タンパク質結晶のX線トポグラフ

横浜創英大学* 小島謙一

横浜市立大学 橘 勝

Kenichi KOJIMA and Masaru TACHIBANA: X-ray Topography in Protein Crystals

X-ray topography, especially synchrotron X-ray topography, provides a useful tool for the characterization of protein crystals in order to characterize the defects. We observed clear images of dislocations in hen-egg white lysozyme crystals. In this article we overviewed the research on crystal defects, especially dislocations of protein crystals by synchrotron X-ray topography.

1. はじめに

生体高分子ないしは生体超分子の構造解析は20世紀後半から現在にいたるまで広範囲にかつ大規模に行われている。特に、生体高分子のなかでもタンパク質はその立体構造を決める国際プロジェクトなどがあり、構造解析の研究は飛躍的に進展した。

この解析手段として主にNMR(核磁気共鳴)とX線が使用されている。このなかでX線による構造解析は分子を構成している原子の位置の特定について、水素以外は比較的正確な情報を得ることができる。しかしながら、X線を利用して生体高分子ないしは生体超分子の構造解析を行うためには、それらの単結晶が必須となる。手段としてのX線は封入管から回転対陰極の発生装置が開発され高い強度が得られるようになったが、さらに放射光の強度と平行性が飛躍的に高まり、放射光を使えば μm のオーダーの小さな結晶でも測定が可能になっている。

他方、結晶に関しては高分解能を得るためや中性子回折実験に必要な大きくて完全性の高い結晶の育成、膜タンパク質結晶のような結晶化の難しい結晶の育成など問題も多い。このためタンパク質結晶に限れば結晶成長のメカニズムや方法などを中心に研究が進展している。しかしながら、結晶成長機構の解明や育成方法の確立によって、大きな結晶が育成できたとしても、完全性の高い、高品質な結晶でなければ精度の高い結晶解析ができないことになる。完全性を理解し、結晶の評価法を確立するために、タンパク質結晶でも欠陥の特定が必要になっている。特に、1990年代から微小重力下のタンパク質結晶の宇宙実験が行われ、微小重力下と地上での実験結果を比較するために結晶評価を行う必要が出た。¹⁾ 一方、格子

欠陥の立場からはタンパク質結晶は魅力的な結晶である。それは、タンパク質結晶が、通常の金属結晶、半導体結晶、有機結晶に比べると圧倒的に大きな格子定数をもっていることである。点欠陥の単一空孔でも分子一個の大きさになるので、体積は数十 nm^3 のオーダーになり、さらに線欠陥の転位のバーガスベクトルは数 nm のオーダーになり、そのような巨大な格子欠陥が存在するかどうかにも興味のあるテーマである。また、面欠陥の積層欠陥にしても積層欠陥エネルギーがどのくらいになるかも興味のあるところである。

しかしながら、タンパク質結晶の欠陥の研究は未成熟で体系的には行われていない。唯一行われているのは、モデルタンパク質結晶である卵白リゾチウム結晶(以下HEWL結晶と呼ぶ)中で行われている一連の転位に関するわれわれの研究である。HEWLは分子量が約14600でその分子構造を図1に示してある。この小論ではタンパク質結晶中の転位の、主にX線トポグラフィーによる最近の成果とその有効性について解説をする。なお、X線トポグラフィーの一般的な話はこの特集の中で書かれているのでそれを参照していただき、これまでにX線トポグラフィーについてまとめられている本、解説、総論などを文献として挙げておく。²⁾⁴⁾

2. タンパク質結晶の転位の観察

タンパク質結晶欠陥の観察法はタンパク質結晶の力学的特性のためはかなり限定される。タンパク質結晶の弾性定数は通常の結晶の1/10から1/100である。例えばHEWL結晶のヤング率は2.01 GPaで、銅の結晶は110 GPaであるので1/50と小さく、機械的強度の目安のビッカース硬さは20 MPaと低い。⁵⁾⁹⁾ それゆえ、一般には柔らかいという印象があるが、実際にはタンパク質結晶は脆いので実験を行う際の取扱いは難しい。加えて、タンパク

*横浜創英短期大学を平成24年4月に横浜創英大学に改組

図1 卵白リゾチウム (HEWL) の分子モデル. (Molecular structure of Hen Egg-White Lysozyme (HEWL).)

