

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：82110

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18828

研究課題名（和文）中性子非弾性散乱によるアモルファス界面の分子選択的なフォノンスペクトロスコピー

研究課題名（英文）molecular selective phonon spectroscopy at amorphous interface by inelastic neutron scattering

研究代表者

中川 洋（Nakagawa, Hiroshi）

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門 原子力科学研究所 物質科学研究センター・研究副主幹

研究者番号：20379598

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：アモルファス状態にある蛋白質のテラヘルツ周波数領域の中性子非弾性散乱スペクトルに観測されるボゾンピークに対する水和・温度・圧力効果を系統的に調べ、ボゾンピークが蛋白質分子内部の空隙と関連していることを見出した。さらに、蛋白質表面で集団的に揺らぐ水和水のフォノンモードとボゾンピークがカップルしていることを示唆する結果を得た。これら結果は、中性子非弾性散乱実験や分子シミュレーションによる解析により、アモルファス状態にある水とタンパク質のナノ熱物性をフォノンの観点から解析できることを示唆する結果であり、中性子によるナノ熱物性解析の重要性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来のナノ熱物性研究では、結晶性の物質に比べアモルファスのフォノンの取り扱いが難しかった。本研究では、重水素化ラベル法や分子シミュレーションを活用した革新的な中性子ナノ物性計測法を開発し、これまでアプローチが難しかったアモルファス関連物質を、ナノ熱物性研究の具体的な研究対象とするための研究基盤を創出した。特に、これまでバルクの巨視的な熱物性で解析されることが多かった生体・食品系のアモルファス物質に着目して、ナノ熱物性が生体保護物質の保存作用にどのように関係しているかの手掛かりを得た。

研究成果の概要（英文）：We systematically investigated the hydration, temperature and pressure effects on the boson peaks observed in the inelastic neutron scattering spectra in the terahertz frequency range of proteins in the amorphous state, and found that the boson peaks are related to the cavities inside the protein molecules. Furthermore, our results suggested that boson peaks couple with phonon modes of hydrated water that collectively fluctuate at the protein surface. These results suggest that the nano-thermal properties of hydrated proteins in the amorphous state can be analyzed from the view point of the phonon by inelastic neutron scattering experiments and molecular dynamics simulations, indicating the importance of neutron-based analysis of nano-thermal properties.

研究分野：フォノンエンジニアリング

キーワード：フォノンスペクトロスコピー 中性子非弾性散乱 フォノン ナノ熱計測 アモルファス 分子シミュレーション 安定同位体ラベル ボゾンピーク

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

熱工学においてナノスケールでの熱物性を理解し、それに基づいて熱の効率的な制御・利用につなげるためには、フォノン概念を基軸にしたナノ熱計測技術の開発が必要である。フォノンの分散や振動状態密度の計測法として、原理的に中性子非弾性散乱は有利である。光を用いた他の分光法と異なりスペクトルの選択則がないことも、分子シミュレーションや熱分析と定量的に比較できるという特長につながっている。中性子非弾性散乱をナノ熱計測に位置付けるためには実験データ解析や解釈に探索的要素が多く、物質界面の水をフォノンとして扱うことは萌芽的であるが、熱工学に対する波及効果が期待でき、挑戦性に大きな意義がある。またアモルファス界面のフォノンは、規則構造の結晶と比べて研究例が少ないため、このような研究の取り組みの意義は大きい。

2. 研究の目的

本研究では、アモルファス状態にあるタンパク質界面の水に着目し、重水素化ラベルを活用した中性子非弾性散乱によって分子選択的にフォノンを計測する。また、分子シミュレーションにより界面水の構造を可視化し、ナノ構造の視点から水のフォノンスペクトルを解釈する。ナノ構造・熱物性とマクロ物性との関係性を解明し、実用的な中性子ナノ熱物性計測技術を確立させる。本研究では、重水素化ラベル法や分子シミュレーションを活用した革新的な中性子ナノ熱物性計測法を開発し、これまでアプローチが難しかったアモルファス関連物質を、ナノ熱物性研究の具体的な研究対象とするための研究基盤を作る。これまでバルクの巨視的な熱物性で解析されることが多かった生体・食品系のアモルファス物質に着目して、ナノ熱物性が生体保護物質の保存作用とどのように関係しているかを明らかにする。本研究は、フォノンという熱輸送の因子を、水和水と周囲分子の結合エネルギーのような平衡状態における熱力学量と合わせて解釈することで、ナノとマクロの異なる階層の現象をつなげようとする提案である。両者を関連付けるには探索的要素が多く萌芽的と言えるが、積極的にナノ熱輸送を制御する方針につながるため挑戦性は高い。

