

 MLF Experimental Report	提出日 Date of Report 2014年5月15日
課題番号 Project No. 2012PX0001 実験課題名 Title of experiment iBIX テスト測定 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 田中伊知朗 装置名 Name of Instrument/(BL No.) iBIX(BL03) 実施日 Date of Experiment 2012年6月5—8日、12月22—27日、2013年2月19日および21—22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. 1a) セルラーゼ (PcCel45A)D ₂ O バッファー: 結晶体積=1.90mm ³ ・・・2012.6 実施 1b) セルラーゼ (PcCel45A)H ₂ O バッファー: 結晶体積=1.50mm ³ ・・・2012.6 実施 1c) セルラーゼ (PcCel45A)D ₂ O バッファー: 結晶体積=5~6mm ³ ・・・2012.12 実施 2a) 酸化還元酵素複合体 (PcyA-BV complex): 結晶体積=1.40mm ³ ・・・2012.6 実施 2b) 酸化還元酵素 (PcyA): 結晶体積=2.4mm ³ ・・・2012.12 実施 2c) ニトロフォーリン: 結晶体積=0.1~2.0mm ³ ・・・2012.12 実施 3) Z-DNA (H ₂ O バッファー): 結晶体積=1.1mm ³ ・・・2012.12 実施 4) ADPRase: 結晶体積=0.3mm ³ ・・・2012.12 実施 5a) グルコースイソメラーゼ (D ₂ O バッファー): 結晶体積=1.0mm ³ ・・・2012.12 実施 5b) グルコースイソメラーゼ (D ₂ O バッファー): 結晶体積=0.92mm ³ ・・・2013.2 実施 6) トロンビン複合体・・・2012.12 実施 7a) D ₂ O 晶質氷・・・2013.2 実施 7b) PEG 非晶質氷 (Leica EM HPM100 による高圧凍結)・・・2013.2 実施 7c) Lysozyme 非晶質氷 (Leica EM HPM100 による高圧凍結)・・・2013.2 実施
--

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.
4) および7) 以外は室温測定。測定時間は1フレームのみで最大24時間程度。 1) セルラーゼ: 単位格子 a=58.2, b=45.5, c=63.1 Å 1a) 加速器出力~220kW、検出器14台、目視最大分解能=1.8 Å 1b) 加速器出力~220kW、検出器14台、目視最大分解能=2.0 Å 1c) 加速器出力~300kW、検出器30台、目視最大分解能=1.8 Å 1c) の結晶が、十分本測定が可能で、フルデータセットの候補となることが分かった。

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

2ab) 酸化還元酵素(複合体): 単位格子 $a=58.2$, $b=45.5$, $c=63.1$ Å、

2a) 加速器出力 \sim 220kW、検出器14台、目視最大分解能 $=1.9$ Å

2b) 加速器出力 \sim 300kW、検出器30台、目視最大分解能 $=3.1$ Å

2c) 加速器出力 \sim 300kW、検出器30台、目視最大分解能 $=3.1$ Å

2a)の結晶がフルデータセットの候補となることが分かった。

3) Z-DNA: 回折点を比較的高分解能反射まで確認できた(有効分解能は 2.2 - 2.3 Å)。しかし、反射数と結晶格子の乱れが原因で指数付けには至っていない。加速器出力 \sim 300kW、検出器30台、目視最大分解能 $=1.7$ Å。なお、Z-DNA(軽水結晶)は結晶学的パラメーターが X 線回折実験により予め決定されている; 空間群 $P2_12_12_1$, $a = 18.46$ Å, $b = 30.76$ Å, $c = 43.18$ Å。

参考文献:

[1] T. Chatake *et al.*, Acta Crystallogr. D61, 1088-1098 (2005).

[2] T. Chatake *et al.*, Crystal Growth Des., 10, 1090-1095 (2010).

4) ADPRase: LN₂ 保存容器から100K 吹付状態のゴニオメータヘッドへセットした。反射は割れていたが、スポットはシャープだった。加速器出力 \sim 300kW、検出器30台、目視最大分解能 \sim 3 Å

5a) グルコースイソメラーゼ: キャピラリー詰めの際に結晶が白く劣化していたようだ。加速器出力 \sim 300kW、検出器30台、目視最大分解能 \sim 20 Å

5b) グルコースイソメラーゼ: きれいなラウエパターンが取れた。目視最大分解能 \sim 1.9 Å、加速器出力 \sim 300kW、検出器 30 台。標準結晶として十分使用可能なことが確認できた。指数付けは未実施(以下の参考文献と同じ条件で結晶化したので、空間群 $I222$, $a=93.9$ Å, $b=99.7$ Å, $c=102.9$ Å (X 線)に近い値と思われる)。

参考文献: H. L. Garrell *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 4440-4444 (1989) .

6) トロンビン複合体: 反射は割れていたが、スポットはシャープだった。加速器出力 \sim 300kW、検出器30台、目視最大分解能 \sim 2.4 Å。格子定数等は、空間群 $C2$, 空間群 $C2$, $a=71.04$ Å, $b=72.02$ Å, $c=72.36$ Å, $\beta = 100.5^\circ$ 。

7abc) 加速器出力 \sim 300kW、検出器30台: 明らかな回折パターンが出なかった。氷状態の試料をゴニオメータに乗せる際に、小さく割れてしまったことが主な原因と考えられる。

1) セルラーゼ、2) 酸化還元酵素(PcyA) および6) トロンビン複合体については、このテスト実験結果を活かして、2012年度末以降 2013 年にかけて iBIX でフルデータセットを収集することに成功している。