2013, 46(19):7894
- [47] Bellissent-Funel M C, Daniel R, Durand D *et al.* *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, 120(29):7347
- [48] Gall A, Seguin J, Bellissent-Funel M C *et al.* *Nanosecond Protein Dynamics of the RC and LH Complexes as Measured by Coherent Inelastic Neutron Spin-Echo Spectroscopy*. In: Garab G ed. *Photosynthesis: Mechanisms and Effects: Volume I-V: Proceedings of the XIth International Congress on Photosynthesis*. Springer Netherlands, 1998. pp.4373—4376
- [49] Farago B, Li J, Cornilescu G *et al.* *Biophysical Journal*, 2010, 99(10):3473
- [50] Inoue R, Biehl R, Rosenkranz T *et al.* *Biophysical Journal*, 2010, 99(7):2309
- [51] Callaway D J E, Bu Z M. *Methods Enzymol.*, 2016, 566:253
- [52] Abraham M J, Murtola T, Schulz R *et al.* *SoftwareX*, 2015, 1-2:19
- [53] Hong L, Smolin N, Smith J C. *Phys. Rev. Lett.*, 2014, 112(15):158102
- [54] Hong L, Sharp M A, Poblete S *et al.* *Biophys J.*, 2014, 107(2):393
- [55] Stingaciu L R, Ivanova O, Ohl M *et al.* *Sci. Rep.*, 2016, 6(1):22148
- [56] Katava M, Maccarini M, Villain G *et al.* *Sci. Rep.*, 2017, 7(1):41092
- [57] Hong L, Jain N, Cheng X *et al.* *Sci. Adv.*, 2016, 2(10):e1600886
- [58] Nicholl I D, Matsui T, Weiss T M *et al.* *Biophysical Journal*, 2018, 115(4):642
- [59] Farago B, Nicholl I D, Wang S *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2021, 118(13):e2025012118
- [60] Sun G, Zhang C, Chen B *et al.* *Neutron News*, 2016, 27(4):21
- [61] Carpenter J M. *Nat. Rev. Phys.*, 2019, 1(3):177
- [62] Shukla M, Ray N, Patel T. *Major Neutron Source Facilities Across the Globe* In: Aswal DK, Sarkar P S, Kashyap Y S eds. *Neutron Imaging: Basics, Techniques and Applications*. Springer, 2022. pp.97—162
- [63] Thompson A P, Aktulga H M, Berger R *et al.* *Computer Physics Communications*, 2022, 271:108171

# 精密 激光二极管控制器

## LD 控制器

- 100 mA, 500 mA 或 2 A 电流源
- 超低漂移 (10 ppm/°C)
- <1.1  $\mu$ A 电流噪声
- GPIB, RS-232 & 以太网
- 多种激光保护功能

此LDC501系列激光二极管控制器是您控制激光二极管电流和温度的理想仪器。

具有一个100 mA, 500 mA 或 2 A 的电流源和一个集成的36 W温度控制器, 这些仪器拥有全面的激光二极管保护措施, 即时恒功率/恒电流模式切换, 和线性电源。

与同类竞争产品相比, 此LDC501系列提供更好的热漂移, 更高的稳定性, 更低的噪声, 及一个具自动调整功能的TEC控制器。

## TEC 控制器

- 高稳定度(0.0005°C/°C)
- <0.1 mA 纹波
- 36 W 输出功率
- 具自动调整PID



LDC500系列

... \$3850 (全球起价)

**SRS** Stanford Research Systems

[www.thinkSRS.com/products/lcd501.html](http://www.thinkSRS.com/products/lcd501.html) • Tel: 408-744-9040

先锋科技股份有限公司  
电话: 86-10-6263-4840  
传真: 86-10-8261-8238  
Email: sales@teo.com.cn

欧陆科技有限公司  
电话: 86-10-6800-8213/16/17  
传真: 86-10-6800-8212  
Email: euro-tech.bj@euro-tech.com

北京东方科泰科技发展有限公司  
电话: 86-10-5129-4988  
传真: 86-10-5824-6090  
Email: sales@bost-ltd.com



请扫描二维码了解更多产品详情