

平成24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	糖鎖結合タンパク質および糖質関連タンパク質の X 線結晶解析			
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	TEL	
			e-mail	本人 tishii@eng.kagawa-u.ac.jp
	秘書等			
メンバー	氏名	所属・職名 (学年)	分担事項・役割等	
	茅原 静佳	工学研究科・M2	希少糖、希少糖誘導体および希少糖生産酵素の X 線構造解析および電子状態の解明	
	大賀 俊輔	工学研究科・M1	希少糖、希少糖誘導体および希少糖生産酵素の X 線構造解析および電子状態の解明	
	土屋 公奈	工学部・B4	天然型単糖、希少糖および希少糖超分子の単結晶・粉末 X 線構造解析および電子状態の解明	

平成24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）

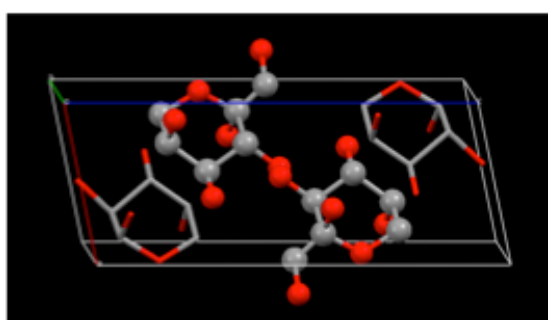
希少糖の研究をさらに発展させるためには、現在の異性化酵素に代わる新たな酵素の利用とミュートーションが必要であるが、それ以前に、DTE そのものの異性化メカニズムを詳しく調べる必要がある。我々のグループは、金属錯体の中心金属周りの電子状態の計算を精度良く行う技術を有しており、異性化酵素の反応活性中心（Mn イオン）の周りの詳細なアミノ酸残基の立体構造データを必要としている。そのため、希少糖異性化酵素（*Pseudomonas cichorii* 由来の D-tagatose-3-epimerase (PcDTE)) について、一部のアミノ酸残基を置換した PcDTE-C66S を単結晶化し、その構造解析を行った。さらに基質をソーキングし、D 体と L 体の違いなどによる基質認識の違いなどを、単結晶 X 線構造解析の手法を用いて明らかにしてきた。

②天然型単糖と希少単結晶の 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 $C_6H_{12}O_6$ 組成を有する六単糖構造異性体の単結晶構造解析を行っている。昨年度は、希少糖の中でも極めて希少である D-gulose の結晶構造解析に世界ではじめて成功した。しかし、粉末結晶を用いて解析を行ったために精度が良くなかった。今年度は、D-gulose の単結晶を得ることに成功し、高い精度での単結晶 X 線構造解析を行う事が出来た。加えて、天然型単糖である D-Mannose の最安定構造も初めて決定した。

③希少糖超分子の単結晶・粉末 X 線構造解析（希少糖研究センターと共同で実施）

一般的な有機物は、周期表上の元素、特に炭素や酸素や水素などが化学結合を行う事で構成される。一方我々は、新たに希少糖超分子という学際領域を立ち上げ、昨年度から研究を進めてきた。具体的には、Izumoring を周期表と認識することで、その Izumoring 上に存在する 34 種類の六単糖を新たな building block に見立て、原子を並べるかのごとく六単糖を自由に組み合わせることによって希少糖超分子を構築するという計画である。今年度は、psicose や allose を基準として、これらの糖に様々な六単糖を組み合わせることによって超格子構造を有した超分子を得ることに成功した。特に、D-psicose と L-psicose の組み合わせや、D-fructose と L-fructose との組み合わせでは、単結晶が得られた。これは、我々が世界で初めての例として報告した DL-sorbose に続き、世界で二例目となる希少糖超分子の報告例となる。



D体・・・Stick形式
L体・・・Ball and stick形式

Formula	$C_{12}H_{24}O_{12}$	
Crystal system	triclinic	
Space group	P-1 (#2)	
Cell lengths [Å]	a	5.433
	b	10.1543
	c	13.5663
Cell angles [°]	α	90.0000
	β	78.346
	γ	90.0000
Cell volume [Å ³]	V	733.001
Z value	Z	2
R-factor [%]	R	—

図、希少糖超分子 DL-fructose の単結晶 X 線構造解析結果。

今後の研究計画

平成24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24年度に行われた研究を基本的には踏襲する。以下に、これまでの研究との変更点を挙げる。

①異性化酵素の種類については、C66Sの他にC66Aの単結晶も得られていることから、まずはこれらの単結晶X線構造解析を行い、また、C66Sにソーキングされた基質によって、様々な炭素位置でエピマライズされる可能性が示唆されたことから、同様の研究もC66Aで行いたい。特に、D体とL体の違いによって鎖状だけではなく6員環のまま取り込まれることが分かり、今後は、分子の化学安定性などについても研究を行っていききたい。

