

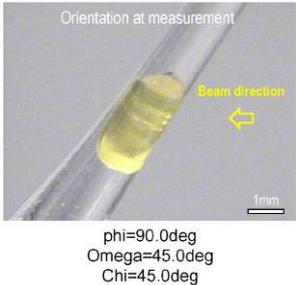
 MLF Experimental Report	提出日 Date of Report
課題番号 Project No. 2008P0027 実験課題名 Title of experiment 電子伝達タンパク質の中性子構造解析 実験責任者名 Name of principal investigator 玉田 太郎 所属 Affiliation 日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門	装置責任者 Name of responsible person 田中 伊知朗 装置名 Name of Instrument/(BL No.) iBIX(BL03) 実施日 Date of Experiment 2/22(10:00)~2/23(10:00)

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.
結晶を石英キャピラリーに封緘し状態の試料を測定に用いた ・生体高分子(タンパク質)の結晶(軽水素 b5R: NADH・チトクローム b5 還元酵素) C, O, N, S, H, D 原子を含む ・結晶の溶媒(重水溶媒) リン酸カリウム[10mM]・pD7.0、ポリエチレングリコール(PEG4000)[35% w/v]

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.
NADH・チトクローム b5 還元酵素 (b5R) は FAD を補欠因子として持つピリジンヌクレオチド酵素であり、哺乳動物の小胞体において電子伝達系の一部として NADH からチトクローム b5 への電子伝達を行うことで、薬物代謝、脂質合成などに関与している。本実験では、B5R の結晶を用いて、中性子回折実験を行った。用いた結晶の体積は 3.9mm ³ である。結晶を重水溶媒中にて重水置換を行った後に、石英キャピラリー中に封緘し、回折計のゴニオメーター上に設置した(図 1)。

JRR-3 において実施した回折実験時に結晶の方位を合わせた。



phi=90.0deg
Omega=45.0deg
Chi=45.0deg

図 1. キャピラリー中に封緘したb5Rの結晶の写真。

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

結晶を回折計に設置後、中2階にあるハッチ内で検出器などの設定を行い回折データの収集を実施した。今回の実験では、平均出力 20kW の中性子を照射した。24 時間のビームタイムがあったが、そのうち中性子の照射は、結晶設置および取り外しの時間とビーム供給が停止した時間を除いた時間(14.7h)でデータ収集した。その結果、最高で 2.5Å 分解能の回折点を確認した。図2に測定結果をまとめたものを示す。

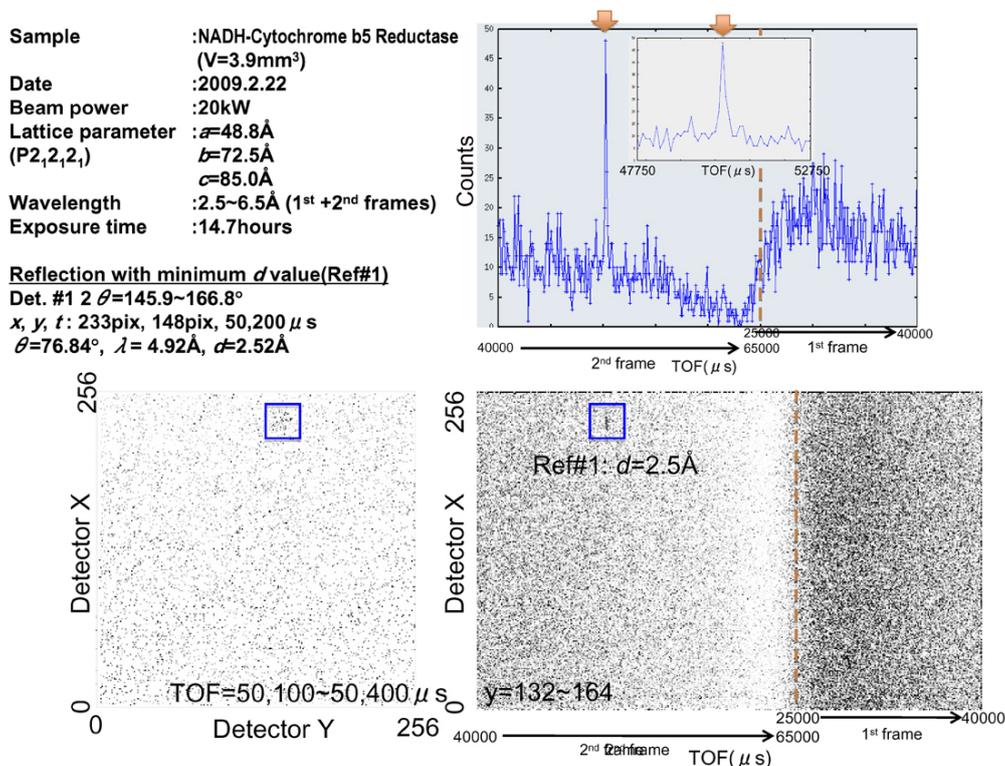


図2. 試料の測定条件と測定結果

今回 iBIX における実験に用いた結晶は、先に原子力機構の研究用原子炉 JRR-3 の回折計 BIX-3 および BIX-4 において回折実験を行っている試料である。iBIX と BIX-3/4 における最高分解能の比較を下に示す。

	iBIX	BIX-3/4
b5R	2.5 (14.7h 照射)	1.8 (6h 照射)

今回、単純に最高分解能で比較したところ、JRR-3 における実験の方がより高分解能の回折点を確認する結果となった。しかしながら、iBIXの測定では、出力が 20kWと低いので、最終計画のわずか 1/50 であるにもかかわらず、2.5Åの分解能の回折点を確認できたと言える。この結果は、現在JRR-3の測定で使用している大型結晶(2 mm³以上)を準備することで、J-PARCの出力が最終的な目標値(1 MW)に達し、さらに十分な数の検出器が設置された際には、当初の計画通りの数日で回折データを収集すること(定常炉の50倍から100倍の効率)が可能となることを示唆する。