 MLF Experimental Report	提出日 Date of Report
課題番号 Project No. 実験課題名 Title of experiment RNaseA 触媒活性部位のプロトン化状態の pH 依存性観測による RNA 分解酵素機能解明 実験責任者名 Name of principal investigator 日下 勝弘 所属 Affiliation 茨城大学 フロンティア応用原子科学研究センター	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 1月29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.
RiboncreaseA(リボヌークレアーゼ A)単結晶

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>実験時の J-PARC 加速器運転出力を考慮し、中性子回折データの測定が十分可能な結晶体積をもつ大型単結晶の育成を行った。結晶化にはバッチ法を用い、大型結晶育成に最適な結晶化条件(結晶化剤濃度およびタンパク質濃度)を実験より求めた結晶化相図(溶解度曲線と核形成境界線)を基に決定した。実際に測定に用いた RNaseA 単結晶のサイズは $3.8 \times 2.1 \times 1.6 = 12.8 \text{mm}^3$ であった。</p> <p>本単結晶試料は石英ガラスキャピラリー(4mm)の内壁に少量の溶媒により付着させ、溶媒の乾燥により結晶の質が劣化するのを防ぐために、キャピラリー底面に少量の溶媒を結晶と共に封入した(図1)。</p> <p>ガラスキャピラリーに封入した単結晶試料を x,y,z 軸調整機構付きのゴニオメータヘッドに固定し、iBIX の三軸型(、部分 、)ゴニオメータの回転中心(=ビーム中心)にマウントした。</p> <p>測定時の入射中性子の波長領域はテールカッターの回転位相を調整することで、ファーストフレームである 0.5~4 を選択した。結合型減速材からスーパーミラーガイド管によって本体遮蔽体内に導入され</p>

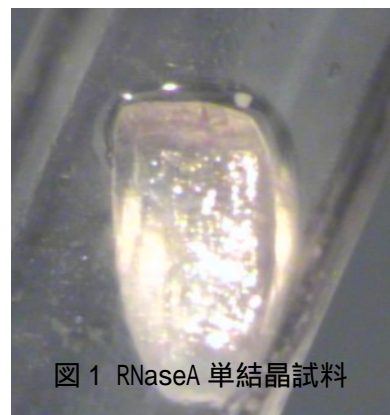


図1 RNaseA 単結晶試料

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

また、中性子ビームの空気散乱によるバックグラウンドを低減させるために、試料位置での中性子ビームサイズは測定試料がちょうど完浴する 5mm となるようにスリットを選択した。検出器を含めた回折計を図2に示す。3台の波長変換ファイバー型2次元検出器の配置は分解能を優先し、試料-検出器間距離(L2)473mm、検出器面中心の2 角度を高角度側の 96.6° (#1), 139.0° (#2), 156.6° (#3)とした。検出器総立体角は 1.95%である。検出器面外周には試料中心外からの散乱を防ぐために B₄C 製のフード型コリメータを設置し、バックグラウンドの低減を図った。J-PARC の運転は加速器出力 20kW、パルス周期 25Hz であった。1つの結晶方位で 18.7時間(約 160万 shots)の露光時間で TOF 回折パターンを測定を行った。

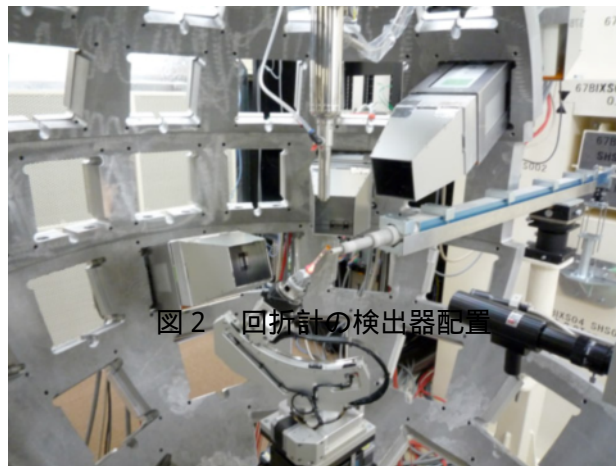
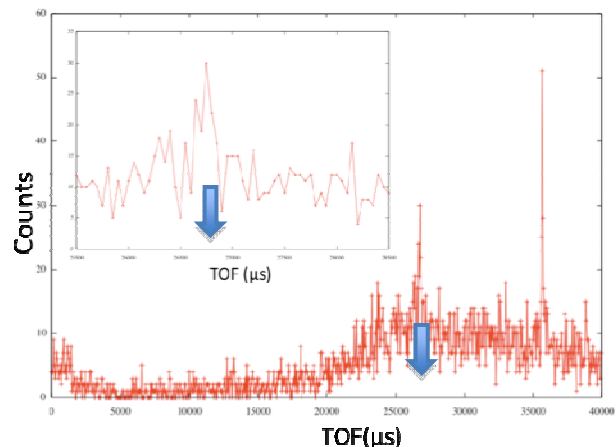


