 MLF Experimental Report	提出日 Date of Report 2015年11月30日
課題番号 Project No. 2014PX0014 実験課題名 Title of experiment iBIXを用いた中性子構造生物学の新展開 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23-25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-Ni(GI-Sugar-Ni)複合体 グルコースイソメラーゼ-グルコース-Cd(GI-Sugar-Cd)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下さい。) Experimental method and results. If you failed to conduct experiment as planned, please describe reasons. グルコースの異性化反応機構の詳細解明を目指して、2種類の金属をソーキングしたグルコースイソメラーゼ結晶をそれぞれ育成し、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。 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用もしくはX線用の肉厚の薄い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、GI-Sugar-Ni複合体とGI-Sugar-Cd複合体の結晶で1つずつ比較的高分解能の回折パターンを示した。図1にその単結晶写真を示した。	
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------

図1 測定した試料結晶。左から、GI-Sugar-Ni複合体(2.90mm³)、GI-Sugar-Cd複合体(1.00mm³)。白いバーが2.5mmを示す。

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

を示す。これらの長時間測定をそれぞれ行った。ちなみに、低温放射光実験だが、グルコースイソメラーゼは 1.5~1.7 Å 程度の分解能であった。中性子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-Ni 複合体	GI-Sugar-Cd 複合体
空間群(*)	<i>I</i> 222	
格子定数(*)	$a=93.9, b=99.6, c=103.1 \text{ \AA}$	$a=94.0, b=99.7, c=103.1 \text{ \AA}$
目視最高分解能反射	2.0 Å	1.9 Å
露光時間(正味)	約 19 時間	約 17 時間

(*) STARGazer による値 (装置グループの協力による)

GI-Sugar-Ni 複合体と GI-Sugar-Cd 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、シャープな回折パターンを得ることが出来た。目視分解能ながら、GI-Sugar-Ni 複合体からは 2.0 Å、GI-Sugar-Cd 複合体からは 1.9 Å のブラッグ反射が確認でき、双方の結晶から十分に、水素を観測できる分解能であることが判明した (図 2 および図 3)。

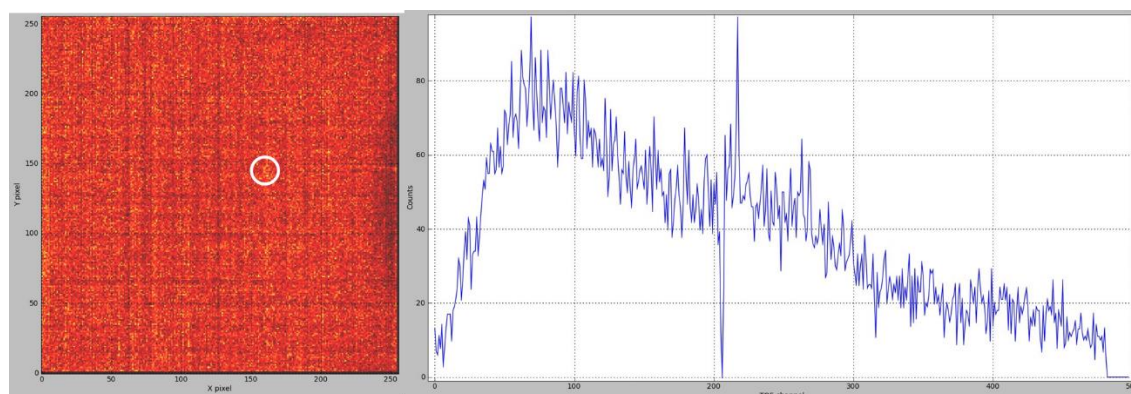


図 2 GI-Sugar-Ni 複合体の回折像 (左) と TOF プロファイル (右)

回折像の波長範囲は 200~225 [Channel]、白丸で囲った部分の TOF プロファイル

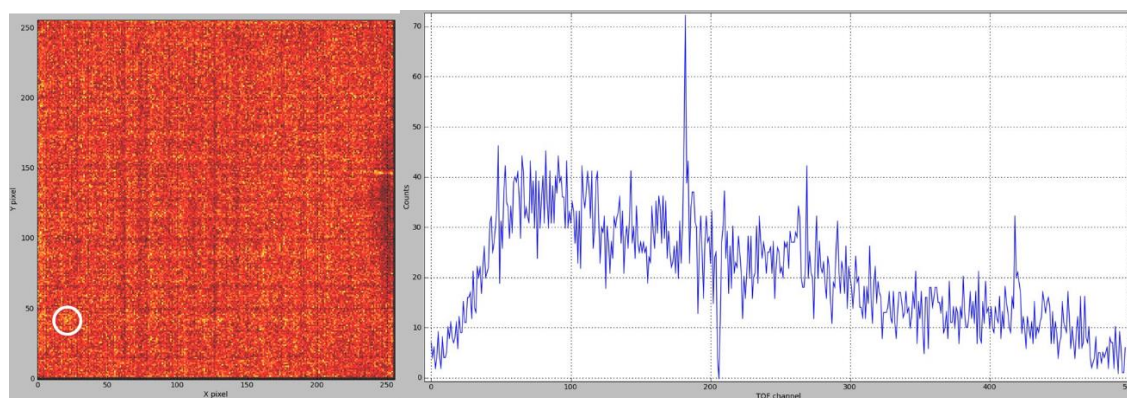


図 3 GI-Sugar-Cd 複合体の回折像 (左) と TOF プロファイル (右)

回折像の波長範囲は 175~200 [Channel]、白丸で囲った部分の TOF プロファイル