3. 研究の方法

本研究では、成分の一部を重水素化した試料調製によって、分子選択的に中性子散乱スペクトルを取得した。中性子散乱スペクトル解析とナノ構造解析には分子シミュレーション等を利用した。糖には、生体物質の保護作用が高いとされるトレハロースを用いて、比較を行った。具体的には、タンパク質水和水のフォノンと水和構造の関係性、タンパク質のガラス状態の分子運動とフォノンの関係性等を調べた。

4. 研究成果

「タンパク質+水」の2成分系で、温度や水分量を段階的に変えた試料を用いて中性子非弾性散乱スペクトルの解析を行った。その結果、高エネルギー振動スペクトルにはあまり変化は見られない一方で、低エネルギー領域に顕著な違いが確認された。振動状態密度を求めたところ、デバイの周波数2乗法則からの過剰振動が確認できた。また、様々な水分量で行ったタンパク質の分子シミュレーションにより、水分量の増加に伴って水和水ダイナミクスが活発になることが分かった。そこで、中性子非弾性散乱実験によりタンパク質の水和水ダイナミクスを解析するため、軽水と重水の同位体コントラストを活用した解析法により、タンパク質の水和水の中性子非弾性散乱を求め(図 1A、B)、様々な水分量でのタンパク質の水和水の拡散係数と水分子間の水素結合の寿命を解析した。さらに、実験試料と同じ水分状態での分子シミュレーションを行い、水和水の間に形成される水素結合の時間相関関数から(図 1C、D)、水素結合の寿命を計算した。その結果、実験と計算の両者から得られる水和水ダイナミクスが水分量依存性も含めて定量的に良い一致を示すことを実証した。これにより、分子シミュレーションで得られる水和水の分子運動性の情報の妥当性が中性子非弾性散乱で実証された。このように、同位体ラベル法によって水とタンパク質から水和水の情報を分離することが、水和水のフォノン解析に有効であることを示唆するデータを得た。一連の解析により、水分量の増加に伴う水和水の水素結合のクラスターの水素結合状態の変化が水素結合の寿命に関係していることが分かり、それが蛋白質のテラヘルツ周波数領域の低エネルギーの振動状態密度と関連していることが示唆された。

さらにアモルファス状態のタンパク質のテラヘルツ周波数領域の中性子非弾性散乱スペクトルに対する水和・温度・圧力効果を調べ、分子シミュレーションによって分子構造を調べた(図 2)。分子シミュレーションによってタンパク質およびタンパク質内に存在する空洞(キャビティ)の体積を計算した。それにより、水和・冷却・加圧によってタンパク質の体積が減少することを示し、特に水和の効果が大きいことが分かった。さらに、タンパク質と体積特性ボソニックとの相関関係を見出し、環境応答するタンパク質の体積特性とダイナミクスの関係性についてのスケールリング則を見出した。これらの研究により、水和に応答して生じるタンパク質の中性子散乱スペクトルの変化について、分子シミュレーションを用いて解析することで、タンパク質の分子構造とダイナミクスとを対応させて解釈することを可能にした。アモルファス状態を扱うタンパク質の物性研究は、物性と構造との関係性が未解明な点も多い。中性子非弾性散乱は構造情報を本質的に含まないため、実験データを解析しているだけでは分子構造と対応付けてダイナミクスを解釈することが難しかった。このような実験手法が持つ弱点を、分子シミュレーション

による解釈による補足や、試料調製の工夫により克服することで、生体物質のアモルファス物性研究における中性子非弾性散乱の利用法を提示した。明らかにしたタンパク質と水和水との相互作用機構は、タンパク質表面で集団的に揺らぐ水和水のフォノンモードとボソンピークがカップルしていることを示唆する結果である。これら結果は、中性子散乱実験や分子シミュレーションによる解析により、アモルファス状態にある水とタンパク質のナノ熱物性をフォノンの観点から解析できることを示唆する結果であり、中性子によるナノ熱物性解析の重要性を示した。