②これまでIzumoring上の六単糖、特に希少糖の単結晶化とX線構造解析を進めてきたが、実は、天然型単糖であるD-mannoseの精度の良い単結晶構造データがまだ報告されていないことが分かった。このほかにも、単糖の構造データで未だ報告されていない分子が多数存在しており、これらについての単結晶化とX線構造解析、および電子状態計算を行っていききたい。

③超分子に関しては、イズモリング上に存在する34種類間の組み合わせは、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。しかし今年度、様々な糖の組み合わせを用いて希少糖超分子の合成を試みたが、超格子が出来ていることが確認されただけで、単結晶を得ることが極めて困難であった。電子構造を決定するためには単結晶を得ることが必要不可欠である。そこでひとまず、DLラセミ型の希少糖超分子を合成し、単結晶を得て、構造解析を行うと言うことを、これまで成功しているケトースのみではなく、アルドースにも適用していききたいと考えている。

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。

本事業を通して、香川大学の複数の学部、センター、および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、修士学生二名（茅原・大賀）が総合生命科学研究センターの神鳥教授・吉田准教授の研究室で、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（学部生の土屋）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DASHを用いた粉末X線構造解析なども行うようになった。このよう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24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

T. Ishii*, M. Kenmotsu, K. Tsuge, G. Sakane, Y. Sasaki, M. Yamashita, and B. K. Breedlove, "Luminescence Wavelengths and Energy Level Structure of Dinuclear Copper Complexes and Related Metal Complexes", *Progress in Theoretical Chemistry and Physics*, B26, Chapter 20, 377-392, Springer, ISSN: 1567-7354, (2012).

N. Tsurumachi*, H. Okamoto, K. Ishii, H. Kohkami, S. Nakanishi, T. Ishii, N. Takahashi, C. Dou, P. Wen, and Q. Feng, "Formation of Aggregates in Nanohybrid Material of Dye Molecules-Titanate Nanosheets", *J. Photochem. Photobio. A: Chem.*, 243, 1-6 (2012).

[2] 著書

該当なし。

[3] 招待講演

「スピנקロスオーバー現象を制御するための新規田辺・菅野ダイアグラム」、石井知彦、電気学会光・量子ビームによるナノダイナミクス応用技術調査専門委員会第1回研究会、愛媛大学、愛媛。

[4] 学会発表(○は発表者)

「希少糖分子の結晶構造解析」、○大賀俊輔、茅原静佳、土屋公奈、坂根弦太、石井知彦、日本化学会第93春季年会、立命館大学、滋賀。

「X線構造解析による *Pseudomonas cichorii* D-タガトース 3-エピメラゼにおける 1-deoxy 3-keto-D-galactitol の認識機構に関する研究」、○吉田裕美、茅原静香、吉原明秀、寺岡美沙、石井知彦、何森健、神鳥成弘、第85回日本生化学会大会、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡、福岡。

「希少糖の電子状態計算と結晶の安定性」、○石井知彦、山内彰史、大賀俊輔、田原康宏、茅原静佳、深田和宏、森本兼司、何森健、下西剛、坂根弦太、第25回 DV-X α 研究会、福岡大学、福岡。

「DV-X α 法を用いた希少糖及び二糖の結晶構造の安定性」、○大賀俊輔、山内彰史、茅原静佳、土屋公奈、石井知彦、坂根弦太、第25回 DV-X α 研究会、福岡大学、福岡。

○Nik Afiza Binti Mohamad Mran; Tomohiko Ishii; So Kataoka; Yuji Watanabe; Arisa Yamasaki; Genta Sakane, "Electronic Structure and Coordination Environmental Dependence of Dinuclear Metal Complexes Having Multiple Bonds", 日本化学会第93春季年会、立命館大学、滋賀。

「人工光合成を目指した Mn 多核錯体酸素発生中心の電子状態計算」、○石橋昂大、吉田祐規、松嶋領、坂根弦太、石井知彦、日本化学会第93春季年会、立命館大学、滋賀。

「有機化合物の電子構造と吸収スペクトルの理論的予測」、○濱野一弘、中田ちか、渡辺洋平、小川禅、石井知彦、坂根弦太、日本化学会第93春季年会、立命館大学、滋賀。

「三次元分光化学系列と新規田辺-菅野ダイアグラムの作成」、○松嶋領、石井知彦、日本化学会秋季事業第2回 CSJ 化学フェスタ、東京工業大学、東京。

○Masahiro Funahashi, Akinari Sonoda, and Tomohiko Ishii, "Vacuum Sublimation of Liquid-Crystalline Phenylterthiophene Derivative", *International Union of Materials Research Societies - International Conference on Electronic Materials 2012 (IUMRS-ICEM 2012)*, Yokohama, Japan.

[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。