

平成23年度特別経費（プロジェクト分）
「香川グライコリソース（希少糖・ヒト型糖鎖）を用いたナノ糖質生命科学研究推進事業」
研究グループ別研究成果報告書

（本報告書は、必要に応じてホームページ上で公開しますので、知的財産に関連する記述等については注意してください。）

研究組織			
研究グループの組織について記述してください。メンバーは教員ばかりでなく、本研究に携わっている非常勤職員・学生も記載してください。			
研究課題名	希少糖の単結晶 X 線構造解析および粉末 X 線構造解析		
グループリーダー	氏 名	所属・職名	連絡先
	石井 知彦	工学部・教授	e-mail
			本人
秘書等			
メンバー	氏 名	所属・職名 (学年)	分担事項・役割等
	山内 彰史	工 学 研 究 科・M2	希少糖および希少糖・天然型単糖超分子の粉末 X 線構造解析および電子状態の解明
	茅原 静佳	工 学 研 究 科・M1	希少糖および希少糖生産酵素の X 線結晶解析
	大賀 俊輔	工学部・B4	希少糖および希少糖・天然型単糖超分子の粉末 X 線構造解析および電子状態の解明

平成 23 年度研究成果概要

研究成果概要についてわかりやすく記載してください。できるだけ、図を挿入してください。すでに当該年度に外部に発表を行った成果については、研究業績欄の業績番号と対応させてください。

①希少糖生産酵素の X 線結晶解析（総合生命科学研究センター・希少糖研究センターと共同で実施）

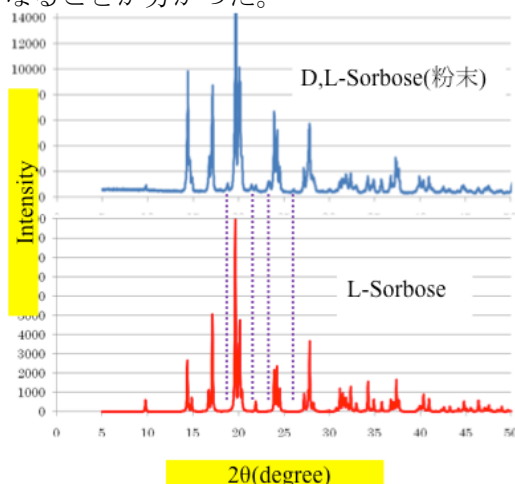
希少糖の大量生産を行う上で、希少糖異性化酵素における異性化のメカニズムを調べることは、極めて重要である。我々は、基質の異性化のメカニズムを、希少糖異性化酵素中における異性化反応中心金属の周りの電子構造を研究する目的で、希少糖異性化酵素の詳細な結晶構造データを必要としている。そのために、希少糖異性化酵素の単結晶構造解析、および希少糖異性化酵素に種々の基質を取り込んだ単結晶構造解析を行っている。これまで、希少糖異性化酵素 (*Pseudomonas cichorii* 由来の D-tagatose-3-epimerase (PcDTE)) について、一部のアミノ酸残基を置換した PcDTE-C66S を単結晶化し、その構造解析を行ってきたが、今年度はさらに研究を進め、PcDTE-C66A についても単結晶化を試みた。さらに D-tagatose などの基質をソーキングし、結晶構造解析を行った。

②希少単結晶の X 線構造解析（総合生命科学研究センター・希少糖研究センター・合同会社希少糖生産技術研究所と共同で実施）

我々の研究室では、一貫して、天然型単糖および希少糖の $C_6H_{12}O_6$ 六単糖構造異性体の単結晶構造解析を行っている。これまでは、単結晶の試料を作成し、単結晶 X 線回折装置を用いて構造解析を行ってきたが、現在、結晶性の良い単糖類の構造解析実験はほぼ終了してしまっただけで、今年度は、新たに、単結晶を得ることが困難で粉末結晶しか得られない種々の結晶構造解析を行った。中でも、D-gulose に関しては、粉末 X 線回折装置を用い、得られた回折プロファイルから、「実格子法」と呼ばれる特殊な解析を行うことにより、単結晶構造解析を行った際と同程度の精度を有する結晶構造解析を行うことに成功した。