図2 HEWL 結晶の結晶水のモデル図. (Schematic figure of intra-crystalline water of HEWL crystals.)

質結晶には30から40 vol %の多量の結晶水を含んでいるために実験手段が限定される。図2に正方晶HEWL結晶の(010)面に垂直な方向から見た模式図を示してある。図の中に2種類の結晶水が示されている。1つは分子に結合している水 (immobile water) ともう1つは結晶中を自由に動ける水 (mobile water) である。例えば、透過型電子顕微鏡観察は真空中で観察するので、この結晶水と脆さのために、今のところ研究手段としては利用できない。タンパク質の格子欠陥を観察するための方法としては、結晶表面のエッチピットなどを観察する光学顕微鏡法と原子力間顕微鏡 (AFM) 法ないしはX線・中性子回折トポグラフィ法に限定される。しかし、光学的方法などでは表面ないしは表面近傍の情報しか得られない。

今のところ、X線・中性子回折トポグラフィ法 (トポグラフィと略す) がタンパク質結晶の欠陥を観察する有力な方法と位置づけられている。特に、タンパク質結晶のX線トポグラフィにとって、高い平行度と、強い強度が得られる放射光は、撮影時間 (照射時間) が白色で数秒、単色では数分から数十分のオーダーと極端に短くでき、試料の照射損傷を抑えることが可能になった。しかしながらX線照射によって2次欠陥が導入されるかどうかは今のところ

不明であるが、定性的な実験ではタンパク質結晶は照射によって分子の変性や結晶水の蒸発などにより破壊されることが多い。

また、従来からのフィルムや原子核乾板によるアナログ的なトポグラフィ法のほかに、分解能は落ちるがCCDカメラシステムを使ったデジタル的なトポグラフィ法も開発され、後述するような成果も収めている。しかしながら、X線トポグラフィは装置を含めたトータルな分解能が μm 以上のオーダーであることは実験の際に考慮されなければならない。

タンパク質結晶の放射光トポグラフィによる初めての観察は1995年のR. Fourmeら¹⁰⁾による。彼らは0.5 mm角で厚さが約0.3 mmの正方晶HEWL結晶の放射光トポグラフィをX線用フィルムや原子核乾板によって観察している。トポグラフィ像からは結晶中に3つの大きなドメインが確認されたが、転位などの欠陥は特定できなかった。このように1995年に発表された論文から、現在までに発表されているトポグラフィに関する論文を表1にまとめている。翌年の1996年に2つの論文が発表されていて、1つは正方晶HEWL結晶 (厚さ0.5~0.7 mm) の白色と単色の放射光トポグラフィ像で転位と推測される像をフィルムで観察している。¹¹⁾ もう1つは泉らによる正方晶と斜方晶HEWL結晶 (厚さ不明) のフィルムによる白色放射光トポグラフィ像である。¹²⁾ しかし、明確な格子欠陥に由来する像は得られず、小傾角境界を観察している。このように1990年代の後半からタンパク質結晶の、特にモデル結晶であるHEWL結晶で放射光トポグラフィの研究が開始された。放射光を利用するために世界にいくつかのグループができた。アメリカの主にNSLS (National Synchrotron Light Source) を利用するグループ、ヨーロッパのESRF (European Synchrotron Radiation Facility) を利用するグループ、とKEKPF (高エネルギー加速器研究機構フォトン・ファクトリー) とSPring-8 (高輝度光科学研究センター) を利用するわれわれのグループである。表1に示されているように1995年から1999年までの実験で観測された欠陥は結晶ドメイン、転位と思われる線状の像、ストリーエーション、結晶境界、介在物などであった。しかしながら、これらの像の回折条件などによる特定は行われていなかった。1999年にわれわれは一辺が3 mm程度のほぼ立方体に近い形状の大きな正方晶HEWL結晶を用いて、ラウエ法による白色放射光トポグラフィの実験を行い、図3に示すような直線状のコントラストを得ることに成功した。¹⁶⁾ また、図3の(a)と(b)に示すように転位の消衰条件である $\mathbf{g} \cdot \mathbf{b} = 0$ ($\mathbf{g}$ は反射ベクトルで $\mathbf{b}$ は転位のバーガスベクトル) から、初めてその直線状トポグラフィ像を転位であると特定した。さらに、その転位が結晶核 (図3のA) から発生した[110]のバーガスベクトルをもつ、らせん転位であることがわかった。