図2 回折計の検出器配置

得られた TOF 回折パターンは装置グループから提供された補正データ(ポリエチレンの非干渉性散乱データ)を用いて、それぞれの検出器について、入射中性子強度の波長依存性と検出器感度の位置および波長依存性の補正を行った。3 台の検出器から得られた TOF 回折パターン上には合計で 100 個近くの鮮明なブラッグ反射を観測することができた。

検出器面中心の2 角度が 139.0°である検出器#2の TOF 回折データ上に、本測定データの分解能に相当する最も小さな d 値を持つ反射として Ref#1 が観測された(図3)。図3の X-TOF、X-Y スライスマップおよび TOF プロファイルから、Ref#1 は確実にブラッグ反射であると判断された。Ref#1 の d 値は 1.41 であった

検出器面中心の2 角度が 139.0°である検出器#2の TOF 回折データ上に、本測定データの分解能に相当する最も小さな d 値を持つ反射として Ref#1 が観測された(図3)。図3の X-TOF、X-Y スライスマップおよび TOF プロファイルから、Ref#1 は確実にブラッグ反射であると判断された。Ref#1 の d 値は 1.41 であった



(x, y, t: 148pixel, 53pixel, 26900 μ sec, $\theta = 68.8^\circ$, $\phi = 62.3^\circ$)。

これらの結果は、J-PARC の加速器出力が 100kW、iBIX の検出器数が 14 台になれば、7日間程度で水素原子位置情報を得ることが可能なフルデータセットの測定が可能であることを示唆している。

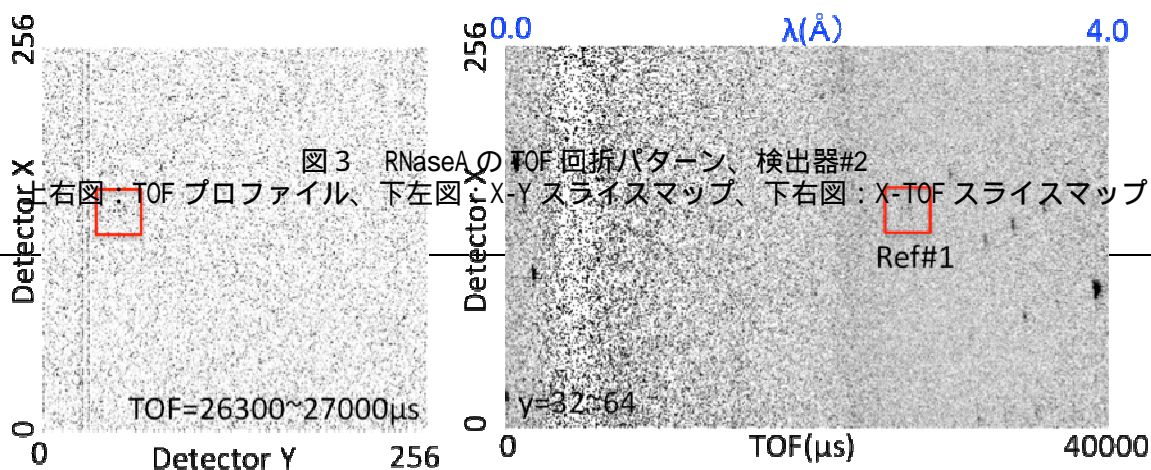


図3 RNaseAの TOF 回折パターン、検出器#2

上右図: TOF プロファイル、下左図: X-Y スライスマップ、下右図: X-TOF スライスマップ