

平成25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	本人
			e-mail	秘書等
		tishii@eng.kagawa-u.ac.jp		
メンバー	氏名	所属・職名 (学年)	分担事項・役割等	
	大賀 俊輔	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	
	妹尾 辰也	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 25 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）

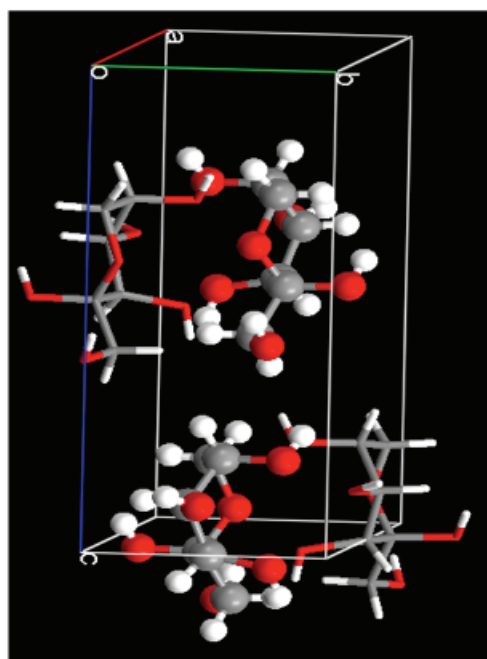
希少糖は、天然型単糖を酵素によって異性化することによって大量生産が可能となっているが、その酵素の異性化のメカニズムはまだ明らかになっていない。活性中心の金属錯体の電子状態を明らかにすることが出来れば、さらに多数の種類の異性化酵素を作成することも可能となってくる。我々は一貫して、異性化酵素（*Pseudomonas cichorii* 由来の D-tagatose-3-epimerase (PcDTE)）のアミノ酸残基のミューテーションを行い、その構造解析を行ってきた。基質認識を変化させることにより、金属錯体周りの構造の変化と電子状態の変化を調べた。

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）

希少糖及び天然型単糖において、これまで過去にその単結晶の絶対構造が報告されていない六単糖構造異性体が数多く存在している。昨年度に、D-gulose の単結晶における X 線構造解析に世界ではじめて成功したが、結晶性の質が悪く、回折データの精度が悪かったために、得られた構造データを論文として登録することが出来なかった。今年度は、さらに解析の精度を向上させ、実験によりキラル体の絶対配座の決定までをも行う事に成功した。このデータについての論文の投稿準備を進めている。

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）

2011 年に開催された希少糖国際会議において、我々は新しい希少糖のカテゴリーである超分子希少糖という化合物を発表し、国際希少糖学会において新しい希少糖の定義の一つとして認定を受けた。また、2014 年 3 月に開催された希少糖国際会議においても、さらに詳しい説明を行った。これまで、二種類ほどの超分子希少糖の単結晶構造解析に成功してきたが、今年度はさらに 8 種類の新規超分子希少糖の合成に成功した。そのうちの 5 種類からは質の高い単結晶構造解析データが得られており、新規デバイスとしての応用も見込まれている。また、六単糖のみならず、アラビノースなど五炭糖からなる超分子希少糖の合成にも成功した。



	D-psicose(CSD)	This work
Formula	$C_6H_{12}O_6$	
Crystal System	orthorhombic	orthorhombic
Space group	$P2_12_12_1$	$Pna2_1$
Cell length [Å]	a	7.727
	b	8.672
	c	11.123
Cell angles [°]	α	90
	β	90
	Γ	90
V[Å ³]	745.336	763.215
Z	4	4
R		6.35

図、Supramolecular Rare Sugar (SRS): D-Psi : L-Psi = 1 : 1 の単結晶 X 線構造解析結果。

今後の展望

本事業期間内（平成22－25年度）に得られた研究成果を踏まえ、今後の研究発展の展望について記載してください。図を挿入してもかまいません。

これまでの研究をまとめ、今後の研究の展望と抱負を述べる

①これまでに、異性化酵素の単結晶化とその X 線構造解析については、既にいくつかの種類において成功しており、異性化の活性中心である Mn 金属の周囲の詳細な構造が明らかになってきた。今後は、なぜ糖が異性化されるのか、そのメカニズムを解明するために、金属の周りの構造を抜き出し、電子状態計算を進めていきたい。

②六単糖については、この4年間の研究において、結晶成長がしやすい単糖類についてはほとんど全ての研究が終わっている。現在残っているのは、結晶になりにくい、または良質な結晶が得られにくいものばかり残っているため、その単結晶化について問題を抱えている。既に単結晶で得られることが難しい試料については、今後は粉末試料のまま X 線回折実験を行うなど、新たなアプローチが必要であると考えている。