表1 タンパク質結晶のX線トポグラフによる欠陥の観察. (Observation of defects in protein crystals by X-ray topography.)

発表年	タンパク質	結晶構造	試料の大きさ	観察欠陥の種類	放射光の種類	転位の観察条件など	文献
1995	HEWL	T	0.5 mm角	ドメイン	単色 $\lambda = 1.23 \text{ \AA}$	フィルム	10)
1996	HEWL	T	0.5~0.7 mm	転位	白色 単色 $\lambda = 1.1 \text{ \AA}$	フィルム 転位の特定なし	11)
1996	HEWL	T, O	不明	小傾角境界	白色	フィルム	12)
1997	HEWL	T	0.5~0.8 mm	ストリーション, 転位, 介在物	白色 単色 $\lambda = 1.0 \text{ \AA}$	フィルム 転位の特定なし	13)
1998	HEWL	T	最大 0.6~0.7 mm	結晶境界、転位	単色 $\lambda = 1.24 \text{ \AA}$	フィルム 転位の特定なし	14)
1999	HEWL	T	厚さ 2~3 mm	転位	白色	フィルム 消滅則から転位を特定	15)
1999	HEWL	T	板状結晶 面積は1~3 mm, 厚さは薄い(不明)	成長境界	単色 $\lambda = 0.68 \text{ \AA}$	フィルム 転位像の見えない理由を述べている	16)
2000	HEWL	T?	最大で 0.79 mm	ストリーション	単色 $\lambda = 1.608 \text{ \AA}$	フィルム, 原子核乾板 微小重力下と地上での比較	17)
2001	HEWL	T?	約1 mm	成長境界 (グロスセクター), 転位, マイクロクラック	単色 $\lambda = 0.96 \text{ \AA}$	CCDシステム 転位の特定なし 転位像の見える条件を述べている	18)
2002	RN-S	T	0.3~0.4 mm	成長境界 (グロスセクター)	白色	フィルム 転位像の見えない理由を述べている	19)
2003	HEWL	T	1~3 mm	転位	白色	フィルム, 原子核乾板 消滅則から転位を特定	20)
2003	RN-S	T	1~0.5 mm角, 厚さ 0.3~0.5 mm程度	成長境界 (グロスセクター)	単色	原子核乾板 微小重力下と地上での比較	21)
2004	HEWL	T	厚さ0.35 mm	転位	単色 $\lambda = 0.95 \text{ \AA}$	CCDシステム 転位の特定なし 転位像の見える条件を述べている	22)
2004	HEWL	T	厚さ不明	モザイク構造	単色 $\lambda = 0.577 \text{ \AA}$	CCDシステム デジタルトポグラフ	23)
2004	HEWL	T	0.7~1 mm程度	転位	単色	フィルム 消滅則から転位を特定	24)
2005	HEWL	T	厚さ1.5 mm以上	転位	白色	フィルム 消滅則から転位を特定	25)
2005	HEWL	T	0.2 mm以下	モザイク構造	単色	CCDシステム	26)
2006	HEWL	T	0.3 mm	モザイク構造	単色 $\lambda = 0.979 \text{ \AA}$	CCDシステム 室温と低温焼鈍の比較	27)
2006	HEWL	T	1 mm以上	転位	白色	フィルム 転位の特定なし	28)
2007	HEWL	T	1.5 mm	転位	白色	フィルム 消滅則から転位を特定	29)
2007	HEWL	O	厚さ2 mm以上	転位	白色	フィルム 消滅則から転位を特定	30)
2007	HEWL	T,O,M	厚さ2 mm以上	転位	単色 $\lambda = 1.2 \text{ \AA}$	フィルム 消滅則から転位を特定	31)
2009	HEWL	T,O	厚さ3 mm以上	転位	単色 $\lambda = 1.2 \text{ \AA}$	フィルム 消滅則から転位を特定	32)
2011	HEWL	M	厚さ2 mm以上	転位	単色 $\lambda = 1.2 \text{ \AA}$	フィルム 消滅則から転位を特定	33)