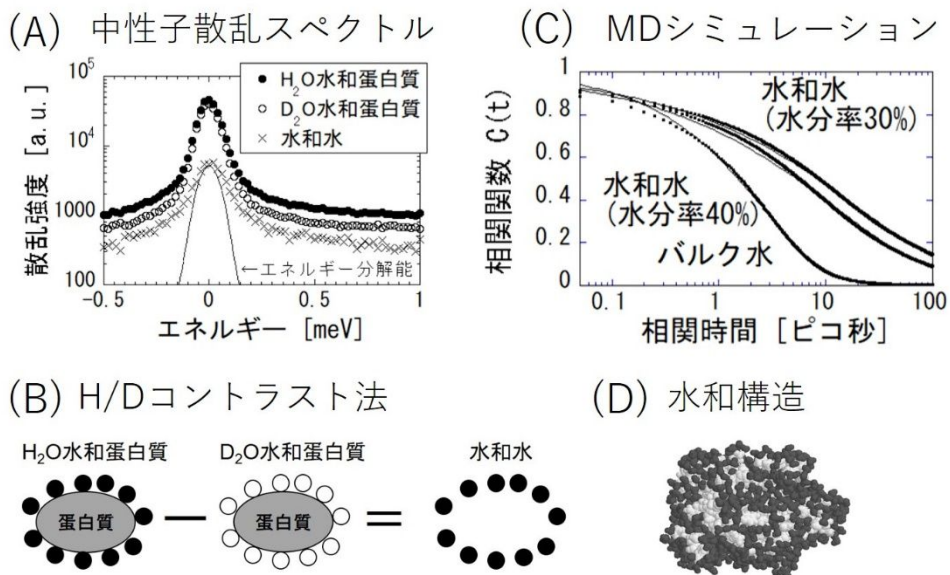


図 1. (A) H/D コントラスト法による水和水のシグナルの分離方法。 (B) 水とタンパク質と水和水の中性子散乱スペクトル。 (C) MDシミュレーションで示した水和水構造。 (D) MDシミュレーションによる水分子の水素結合の時間相関関数。

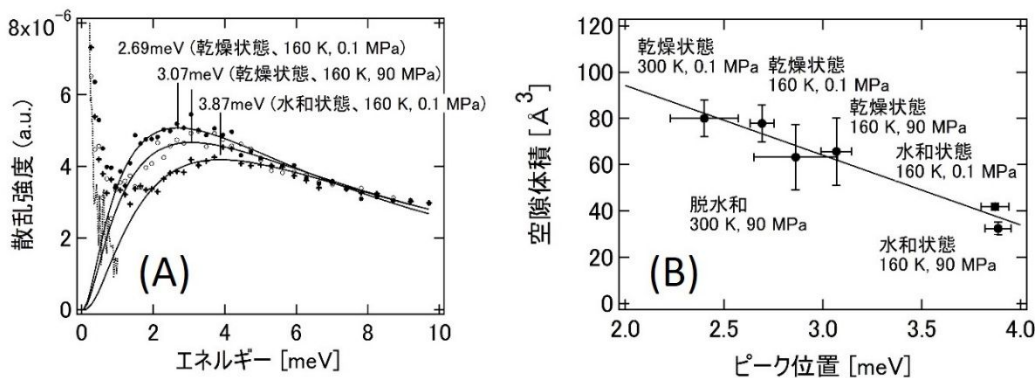


図 2. (A) タンパク質のボソンピーク。 (B) ボソンピーク位置と空隙体積の関係。

「タンパク質+トレハロース+水」の3成分系および各成分の中性子非弾性散乱解析を行った。その結果、タンパク質のみでは 150K から 240K 付近にかけて直線的に非干渉性散乱強度が減少するが、約 240K 以上の温度でこの直線性からさらに減少が見られた。このことは 240K 付近でタンパク質がガラス転移を起こしていることを示す。一方、トレハロースのみでは測定した全温度でほぼ直線的に強度の減少が見られ、室温でもガラス状態にあることが分かった。トレハロースとタンパク質の混合物でもやはり同様に室温までほぼ直線的な減少が見られた。このことから、トレハロースが存在することによって、タンパク質の分子揺らぎは抑制され、室温条件化でもガラス状態にあることが分かった。