③超分子希少糖については、この一年間でかなり良質な単結晶が得られるようになってきた。そのため、X 線構造解析によって精度の高い構造データを得ることが出来るようになってきた。今後は、出来るだけ異なる種類・異なる OH 基の配向性を有している糖同士の超分子化合物を設計し、物性を連続的に自由自在にコントロールすることを目指す。また、超分子希少糖の応用の例としては、光学デバイスへの応用が期待されている。そのためにはまず、各々のオリジナルの単糖類の旋光度のメカニズムを明らかにし、不斉炭素ごとの旋光性を電子状態計算によって定量的に解析を行い、炭糖分子及び超分子希少糖における旋光性について明らかにしてい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。

現在香川大学では、教育においても研究においても、さらに組織においても大きな改革が検討され始めている。今後は、例えば自然科学系（工学部・農学部・医学部）においてはより密に教員・学生相互の交流が必要であると言われている。その様な背景の中、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実質的に行われており、より研究に厚みが増してきたことは高く評価できると考えている。我々のグループからは、この事業の期間中に、修士学生三名（田原・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きた。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きた。さらに希少糖研究センターとの共同研究（学部生の土屋および妹尾）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。また超分子希少糖に関しては、国際希少糖学会でも新しいカテゴリーの希少糖であるとして認知され、「ビジネス香川」でも紹介させていただいた。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。今後も是非継続していただきたい。

研究業績

本研究に関連した、平成25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* R. Matsushima, M. Iwakura, R. Watanabe, K. Hamano, H. Seo, K. Ogasawara, and G. Sakane, "Controlling of a Ligand Field Splitting in a Metal Complex", Bull. Soc. Discrete Variational $X\alpha$, 26(1-2), 66-72 (2013).

S. Ohga, T. Senoo, K. Tsuchiya, T. Ishii* and G. Sakane, "Theoretical Calculation of the Metal Complex using a Rare Sugar as a Ligand", Bull. Soc. Discrete Variational $X\alpha$, 26(1-2), 209-212 (2013).

[2] 著書

該当なし

[3] 招待講演

(29/Mar./2014), (Invited), Tomohiko Ishii, Shunsuke Ohga, Kimina Tsuchiya, Tatsuya Senoo, Kazuhiro Fukada, Taro Kozakai, Akihide Yoshihara, and Chihiro Fujimoto, "Supramolecule Rare Sugar (SRS): A New Category of Rare Sugar", Rare Sugar Symposium 2014 in Kagawa, Kagawa, Japan.

(06/Jul./2013), (Invited), Tomohiko Ishii, Ryo Matsushima, Ryosuke Watanabe, Masanori Iwakura, Kazuyoshi Ogasawara, Genta Sakane, and Masahiro Yamashita "Novel Spectrochemical Series and Tanabe-Sugano Diagram for Controlling a Color and a Spin State", Presymposium of 33ICSC, Wakita Symposium, "Recent Progress in Analytical Chemistry", Fukuoka, Japan.

[4] 学会発表(○は発表者)

(2014年3月27-30日)、(口頭)、「スピン多重項の寄与を取り入れた新しい分光化学系列の作成」、○石井知彦、松嶋領、渡邊僚介、岩倉正訓、小笠原一禎、坂根弦太、山下正廣、日本化学会第94春季年会、名古屋大学、愛知。

(2013年11月3日)、(口頭)、「三次元分光化学系列と新規田辺・菅野ダイヤグラム」、○石井知彦、松嶋領、渡邊僚介、岩倉正訓、小笠原一禎、坂根弦太、山下正廣、錯体化学会第63回討論会、琉球大学、沖縄。

(2013年11月3日)、(ポスター)、「Pseudomonas cichorii ST-24株由来のD-tagatose 3-epimeraseおよびその単糖異性化中間体の電子状態計算」、○大賀俊輔、石井知彦、妹尾辰也、神鳥成弘、吉田裕美、坂根弦太、茅原静佳、土屋公奈、錯体化学会第63回討論会、琉球大学、沖縄。

(20/Aug./2013), (Poster), ○Tomohiko Ishii, Ryosuke Watanabe, Ryo Matsushima, Masanori Iwakura, Hiromi Seo, Kazuyoshi Ogasawara, Genta Sakane, and Masahiro Yamashita, "Specific Tanabe-Sugano Diagram for Controlling a Spin Crossover Phenomenon", The 15th Asian Chemical Congress, Singapore, Singapore.

(2013年8月6日)、(口頭)、「金属錯体における配位子場分裂の自由自在制御」、○石井知彦、松嶋領、岩倉正訓、渡邊僚介、濱野一弘、瀬尾浩美、小笠原一禎、坂根弦太、第26回DV- $X\alpha$ 研究会、龍谷大学、京都。

(2013年8月6日)、(ポスター)、「希少糖を配位子とした金属錯体の電子状態計算」、○大賀俊輔、石井知彦、妹尾辰也、土屋公奈、坂根弦太、第26回DV- $X\alpha$ 研究会、龍谷大学、京都。

[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)

(2013年7月18日)、「希少糖と学問の体系化」、石井知彦、ビジネス香川。

(2013年8月1日)、「糖と糖を組み合わせる ～超分子希少糖～」、石井知彦、ビジネス香川。