注) HEWLは卵白リゾチウム, RN-S: リボヌクレアーゼS
Tは正方晶, Oは斜方晶, Mは単斜晶

われわれが得た転位像はいわゆる転位のひずみ場による直接像 (Direct image) ないしは運動学的像 (Kinematical image) と呼ばれている像である. 転位がX線トポグラフで観察できるかということについては, この特集で解説されているので省略する. 直接像が観察される条件としていくつかあるが, その中で試料の厚さに関しては2つの条件
日本結晶学会誌 第54巻 第1号 (2012)

がある.¹⁴⁾⁻¹⁵⁾ 1つは結晶のX線吸収係数 μ と試料の厚さ t の関係が式(1)を満たしていること, すなわち,

$$\mu t \leq 1 \quad (1)$$

もう1つは消衰距離 ξ_g と試料の厚さ t との関係が式(2)を満たしていることが望ましいことである. ここで α は0.3

図3 色放射線トポグラフ. 異なる反射ベクトル g によって像が消えていることに注意. (Dislocation structures in tetragonal HEWL crystals by white synchrotron X-ray topography. It should be noticed that dislocations disappear using different reflection vectors g .)¹⁶⁾

図4 HEWL 結晶のモルフォロジーと単位格子の大きさ, (a) 正方晶, (b) 斜方晶, (c) 単斜晶. (Figures of morphologies of (a) tetragonal, (b) orthorhombic, and (c) monoclinic HEWL crystals.)

から1の定数である.

$$t > \alpha \xi_g \quad (2)$$

一般に, 金属結晶や半導体結晶などでは消衰距離は, 反射ベクトル g に依存するが, 数十ミクロンのオーダーである. しかしながら, この消衰距離は単位格子の体積に比例するために, タンパク質結晶では通常の結晶に比べて分子量大きいため, その体積が圧倒的に大きくなる. 例えば, HEWL のように分子量が数万程度のタンパク質結晶でも消衰距離は1~2 mm のオーダーとなる. このために, 今までの転位像が明確に見られなかった理由は, 表1で示されているように, ほとんどの試料が1 mm 以下であったことによるものと考えられる. このことはすでに論文の中で指摘されていたが,¹⁶⁾⁻¹⁹⁾ 具体的にはわれわれの実験によって確認されたことになる.

図3の転位像からわかるように白色放射光を用いると, 複数のラウエスポットが観察でき, バーガスベクトルの決定は容易であるが, 像自身に関しては1つのスポットに複数の高次の反射を含むために分解能が悪くなる. われわれはさらに分解能を上げるために単色放射光を用いて実験を行った. 図5が正方晶 HEWL 結晶の単色放射光トポグラフ像である. 放射光の入射面は変えずに実験を行い, 反射ベクトル g も440と特定している. 図からわかるように非常にシャープできれいな転位像を得ることができるようになった. それ以来, タンパク質結晶でも金属結

晶, 半導体結晶, 低分子結晶で観察されるような非常にクリアな転位像が観察されるようになった.

今まで述べてきたのは主にフィルムや原子核乾板を利用して撮影をしてきた伝統的なアナログトポグラフである. 表1からわかるように2000年前後からCCDシステムを使ったデジタルトポグラフが現れてきた.^{18),22),23),26),27)} CCDシステムの使用は構造解析では通常の手段となっていることに加え, CCDの分解能が上がり, 1ピクセル当たり6 μm 程度にまでなっている. まだフィルムや原子核乾板の分解能はサブ μm には及ばないが, 将来はトポグラフもデジタル化されることが期待される. また, 情報量としては結晶の各点における局所的なロッピングカーブを測定することになり, そのピークの最大強度, 角度位置, 半値幅などの解析値が図示(マッピング)できることになる. 転位などの像だけを比較するとフィルムのほうが有利だが, 結晶の各点で半値幅などの情報が得られるので, 結晶評価の立場からは圧倒的に有利になる. 図6はわれわれによって得られたピーク位置と半値幅のマッピングである.

