

# X線デジタルトポグラフィによる 鶏卵白リゾチーム結晶の局所的ロッキングカーブの解析 Analysis of Local Rocking Curves of Hen Egg-white Lysozyme Crystals by X-ray Digital Topography with CCD Camera

藤居大毅<sup>1</sup>、若生啓<sup>2</sup>、塚島史朗<sup>1</sup>、  
小島謙一<sup>1,2</sup>、橘勝<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>横浜市立大学 〒236-0027 神奈川県横浜市瀬戸 22-2

<sup>2</sup>横浜創英大学 〒226-0015 神奈川県横浜市緑区 三保町 1 番地

## Introduction

これまでタンパク質結晶の完全性の評価は、ロッキングカーブの測定や X 線トポグラフィによって行われてきた。我々はこれまで X 線トポグラフィによる結晶欠陥、特に転位の観察およびキャラクタリゼーションを行ってきた[1]。より詳細な完全性や結晶欠陥の評価を行うためには、同じ結晶にて X 線トポグラフィとロッキングカーブ測定の両方を行う必要がある。

最近では高分解能 X 線 CCD カメラを用いることにより解像度の高いデジタルトポグラフィ図の取得に成功している。CCD カメラを用いることにより角度情報を含んだロッキングカーブ測定を行なうことができる。加えて、CCD カメラで撮影するための露光時間は短く、放射損傷を受けやすいタンパク質結晶において CCD カメラによるトポグラフィ図の取得は効果的な方法である。この報告書では X 線デジタルトポグラフィによるタンパク質結晶の完全性の評価を報告する。

## Experiments

塩化ニッケル濃度勾配法で育成した正方晶卵白リゾチーム結晶がサンプルに用いられた。

X 線デジタルトポグラフィは BL15B1 と BL15C で行なわれた。また、ビームにはモノクロメーターで単色化された波長 1.2Å の単色 X 線を用いた。サンプルである正方晶リゾチーム結晶は、単色 X 線がサンプルの(001)面にほぼ垂直に入射するよう設置した。トポグラフィ図は高解像度 X 線 CCD カメラ(Photonic Science XFDJ)によって取得した。また CCD カメラ - サンプル間距離は 25cm であった。

100 枚程度の連続したデジタルトポグラフィ像は当グループのプログラムによってロッキングカーブのピーク解析が行われた[2]。

## Result & Discussion

結晶における完全領域と転位領域でのロッキングカーブの形状に大きな違いがあらわれた。

一般に無機結晶では、転位領域のロッキングカーブの形状は完全領域に比べて、その強度が増加する

だけでなく、その半値幅も増加する (Fig.1 参照)。したがって、結晶の完全性や欠陥の評価には半値幅を利用することもできる。一方、タンパク質結晶では、転位領域のロッキングカーブの形状が無機結晶の場合とは大きく異なることがわかった。

タンパク質結晶では、その強度や半値幅が完全領域とほぼ同じ  $1.8 \times 10^{-3}$  degree の値を示した。ところが、10 分の 1 幅に注目してみると、完全領域が  $2.7 \times 10^{-3}$  degree、転位領域は  $5.1 \times 10^{-3}$  degree の値を示し、その差に大きな違いがみられた。つまり、タンパク質結晶では、10 分の 1 幅にのみで転位領域と完全領域の違いが観察されるのである。これはタンパク質結晶の大きな格子定数あるいは分子形状による転位周辺の歪み場が無機結晶よりも大きく、緩やかに歪んだ結果であると考えられる。

タンパク質結晶の完全性評価においては半値幅に加えて、10 分の 1 幅による評価が行われている。この 10 分の 1 幅は、転位の分布状態の評価にも有効であることが提案される。

## Reference

- [1] T. Sawaura *et al.*, *J. Crystal Growth* **318**, 1071 (2011).  
[2] K. Wako *et al.* (to be submitted).

\* tachiban@yokohama-cu.ac.jp

水晶(無機結晶)におけるローカルロッキングカーブ

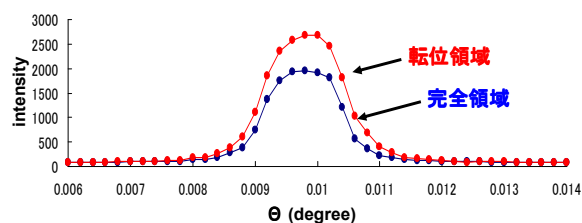


Fig.1 水晶におけるローカルロッキングカーブ