

 <b>MLF Experimental Report</b>	提出日 Date of Report
課題番号 Project No. 2014PX0004 実験課題名 Title of experiment パルス中性子によるチトクロム c 酸化酵素の構造・機能解明 実験責任者名 Name of principal investigator 玉田太郎 所属 Affiliation 日本原子力研究開発機構	装置責任者 Name of responsible person 日下勝弘 装置名 Name of Instrument/(BL No.) BL03 実施日 Date of Experiment 2015.4.14-2015.4.16

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.
チトクロム c 酸化酵素 化学式: C6738 H10085 N1601 O1766 S72 Cu3 Mg Zn Fe2

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>軽水環境下で析出した長辺 2mm を超えるチトクロム c 酸化酵素の大型結晶を、段階的(30 分間隔で 50 ステップ、計 3 日間)に重水環境および抗凍結溶液(含 40%エチレングリコール)に移行した後に、窒素気流下で瞬間冷却した。約 60 個の結晶を凍結保存したが、中性子回折実験に先立って一部の結晶を用いて放射光施設(BL26B2@SPring-8)において X 線回折実験を実施した。その結果、2.1Å 分解能でかつモザイク性も良好(0.2°)な回折データ収集に成功し、結晶の質を損なうことなく大型結晶を重水環境および抗凍結溶液に移行出来ていることを確認した。中性子回折実験は、加速器出力 512 kW、検出器 30 台、波長範囲 2.2-6.2 Å において、結晶を 100 K の窒素気流中で冷却しながら実施した(図 1)。計 7 個の結晶をマウントし、そのうち 3 個の結晶について約 1.5h ずつ照射し、回折能を確認した。そのうち最も回折能が良好であった No.17 結晶について長時間(約 22h)露光を実施した。その結果、5 つの検出器において UB 行列を決めることに成功し、目視で約 6.Å 分解能の回折点を確認することが出来た(図 2)。</p>



図1 中性子回折実験に供したチトクロム c 酸化酵素の大型結晶

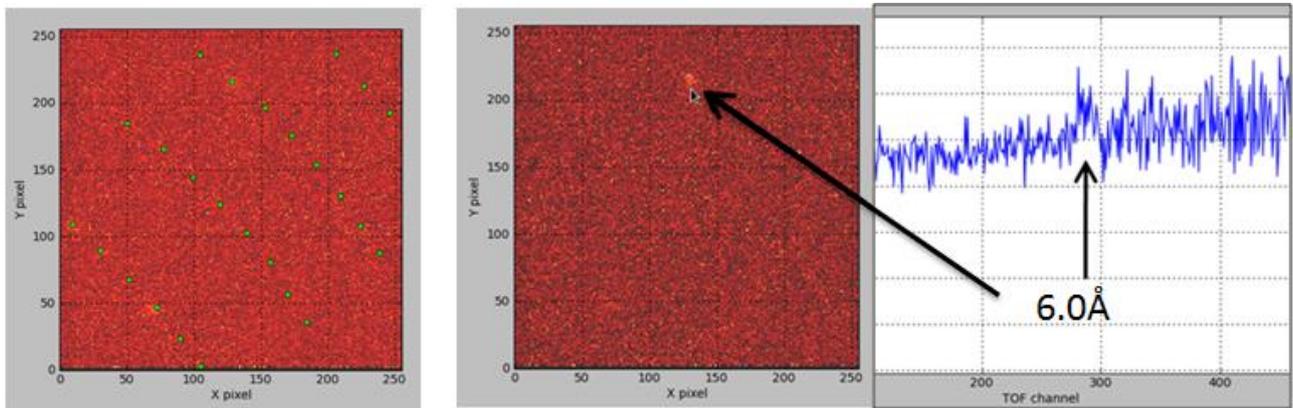


図2 (左)回折像(検出器#11)、(右)高分解能回折点シグナル