③希少糖・天然型単糖超分子の粉末 X 線構造解析（希少糖研究センター・合同会社希少糖生産技術研究所と共同で実施）

昨年度から、我々のグループでは、イズモリング上に存在する全 34 種類の天然型単糖および希少糖単分子を複数種組み合わせ、「超分子」の合成並びに構造解析を行ってきた。昨年度は、フルクトースとプシコースとからなる 3:1 の化学組成を有する超分子を合成した。さらに今年度は、D-sorbose と L-sorbose とからなる 1:1 の超分子や、glucose と fructose からなる 1:1 の超分子などを合成することに成功した。これらの粉末 X 線回折パターンの解析を行った結果、D-sorbose 単体で見られる分子内ディスオーダーが、D,L-sorbose 超分子でも見られ、かつ、D 体と L 体との間にも水素結合が見られるような、強固な超分子が構築されていることが明らかとなった。一方 glucose と fructose からなる超分子では、溶液の仕込み比率を 3:1 から 6:1 程度に変化させても、得られる超分子の化学組成は、1:1 となることが分かった。



図、D,L-sorbose 超分子（上）および D-sorbose 単体における粉末 X 線回折プロファイル。

今後の研究計画

平成 23 年度に得られた研究成果を踏まえ、今後の研究計画について具体的に記載してください。図を挿入してもかまいません。

今後の研究計画は、平成 23 年度に行われた研究を基本的には踏襲する。以下に、変更点を挙げる。

①希少糖異性化酵素については、金属周りの詳細な構造を得ることを最優先の課題とする。アミノ酸を置換した種々の酵素の単結晶化に挑戦しているが、なかなか良質な結晶が得られない。そこで、アミノ酸配列を PcDTE-C66S のまま、ソーキングする基質の種類を変化させて、単結晶構造解析を行いたい。

②現在のところ、単結晶でなくとも、粉末試料でも構造解析を行う事が出来るようになった。そのため、今年度は、結晶構造解析に成功する単糖、および糖アルコール類の種類が飛躍的に多くなると期待している。

③超分子に関しては、イズモリング上での組み合わせは、事実上無限大であり、あらゆる組み合わせの超分子を合成することが出来る。ただし、一方では、「希少糖がなぜ希少なのか」という問題に対して電子論的に解明を行っていきたいと思っている。このことについては、希少糖同士の組み合わせによる超分子の合成だけではなく、天然型単糖同士の組み合わせや、さらに天然型単糖と希少糖との組み合わせなどを行う事により、詳細な研究を行う事が出来るものと考えている。

特記すべき事項

本研究に関する受賞（学生対象の賞も含む）・プレスリリース・大型外部資金獲得につながった等、特記すべき事項があれば記述してください（ささいなことでもかまいません）。本欄は必須ではありませんので、「該当なし。」でも可ですが、できるだけ記載してください。

例年感じていることではあるが、本事業を通して、香川大学の複数の学部及び研究センター、機構との連携が深まり、より研究に厚みが増してきた。我々のグループからは、修士学生一名が総合生命科学研究センターの神鳥教授らの研究室で、希少糖関連酵素の単結晶化や高分子 X 線構造解析及び電子密度の解析などを行っている。また、総合生命科学研究センターや希少糖研究センターとの共同研究により、希少糖単結晶の提供を受け、我々のグループではその単結晶構造解析と分子の電子状態計算を行っている。さらに希少糖研究センターとの共同研究では、希少糖超分子という新しい範疇の希少糖化合物を扱うことになり、これまで行わなかった粉末 X 線構造解析とリートベルト解析なども行うようになった。この様な学部やセンターの垣根を越えた「実質的な」学生交流は、教育研究を主として行う大学において、極めて強力であり、有意義である。

研究業績

本研究に関連した、平成 23 年度中の発表した、[1] 査読がある原著論文 (Corresponding Author には*印を付す。), [2] 著書, [3] 招待講演, [4] 学会発表 (発表者には○印), [5] 産業財産権 (特許等), [6] その他 (プロシーディング, 査読がない論文, 投稿記事等) を通し番号を付して記入してください。本事業の参加者にはアンダーラインを引いてください。記入欄が足りない場合は、用紙を追加してください。

[1] 査読がある原著論文

S. Kamitori,* A. Ueda, Y. Tahara, H. Yoshida, T. Ishii, and J. Uenishi, "Crystal Structures of Rare Disaccharides, α -D-glucopyranosyl β -D-psicofuranoside, and α -D-galactopyranosyl β -D-psicofuranoside", *Carbohydrate Res.*, **346(9)**, 1182-1185 (2011).