3. HEWL 結晶中の転位の特徴

以下, われわれの行ったいくつかの多形をもつ HEWL 結晶中の転位についての観察結果について述べる. その理解のために研究対象になった正方晶, 斜方晶, 単斜晶 HEWL 結晶の単位格子の大きさと成長した結晶表面モルフォロジーを図4a, 4b, 4cにそれぞれ示してある. また

図5 単色放射光トポグラフによる正方晶 HEWL 結晶中の転位. (Dislocation structures in tetragonal HEWL crystals by monochromatic synchrotron X-ray topography.³²⁾)

図6 HEWL 結晶のピーク位置 (a) と半値幅 (b) のマッピング図. カラーバーの単位は度 (°) である. (Mapping of the peak positions (a) and the half width of maximum intensity (b) for the local rocking curves. The color bar indicates the peak position. The unit is a degree (°).³⁶⁾)

HEWL 結晶の分子モデルは図1に示しておいた.

3.1 正方晶^{16),20),25),28),29),31),32)}

1995 年以来, 世界のいくつかの研究グループによって行われた放射光トポグラフの実験は正方晶 HEWL 結晶が用いられてきたことは今まで述べてきたとおりである. 図3は前述したようにフィルム法による白色放射光トポグラフ像であり, 入射光はほぼ(001)面に垂直に入射している. 2つの反射ベクトル g を用いて転位の消滅則によって転位を特定した. 図5は同じくフィルム法による単色放射光の転位トポグラフ像である. 入射方向は図3と同じであり, 結晶の大きさもほぼ同じである. 図5aは結晶全体の転位像が観察され, 結晶核から表面へ直線状に伸びる転位が多数観測されている. これらの転位の特性は図3の転位像と同じであるが, 転位像が非常にシャープになっている. そのほかに, 図5bとcに示されている TD1 や TD2 のように結晶核からではなく, サブバウンダリーや介在物などから発生したと思われる転位も観察されている. TD1 は 440 の反射では観察されるが, $\bar{4}40$ の反射では消えている. 逆に TD2 は $\bar{4}40$ では観察され, 440 では消えている. これらから TD1 と TD2 のバーガースベクトルは 110 であることがわかる. 成長転位密度は $10^2 \sim 10^3 \text{ cm}^{-2}$ 程度で一般の結晶に比べても低い転位密度であると言える. これらの実験の試料の作製と放射光施設でのトポグラフ実験の詳細は文献 16),20),25),28),29),31),32) を参照していただきたい.

図6は1ピクセル当たり約 $16 \mu\text{m}$ の分解能をもつ CCD

システムによって観察されたわれわれの正方晶 HEWL 結晶の結果を示す. 単色放射光は図3と図5で観察された結晶と同じ条件で 001 に垂直な方向から入射されている. 解析方法など詳細は文献 36) を参照していただきたい. 図6はその各結晶の位置での局所的ロッキングカーブのピーク位置のマッピング (a) とそのロッキングカーブの半値幅のマッピング (b) を示している.

図6a からわかるようにピーク位置は右下 (薄青) から左上 (赤) に変化し, その相対位置は約 0.028° だけずれている. また結晶全体をみると色は結晶全体で一様でなく, 島状になっていることから, いくつかのサブドメインから結晶が構成されていることがわかる. 半値幅の分布もほぼ同様で青の領域では個々のサブドメインの半値幅の絶対値は $0.0015 \sim 0.0035^\circ$ と悪くはないが一様でなく島状構造が観察される. このように結晶各領域でのデータから結晶全体のマッピングをすることによって結晶の評価を定量的に行うことができる. 特にタンパク質結晶はモザイク構造を取ると考えられていることからこの CCD システムによるマッピングは結晶の完全性の評価に有効であると考ええる.