以上の研究を通じて、アモルファス物質のテラヘルツ周波数領域に共通して観測されるタンパク質のボソンピークの水和水効果を調べ、ピークの周波数シフトからタンパク質と水和水間の水素結合の相互作用を解析した。そして、集団的に揺らぐ水和水の音響フォノンモードとタンパク質の局在モードがガラス転移でカップルしていることを示唆するなど、通常バルクの熱測定では見えてこなかったガラス転移の分子メカニズムを解明した。一連の研究を通じて、中性子と計算機の融合解析からナノ熱物性を構造科学的に解析する研究基盤を作った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 中川洋	4. 巻 7・8
2. 論文標題 食品の水分活性～中性子散乱による食品のミクロ構造解析と干し芋サイエンス～	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 明日の食品産業	6. 最初と最後の頁 23-30
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakagawa Hiroshi, Joti Yasumasa, Kitao Akio, Yamamuro Osamu, Kataoka Mikio	4. 巻 117
2. 論文標題 Universality and Structural Implications of the Boson Peak in Proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 229～238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bpj.2019.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakagawa Hiroshi, Oyama Taiji	4. 巻 7
2. 論文標題 Molecular Basis of Water Activity in Glycerol?Water Mixtures	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 731
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fchem.2019.00731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakagawa Hiroshi, Kataoka Mikio	4. 巻 16
2. 論文標題 How can we derive hydration water dynamics with incoherent neutron scattering and molecular dynamics simulation?	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 213～219
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2142/biophysico.16.0_213	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakagawa Hiroshi、Kataoka Mikio	4. 巻 1864
2. 論文標題 Rigidity of protein structure revealed by incoherent neutron scattering	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129536 ~ 129536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2020.129536	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Nakagawa, Y. Yonetani, K. Nakajima, S. Ohira-Kawamura, T. Kikuchi, Y. Inamura, M. Kataoka and H. Kono	4. 巻 -
2. 論文標題 Sequence-dependent hydration water dynamics of dodecameric DNA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 the Proceedings of the 3rd J-PARC Symposium (J-PARC2019)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yonetani Yoshiteru、Nakagawa Hiroshi	4. 巻 749
2. 論文標題 Understanding water-mediated DNA damage production by molecular dynamics calculation of solvent accessibility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 137441 ~ 137441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cpllett.2020.137441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 杉山正明、井上倫太郎、中川洋、齊尾智英	4. 巻 30
2. 論文標題 中性子溶液散乱-現在・過去・未来	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 波紋	6. 最初と最後の頁 16-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Hiroshi Nakagawa
2. 発表標題 Protein dynamics and hydration by NIS
3. 学会等名 Dynamics of biomolecules and hydration water and neutron scattering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子分光法による生体物質ダイナミクス研究
3. 学会等名 QST高崎研オープンセミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 でんぷんの構造物性研究と干し芋サイエンス
3. 学会等名 「生物の環境適応と分子科学」研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 非干渉性中性子準弾性散乱による生体物質の相転移と分子運動性の解析
3. 学会等名 第2回LLPS研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Nakagawa
2. 発表標題 Water activity and glass transition of food protein studied by inelastic neutron scattering and molecular dynamics
3. 学会等名 8th International Symposium on "Delivery of Functionality in Complex Food Systems (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋、渡辺万里
2. 発表標題 干し芋の水和状態・ミクロ構造と保存性・食感の関係
3. 学会等名 つくばソフトマター研究会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 タンパク質構造の硬さ・柔らかさと水和水ダイナミクス
3. 学会等名 ATI水とナノ構造研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子準弾性散乱による蛋白質の拡散運動と構造揺らぎの解析
3. 学会等名 蛋白質研究所セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 蛋白質ダイナミクスに対する水和・圧力・温度効果
3. 学会等名 生物の環境適応と分子科学
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 H. Nakagawa, T. Saio, T. Oda, M. Sato, R. Inoue, M. Sugiyama, T. Tominaga and Y. Kawakita
2. 発表標題 QENS of protein solutions measured by the TOF near Backscattering Spectrometer DNA
3. 学会等名 第3回J-PARCシンポジウム(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子非弾性散乱・準弾性散乱と分子シミュレーションによる蛋白質ダイナミクスの解析
3. 学会等名 CBI学会2019年大会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子準弾性散乱で解析する食品中の水の物理化学
3. 学会等名 PF研究会「量子ビームを活用した食品科学」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川洋
2. 発表標題 中性子準弾性・非弾性散乱による生体物質の構造物性ダイナミクス研究
3. 学会等名 2019年度MLFシンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考