 <b>MLF Experimental Report</b>	提出日 Date of Report 2015年4月7日
課題番号 Project No. 2014PX0015 実験課題名 Title of experiment iBIXの高度化と多様なユーザー試料対応のための生体高分子 標準結晶測定と構造解析 実験責任者名 Name of principal investigator 田中伊知朗 所属 Affiliation 茨城大学	装置責任者 Name of responsible person 日下勝弘 装置名 Name of Instrument/(BL No.) iBIX(BL03) 実施日 Date of Experiment 2014年11月10-12日

試料、実験方法、利用の結果得られた主なデータ、考察、結論等を、記述して下さい。(適宜、図表添付のこと)  
 Please report your samples, experimental method and results, discussion and conclusions. Please add figures and tables for better explanation.

1. 試料 Name of sample(s) and chemical formula, or compositions including physical form.
グルコースイソメラーゼ-グルコース-Mg (GI-Sugar-Mg) 複合体 グルコースイソメラーゼ-グルコース-Co (GI-Sugar-Co) 複合体 リゾチーム-ヨウ素複合体

2. 実験方法及び結果 (実験がうまくいかなかった場合、その理由を記述してください。)
Experimental method and results. If you failed to conduct experiment as planned, please describe reasons.
<p>中性子回折フルデータ収集を目的に、大型結晶を育成した形状と構成が大きく異なる 3 種類の結晶が、中性子回折実験に適しているか、また、どの程度の分解能が出るかを確認するためにテスト実験を行った。</p> <p>実験条件は重水バッファで育成した結晶を、常温常圧、波長は 2.3-6.3 Å、加速器出力は約 300kW で、NMR用の石英キャピラリに封入して回折実験を行った。1-2 時間程度よい結晶を選ぶために予備照射を行ったところ、グルコースイソメラーゼ-グルコース-Mg 複合体とグルコースイソメラーゼ-グルコース-Co 複合体の結晶では1つずつ、比較的高分解能の回折パターンを示したので、それぞれ長時間測定を行った。図 1 にその単結晶写真を示す。また、リゾチーム複合体結晶は、低分解能の反射しか示さなかったため、</p> <div data-bbox="592 1671 1418 1906" data-label="Image"> </div> <p>図 1 測定した試料結晶。左から、GI-Sugar-Mg 複合体 (2.25mm<sup>3</sup>)、GI-Sugar-Co 複合体 (6.0mm<sup>3</sup>)、リゾチーム-ヨウ素複合体 (0.4mm<sup>3</sup>)。白いバーが 2.5mm を示す。</p>

## 2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

予備測定までで終了した。リゾチーム結晶の写真を図 1 に示すが、おそらく結晶が小さすぎたことと、キャピラリ封入時に結晶にダメージが加わってしまい、結晶が傷んだためと考えられる。ちなみに、低温放射光だが、グルコースイソメラーゼは 1.5 Å 程度、リゾチームは 1.2 Å 程度である。実際の測定条件と結果詳細を以下の表 1 に示す。

表 1 測定条件と目視分解能結果

試料名	GI-Sugar-Mg 複合体	GI-Sugar-Co 複合体	リゾチーム-ヨウ素複合体
空間群(*)	$I222$		$P2_1$
格子定数(*)	$a=93, b=98, c=103 \text{ \AA}$		$a=27, b=63, c=60 \text{ \AA}, \beta=90.4^\circ$
目視最高分解能反射	2.30 Å	1.90 Å	(5-10 Å)
露光時間	約 14 時間	約 11 時間	約 1 時間

(\*) 同じ結晶化条件の結晶を低温放射光や室温実験室 X 線でデータ処理したときの空間群と格子定数

GI-Sugar-Mg 複合体と GI-Sugar-Co 複合体について得られた 30 台の検出器データについて、iBIX 用のデータ処理ソフトウェア STARGazer を用いて、ヒストグラム化を行い、目視にて確認したところ、2 つの試料共に、極めてシャープな回折パターンを得ることが出来た(図 2 および図 3)。目視分解能ながら、GI-Sugar-Mg 複合体からは 1.90 Å、GI-Sugar-Co 複合体からは 2.30 Å のブラッグ反射が確認でき、Mg 結晶は十分に、Co 結晶でもかなり有望に、水素を観測できる分解能であることが判明した。

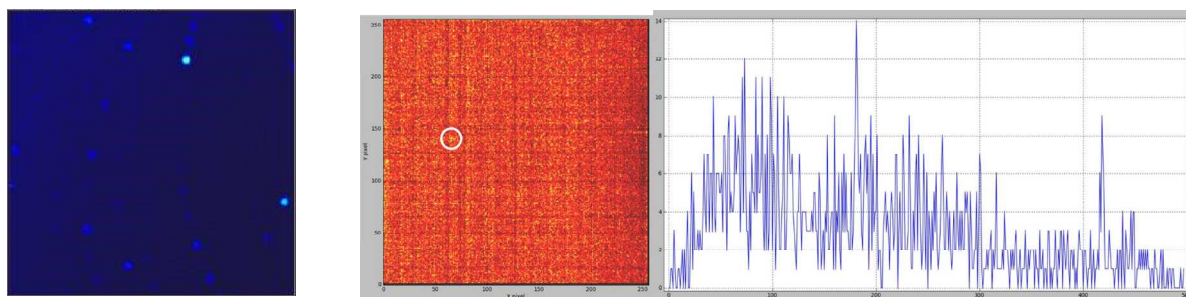


図 2 GI-Sugar-Mg 複合体。左が検出器#24 の重ね合わせた回折パターン。中央(175-200 μ sec のスライス)と右のグラフは、検出器#30 における最高目視分解能反射位置とその TOF プロファイル。

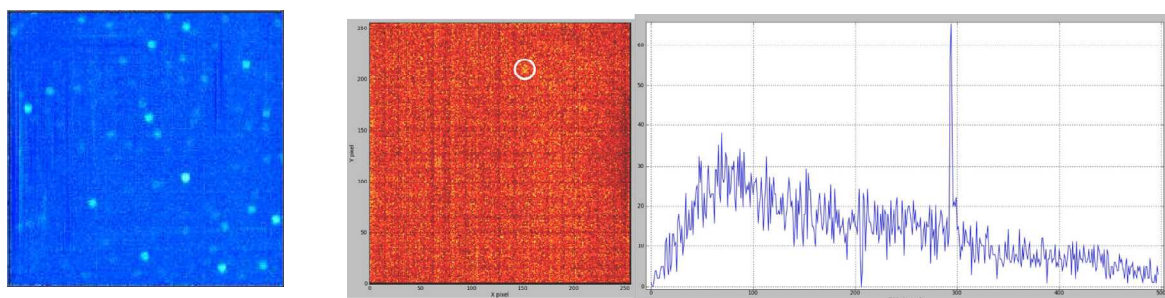


図 3 GI-Sugar-Co 複合体。左が検出器#25 の重ね合わせた回折パターン。中央(275-300 μ sec のスライス)と右のグラフは、検出器#30 における最高目視分解能反射位置とその TOF プロファイル。