3.2 斜方晶³⁰⁾⁻³²⁾

HEWL 結晶はいくつかの多形を有し, 斜方晶はその1つである. 図7は長さが 5 mm で厚さが 2 mm 程度の大きな結晶の (001) 面に垂直に入射光を導入したときの 002 反射によるフィルム法によるトポグラフ像である.³¹⁾ 転位像は

図5よりもさらにクリアになっている。図7a中の直線状転位群OD1とOD2を図7bとcで拡大してみると、OD1は⑤と⑥、OD2は①から④となり、これらの転位も立方晶と同じくサブバウンダリーや介在物から発生し、結晶成長に伴い成長方向の $\langle 100 \rangle$ 方向に沿って伸びていることがわかる。これらの転位のバーガースベクトルは $[001]$

図7 斜方晶 HEWL 結晶の単色放射光トポグラフ。
(Dislocation structures in orthorhombic HEWL crystals by synchrotron monochromatic X-ray topography.³²⁾)

と特定されている。³²⁾ 転位の形状は基本的に正方晶 HEWL に似ている。

3.3 単斜晶^{31),33)}

単斜晶 HEWL は結晶成長の機構が正方晶と斜方晶結晶とは少し異なる。図8からBの位置が結晶核と考えられ、b軸すなわち $[010]$ 方向の成長速度が $+b$ 方向と $-b$ 方向では異なり、 $+b$ 方向のほうが速いことがわかる。このために結晶表面が荒れることが知られている。図8は $(10\bar{1})$ 面に垂直に入射され、020反射ベクトルによるフィルム法を用いたトポグラフ像である。³¹⁾ 種々の転位が観察されるが、特徴的なのは直線状の転位のほかに、曲線状の転位や転位ループも多く観察されることである。正方晶や斜方晶は主に直線状の転位が多く観測されていたが、単斜晶では曲線状の転位が主に観察される。この理由としては $[010]$ 方向の成長速度の異方性に表れているようにほかの結晶構造とは転位の発生機構が異なり、空孔やボイドがつぶれることによるループ状転位の発生や、転位源からの増殖によるループ状の転位が発生によるものと考えられる。図8で別の方向からトポ像を撮ると、転位群は層状に $\langle 101 \rangle$ 方向に並んでいる。このことは転位がある特定の面内で発生していることと、転位源から増殖していることを示唆している。

このように同じ HEWL 結晶でも結晶構造によって、その分布や配置が異なることが明らかになった。

4. 今後の展望

初めに述べたようにタンパク質結晶に代表される超高分子結晶の完全性の研究は緒についたばかりである。今後2つの道があると考え。1つはタンパク質結晶の完全性の評価の問題である。結晶構造解析の立場からは高次の反射が得られ解析ができればよいのであろう。しかしながら、育成した結晶の評価法を確立する必要がある。そのためにはフィルム法の放射光トポグラフにより欠陥を特定

図8 単斜晶 HEWL 結晶放射光トポグラフ。(Dislocation structures in monoclinic HEWL crystals by monochromatic synchrotron X-ray topography.³³⁾)

し、デジタルトポグラフによるロッキングカーブのマッピングからそのパターンと欠陥との特定を行うことである。

もう1つはタンパク質結晶を新しい材料として、その力学的性質、電気的性質、光学的性質を利用することがこれからの材料開発の点から重要である。そのためには欠陥を理解しなければならない。それは金属結晶や半導体結晶などの無機結晶が辿った道である。特に、タンパク質結晶は多量な水分子(結晶水)を含み、かつその水分子もタンパク質分子に結合した水分子と結晶中を自由に動ける水分子とがある。これは、ある意味でタンパク質はポーラス物質であり、ドーピングによっていろいろな機能を発現させる可能性を秘めている。ドーピング物質分布や水分子の分布、またそれらと欠陥の相互作用を理解しなければならない。これらを解決するためには、放射光トポグラフの分解能を上げること、特にCCDシステムの分解能をフィルムの分解能以上にすること。もう1つは水分子の水素のような軽元素を追跡するために中性子線トポグラフの研究も必要となること、である。このように21世紀の結晶構造解析のため、さらに新材料開発のために放射光X線トポグラフと中性子線トポグラフの研究は重要になる。

