

 MLF Experimental Report	提出日(Date of Report) 2017.10.3
課題番号(Project No.) 2016PX0002 実験課題名(Title of experiment) 大きな結晶格子を有するタンパク質の中性子構造解析 実験責任者名(Name of principal investigator) 山田太郎 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.) BL03 iBIX 実施日(Date of Experiment) 2016.11.29-2016.12.20

実験目的、試料、実験方法、利用の結果得られた主なデータ、考察、及び結論を記述して下さい。

実験結果などの内容をわかりやすくするため、適宜図表添付して下さい。

Please report experimental aim, samples, experimental method, results, discussion and conclusions. Please add figures and tables for better explanation.

1. 実験目的(Objectives of experiment)

iBIX は装置性能の一つとして三軸長が 135 Å までの結晶の測定が可能であるように設計されている。大きな格子軸長を持つ結晶は密な回折像を生じるため、回折斑点の重なりが問題になる。このような場合、構造解析を行うことのできる回折強度データを得るためには、回折点の重なりを取り扱いが重要になる。実際に iBIX を用いて重なりを生じる中性子回折データを収集し、構造解析を行うことを目的として、高度好熱菌由来マンガンカタラーゼ ($a = 133 \text{ \AA}$) の中性子結晶構造解析を行うこととした。

2. 試料及び実験方法

Sample(s), chemical compositions and experimental procedure

2.1 試料 (sample(s))

高度好熱菌由来マンガンカタラーゼ、硫酸アンモニウム d-8, 50 mM AMPSO pD9.6 (pH9.2) 重水溶液中にて結晶化した。試料はφ3.5 mm の石英キャピラリー中に重水溶液とともに封じた。

2.2 実験方法(Experimental procedure)

通常の中性子回折実験を室温で行なった。MLF の加速器出力は 150 kW であった。照射するパルス中性子の波長領域は 2.4-6.4 Å を選択した。使用した検出器台数は 30 台である。一つの結晶方位について 30 時間の露光を行なった。回折強度データの処理を積分領域の重なりを考慮して行なった。中性子回折実験終了後に同一結晶を用いて KEK PF BL-17A にて室温での X 線回折実験を行なった。プログラム HKL2000 を用いて回折強度データ処理を行なった。プログラム Phenix1.8.3 を用いて XN 結合構造精密化を実行した。

3. 実験結果及び考察（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 results and discussion. If you failed to conduct experiment as planned, please describe reasons.

10 結晶方位について得られた TOF 中性子回折像に含まれる各回折斑点の強度積分を実行するために、直方体型の積分領域を設定した。隣り合う全ての回折斑点の積分領域がこの積分領域に侵入する体積割合を重なり度として定義した。直方体型積分領域は実際の回折斑点に比べてバックグラウンド領域が大きいので、多少の重なりは無視できると予想される。直方体型積分領域の大きさの設定は測定者が任意に決定するため、重なり度自体に絶対的な意味はない。そこで、得られた回折像について回折斑点の強度積分を行ったのち、最適な許容重なり度を検討することとした。ある重なり度を持つ回折強度データの使用を許した場合に得られる等価反射の強度の一致度 R_{pim} と等価反射一個あたりの平均繰り返し測定回数をプロットした。大きな重なり度を許容すれば、より多くの強度データを使用できることとなり平均繰り返し測定回数は増加する。 R_{pim} は平均繰り返し測定回数を考慮して計算されており、繰り返し測定回数が増加すると単調減少する指標である。しかしながら、 R_{pim} は重なり度 20%のところで極小値を持っている。このことは重なり度 20%までを許容すると繰り返し測定回数が増加することで全体のデータ精度が向上することを示している。しかし 20%を越えると回折斑点の重なりを無視することができなくなっていると考えられる。これらの重なり度の大きい回折点の強度積分を精度よく行うためには、積極的なピーク分離法が必要であると言える。特にマンガンカタラーゼは立方晶の対称性が高い結晶であるため、重なり度が 0 のデータのみを使用してもほぼ全ての等価反射強度を取得することができるが、対称性が低い場合は測定効率が低下する。しかし、今回の結果を見ると $a, b, c = 133 \text{ \AA}$ の場合でも、重なり度が 20%まで回折強度データの使用を許容するとかなりの割合でデータを使用することが可能であるということがわかった。

許容重なり度を 10%として得られた中性子回折強度データ($d_{max} = 2.4 \text{ \AA}$)と X 線回折強度データ($d_{max} = 1.4 \text{ \AA}$)を同時に使用した XN 結合構造精密化を実施した。この結果、中性子回折データと得られた結晶構造モデルの一致度をあらかず信頼度因子 R_{free} が 19%程度まで低下した。このことはある程度の積分領域の重なりを許容して得られる中性子回折強度データが妥当であることを示している。

4. 結論(Conclusions)

高度好熱菌由来マンガンカタラーゼの中性子回折実験を iBIX を用いて行い、結晶構造解析を行った。反射強度の積分処理において積分領域の重なりを考慮した。重なりを 20%許容することにより、データ全体の精度が向上することがわかった。実際に解析の信頼度因子も低下し、重水素を観測できることを確認した。これにより iBIX が目標とする三軸長が 135 \AA までの結晶構造解析が可能であることを実証した。