

X線 CCD カメラを用いたデジタルトポグラフィによる タンパク質結晶の完全性評価 Digital topography with an X-ray CCD camera for characterizing perfection in protein crystals

塚島史朗¹, 若生啓², 小島謙一², 橘勝^{1*}
¹横浜市立大学 〒236-0027 神奈川県横浜市瀬戸 22-2
²横浜創英大学 〒226-0015 神奈川県横浜市緑区 三保町 1 番地
 Shiro Tsukashima^{1*}, Kei Wako², Kenichi Kojima², Masaru Tachibana¹
¹Yokohama City University, 22-2 Seto, Kanazawa-ku, Yokohama, 236-0027, Japan
²Yokohama Soei University, 1 Miho-cho, Midori-ku, Yokohama, 226-0015, Japan

Introduction

我々はこれまで X 線トポグラフィによりタンパク質結晶の結晶欠陥、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]。これらの結晶欠陥や完全性をより定量的に評価するためには、同じ結晶においてトポグラフ像とロッキングカーブを同時に取得する必要がある。

近年我々は、高解像度 X 線 CCD カメラを導入し、デジタルトポグラフ像の取得とロッキングカーブの測定を同時に行なうシステムの構築に成功した[2]。CCD カメラはフィルムや原子核乾板より高感度であるため、撮影における露光時間は短く、放射損傷を受けやすいタンパク質結晶において CCD カメラを用いたトポグラフ像の取得は効果的な方法である。ここでは X 線デジタルトポグラフィによるタンパク質結晶内の結晶欠陥の解析結果を報告する。

Experimental Method

サンプルは塩化ニッケル濃度勾配法で育成した正方晶鶏卵白リゾチーム (HEWL) 結晶を用いた。

X 線デジタルトポグラフィは BL15B1 と BL15C で行った。また、ビームにはモノクロメーターで単色化した波長 1.2Å の単色 X 線を用いて、サンプルの (001) 面にほぼ垂直に入射した。

デジタルトポグラフ像は高解像度 X 線 CCD カメラ (Photonic Science X-FDI 1.00:1) で取得した。CCD カメラ - サンプル間距離は 25cm であった。

さらに結晶を回転させながら 100 枚程度の連続したデジタルトポグラフ像を取得することで、結晶の局所的なロッキングカーブが得られた。各ロッキングカーブは当グループのプログラムによってピーク解析が行われた[2]。

Results and Discussion

取得した結晶のデジタルトポグラフ像は従来のフィルムの像と一対一に対応しており、完全性の高

い領域 (L1) や直線状 (S1,S2) 及び曲線状 (C) の転位像が確認できた。

さらに結晶内の各領域の局所的ロッキングカーブ比較したところ、完全領域と転位領域のピーク形状に違いが現れることが確認できた (Fig. 1)。L1 では FWHM が 0.005° 程度の一本の鋭いピーク (Fig. 2a) であるのに対し、S2 や C の転位では同程度の FWHM をもったメインピークの他にもサブピークが存在した (Fig. 1b,d)。また S1 ではピークのブロードニングも確認できた (Fig. 1c)。

以上のように、CCD カメラを用いたことによりタンパク質結晶のデジタルトポグラフ像と局所的ロッキングカーブの対応が確認でき、サブピークの出現やメインピークのブロードニングを確認した。これらは欠陥に由来する構造の歪みに起因すると考えられる。

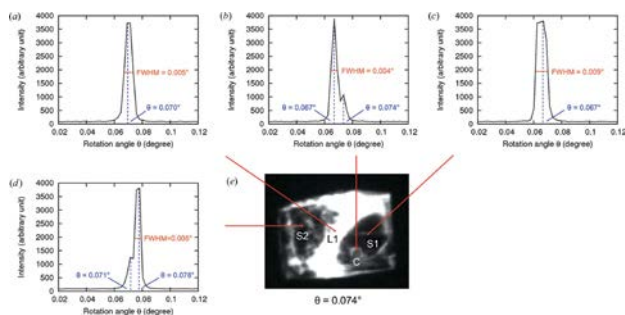


Fig.1 HEWL 結晶各領域の局所的ロッキングカーブ [2]

Reference

- [1] T. Sawaura *et al.*, J. Crystal Growth **318**, 1071 (2011).
 [2] K. Wako *et al.*, J. Appl. Cryst. **45**, 1009 (2012).

* tachiban@yokohama-cu.ac.jp