謝 辞

本研究は実験に関しては、主に横浜市立大学で行われ、小泉晴比古博士、小石真由美、大矢直希、北島菜津子、向林祐、山元悠、澤浦拓也、沈夢遠、藤居大毅、諸氏により、デジタルトポグラフのデータ解析に関しては主に横浜創英短期大学の若生啓博士による。また、放射光実験にあたってはKEKPFの杉山弘教授、SPring-8の梶原堅太郎博士のご指導をいただいた。ここに皆様に深く感謝する次第である。

これらの研究は主に文部科学省科学研究費基盤研究C(課題番号18560648と22560661)によっている。放射光トポグラフの実験はKEKPFでは主に課題番号(2005G0150, G2006G260, 2007G150, 2009G099), SPring-8では課題番号(2005A0405, 2007B1464)による。

文 献

- 1) 新村信雄, 荒井栄揮: 日本マイクログラフィティ応用学会誌 **20**, 111 (2003).
- 2) B. K. Tanner: "X-ray Diffraction Topography", 1st edition, Oxford, Pergamon Press (1976).
- 3) D. K. Bowen and B. K. Tanner: "High Resolution X-ray Diffractometry and Topography", Taylor and Francis, London (1998).
- 4) A. Authier: "Dynamical Theory of X-Ray Diffraction", Oxford University Press, Oxford (2001).
- 5) M. Tachibana and K. Kojima: *Current Topics in Crystal Growth* **6**, 35 (2002).
- 6) M. Tachibana, H. Koizumi and K. Kojima: *Phys. Rev.* **E69**, 051921 (2004).
- 7) H. Koizumi, M. Tachibana and K. Kojima: *Phys. Rev.* **E73**, 041910-1 (2006).
- 8) H. Koizumi, M. Tachibana, H. Kawamoto and K. Kojima: *J. Phys. D: Appl. Phys.* **41**, 074019-1 (2008).
- 9) H. Koizumi, M. Tachibana and K. Kojima: *Phys. Rev.* **E79**, 061917-1 (2009).
- 10) R. Fourme, A. Ducrulx, M. Ries-Kautt and B. Capelle: *J. Synchrotron Rad.* **2**, 136 (1995).
- 11) V. Stojanoff and D. P. Siddons: *Acta Cryst.* **A52**, 498 (1996).
- 12) K. Izumi, S. Sawamura and M. Ataka: *J. Cryst. Growth* **168**, 106 (1996).
- 13) V. Stojanoff, D. P. Siddons, L. Monaco, P. Vekilov and F. Rosenberger: *Acta Cryst.* **D53**, 588 (1997).
- 14) I. Dobrianov, K. D. Finkelstein, S. G. Lemay and R. E. Thorne: *Acta Cryst.* **D54**, 922 (1998).
- 15) F. Otalora, J. M. Garcia-Ruiz, J. A. Gavira and B. Capelle: *J. Cryst. Growth* **196**, 546 (1999).
- 16) K. Izumi, K. Taguchi, Y. Kobayashi, M. Tachibana, K. Kojima and M. Ataka: *J. Cryst. Growth* **206**, 155 (1999).
- 17) T. J. Boggon, J. R. Helliwell, R. A. Judge, A. Olczak, D. P. Siddons, E. H. Snell and V. Stojanoff: *Acta Cryst.* **D56**, 868 (2000).
- 18) Z. W. Hu, B. Lai, Y. S. Chu, Z. Cai, D. C. Mancini, B. R. Thomas and A. A. Chernov: *Phys. Rev. Lett.* **87**, 148101-1 (2001).
- 19) W. M. Vetter, D. T. Gallagher and M. Dudley: *Acta Cryst.* **D58**, 579 (2002).
- 20) M. Tachibana, H. Koizumi, K. Izumi, K. Kajiwarra and K. Kojima: *J. Synchrotron Rad.* **10**, 1 (2003).