A. Yamauchi, S. Kayahara, Y. Tahara, T. Ishii,* G. Sakane, K. Fukada, and K. Izumori, "Crystal Structure and Electronic Structure of Rare Sugar Superlattice", *Bull. Soc. Discrete Variational X α* , **23(1-2)**, 229-232 (2010).

Y. Tahara, T. Ishii,* M. Yamaji, Y. Yatanabe, K. Takeshima, S. Kamitori, H. Yoshida, and K. Izumori, "X-Ray Structure Analyses and Electronic Structure of Rare Sugars", *Bull. Soc. Discrete Variational X α* , **23(1-2)**, 213-216 (2010).

[2] 著書

該当なし。

[3] 招待講演

該当なし。

[4] 学会発表(○は発表者)

(11/Nov./2011), ○Akifumi Yamauchi, Shizuka Kayahara, Shunsuke Ohga, Tomohiko Ishii, Kazuhiro Fukada, Kenji Morimoto, Ken Izumori, Mineo Sato, and Genta Sakane, "Powder Pattern X-Ray Crystal Structural Analysis of β -D-Gulose", The 5th Symposium of International Society of Rare Sugar (Rare Sugar Congress 2011), Kagawa, Japan.

(11/Nov./2011), ○Shizuka Kayahara, Tomohiko Ishii, Akihide Yoshihara, Ken Izumori, George W. J. Fleet, Hiromi Yoshida, and Shigehiro Kamitori, "X-Ray Structure of 1-Deoxy-1-Fluoro-L-Tagatose", The 5th Symposium of International Society of Rare Sugar (Rare Sugar Congress 2011), Kagawa, Japan.

(9/Nov./2011), ○Hiromi Yoshida, Mitsugu Yamada, Kosei Takeda, Takeyori Nishitani, Yuya Ohyama, Masatsugu Yamaji, Tomohiko Ishii, Goro Takata, Ken Izumori, and Shigehiro Kamitori, "X-Ray Structures of the Enzymes used for Rare Sugar Production and their Catalytic Reaction Mechanisms", The 5th Symposium of International Society of Rare Sugar (Rare Sugar Congress 2011), Kagawa, Japan.

(9/Nov./2011), ○Tomohiko Ishii, Yasuhiro Tahara, Akifumi Yamauchi, Shizuka Kayahara, Shunsuke Ohga, Kazuhiro Fukada, Kenji Morimoto, Ken Izumori, Shigehiro Kamitori, and Hiromi Yoshida, "Crystal Structures and Electronic Structures of Rare Sugar Molecules and Supermolecules", The 5th Symposium of International Society of Rare Sugar (Rare Sugar Congress 2011), Kagawa, Japan.

(2011 年 8 月 8 日)、「希少糖単結晶および単分子における安定構造と電子状態」、○茅原静佳、山内彰史、大賀俊輔、田原康宏、石井知彦、深田和弘、何森健、吉田裕美、神鳥成弘、坂根弦太、第 24 回 DV-X α 研究会(2011)、静岡大学、静岡。

(2011 年 8 月 8 日)、「DV-X α 法を用いた粉末 X 線構造解析のための初期位相の決定」、○山内彰史、茅原静佳、大賀俊輔、石井知彦、佐藤峰夫、坂根弦太、第 24 回 DV-X α 研究会(2011)、静岡大学、静岡。

[5] 産業財産権 (特許等)

該当なし。

[6] その他 (プロシーディング, 査読がない論文, 投稿記事等)

該当なし。