- 21) D. T. Gallagher, C. Stover, D. Charlton, L. Arnowitz and D. R. Blacka: *J. Cryst. Growth* **255**, 403 (2003).
- 22) Z. W. Hu, Y. S. Chu, B. Lai, B. R. Thomas and A. A. Chernov: *Acta Cryst.* **D60**, 621 (2004).
- 23) D. Lübbert, A. Meents and E. Weckert: *Acta Cryst.* **D60**, 987 (2004).
- 24) B. Capelle, Y. Epelboin, J. Härtwig, A. B. Moraleda, F. Otálora and V. Stojanoff: *J. Appl. Cryst.* **37**, 67 (2004).
- 25) H. Koizumi, M. Tachibana and K. Kojima: *Phil. Mag.* **85**, 3709 (2005).
- 26) J. J. Lovelace, C. R. Murphy, H. D. Ballamy, K. Brister, P. Pahl and G. E. O. Borgstahl: *J. Appl. Cryst.* **38**, 512 (2005).
- 27) J. J. Lovelace, C. R. Murphy, H. D. Ballamy, P. Reinhard, K. Brister and G. E. O. Borgstahl: *J. Appl. Cryst.* **39**, 425 (2006).
- 28) I. Yoshizaki, S. Fukuyama, H. Koizumi, M. Tachibana and K. Kojima: *J. Cryst. Growth* **290**, 185 (2006).
- 29) H. Koizumi, M. Tachibana, K. Kojima and I. Yonenaga: *Physica B* **401-402**, 691 (2007).
- 30) H. Koizumi, M. Shimizu, M. Tachibana and K. Kojima: *Phys. Status Solidi A* **204**, 2688 (2007).
- 31) M. Koishi, N. Ohya, Y. Mukobayashi, H. Kitajima, H. Koizumi, K. Kojima and M. Tachibana: *J. Crystal Growth and Design* **7**, 2182 (2007).
- 32) Y. Mukobayashi, N. Kitajima, Y. Yamamoto, K. Kajiwarra, H. Sugiyama, K. Hirano, K. Kojima and M. Tachibana: *Phys. Status Solidi A* **206**, 1825 (2009).
- 33) T. Sawaura, D. Fujii, M. Shen, Y. Yamamoto, K. Wako, K. Kojima and M. Tachibana: *J. Cryst. Growth* **318**, 1071 (2011).
- 34) B. K. Tanner: *Phys. Status Solidi A* **10**, 381 (1972).
- 35) W. Ludwig, P. Cloetens, J. Härtwig, J. Baruchel, B. Hamelin and P. Bastie: *J. Appl. Cryst.* **34**, 602 (2001).
- 36) 若生 啓, 小島謙一: 横浜創英短期大学紀要, 第5号, pp.21-23 (2009); 第6号, pp.23-25 (2010).

プロフィール

小島謙一 Kenichi KOJIMA
横浜創英大学 (平成 24 年 4 月より), 横浜創英短期
大学 (平成 24 年 3 月まで)
Yokohama Soei University
〒 226-0015 横浜市緑区三保町 1
1 Miho-cho, Midori-ku, Yokohama 226-0015, Japan
e-mail: kkojima@soei.ac.jp
最終学歴: 東北大学工学研究科博士課程金属材料
学専攻
専門分野: 格子欠陥
現在の研究テーマ: タンパク質のような巨大分子
結晶の格子欠陥
趣味: 鉄道マニア, テニス

橘 勝 Masaru TACHIBANA
横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科
Graduate School of Nanobioscience, Yokohama City
University
〒 236-0027 横浜市金沢区瀬戸 22-2
22-2 Seto, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0027, Japan
e-mail: tachiban@yokohama-cu.ac.jp
最終学歴: 早稲田大学大学院理工学研究科
専門分野: 材料科学, 固体物理
現在の研究テーマ: ナノカーボン, タンパク質,
有機半導体などの分子性結晶の育成と新規物性の
探索