

平成22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

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	希少糖の単結晶及び粉末 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
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
	田原 康宏	工学部・大学院生(M2)	希少糖および希少糖生産酵素の X 線結晶解析
	山内 彰史	工学部・大学院生(M1)	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	工学部・学部生(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 22 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。なお、本欄は、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。

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）

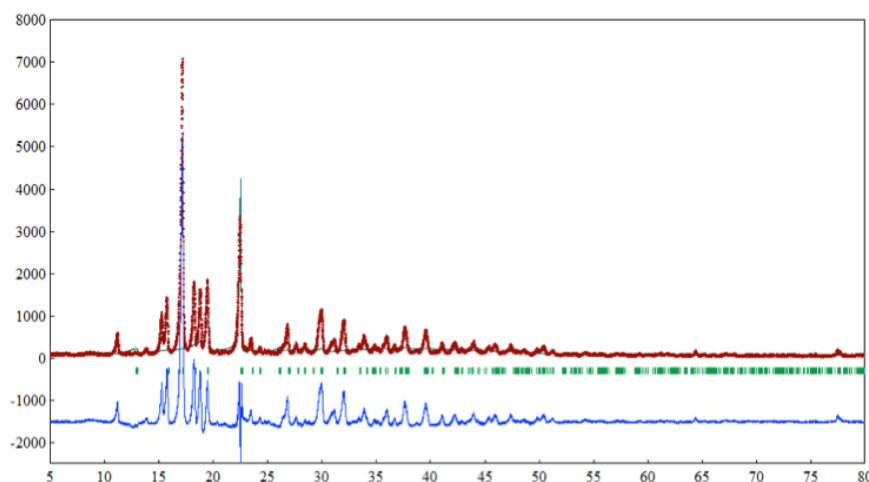
希少糖異性化酵素の単結晶構造解析、および希少糖異性化酵素に種々の基質を取り込んだ単結晶構造解析を行うことは、希少糖を大量合成する際のエピメライズのメカニズムを解明するためにも重要な研究である。我々は、希少糖異性化酵素（*Pseudomonas cichorii* 由来の D-tagatose-3-epimerase (PcDTE)) について、一部のアミノ酸残基を置換した PcDTE-C66S を単結晶化し、その構造解析を行った。また、基質として D-tagatose が取り込まれたものの構造解析も行い、アミノ酸と基質が水素結合している詳しい分子内の構造データを得ることに成功した。

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。今回、新たに、D-itol、L-itol、L-mannitol、D-talitol、L-talitol、 α -D-sorbose、および炭素同位体 ^{13}C がエンリッチされた希少糖 β -D-psicose (^{13}C) について、これらの単結晶構造解析を行った。このうち、D-itol の絶対構造は既に CSD に登録されていたが、今回の構造解析の結果、R-factor を 8% から 3.99% まで下げることが出来た。

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）

上記②の研究により、六単糖 ($C_6H_{12}O_6$) の全 24 種類の D, L 体アルドースおよびケトースの単結晶構造解析の研究は、これまで 6 年間、順調に進んできた。ここで、新たな希少糖関連物質として、希少糖・天然型単糖超分子が提案された。これは、二種以上の六単糖が、単なる混合物としてではなく、結晶レベルで規則正しく含まれている単位格子を有する結晶のことである。これまで、希少糖研究センターでは、希少糖異性化酵素(DTE)を用いて、天然型単糖であるフルクトースから希少糖のプシコースへと異性化を起こす際、偶然にフルクトースとプシコースを同時に取り込まれた結晶を得ることに成功した。そこで我々は、この粉末試料の X 線回折を測定し、フルクトースとプシコースが、単に混合物としてではなく、単位格子を変化させて新たな希少糖・天然型単糖超分子を構築していると言うことを明らかにした。



図、Fructose : Psicose = 3 : 1 からなる希少糖超分子の粉末 X 線回折プロファイル（上）
およびリートベルト解析結果（下）。

今後の研究計画

平成 22 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 22 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希少糖異性化酵素の構造解析については、既に基質周りのアミノ酸残基の構造が分かっているため、金属とアミノ酸および基質周りにおける電子状態計算を行いたい。

②希少糖の単結晶構造解析については、さらに単結晶構造解析が未知である化合物が多く存在していることから、引き続き結晶構造解析を行いたい。

③また、今年度の研究で、初めて希少糖の粉末 X 線構造解析にチャレンジした。粉末から構造を予測することは、単結晶から行うことに比べて何倍も難しいが、②の希少糖化合物の中には、なかなか単結晶が得られないものも含まれているため、今後も積極的に、粉末試料を用いた X 線構造解析を行っていきたい。

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及び研究センターとの連携が深まり、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、今回初めて、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、[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。なお、本欄は、必要に応じてホームページ上で公開します。

[1] 査読がある原著論文

1. K. Fukada,* T. Ishii, K. Tanaka, M. Yamaji, Y. Yamaoka, K. Kobashi, and K. Izumori, "Crystal Structure, Solubility, and Mutarotation of the Rare Monosaccharide D-Psicose", *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **83(10)**, 1193-1197 (2010).
2. Y. Tahara, T. Ishii,* and G. Sakane, "Mechanism of Ferromagnetic Interaction Among Copper(II) $s = 1/2$ Spins of Artificial DNA having a Coordination Bond", *Bull. Soc. Discrete Variational $X\alpha$* , **22(1-2)**, 193-197 (2009).
3. H. Yoshida, M. Yamaji, T. Ishii, K. Izumori, and S. Kamitori,* "Catalytic Reaction Mechanism of Pseudomonas stutzeri L-Rhamnose Isomerase Deduced from X-ray Structures", *Fed. Euro. Biochem. Soc. J.*, **277**, 1045-1057 (2010).
4. Y. Watanabe, H. Yoshida, K. Takeda, T. Ishii, and S. Kamitori,* " β -D-Altrose", *Acta Cryst.*, **E65**, o280 (2009).

[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)

5. ○Yasuhiro Tahara, Tomohiko Ishii, Hiromi Yoshida, Shigehiro Kamitori, and Ken Izumori, "Crystal Structure of D-Tagatose 3-Epimerase Cys66Ser from Pseudomonas Cichorii", 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2010), Hawaii, USA.
6. ○Yasuhiro Tahara, Tomohiko Ishii, Masatsugu Yamaji, Yuji Watanabe, Kei Takeshita, Shigehiro Kamitori, Hiromi Yoshida, and Ken Izumori, "X-Ray Structure Analyses and Electronic Structure of Rare Sugars", The 6th International Conference on DV- $X\alpha$ Method, Daejeon, Korea.
7. ○Akifumi Yamauchi, Shizuka Kayahara, Yasuhiro Tahara, Tomohiko Ishii, Genta Sakane, Kazuhiro Fukada, and Ken Izumori, "Crystal Structure and Electronic Structure of Rare Sugar Superlattice", The 6th International Conference on DV- $X\alpha$ Method, Daejeon, Korea.
8. ○Hiromi Yoshida, Kosei Takeda, Yasuhiro Tahara, Tomohiko Ishii, Ken Izumori, and Shigehiro Kamitori, "X-ray structures of rare sugar production related enzymes and the catalytic mechanisms", The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010).
9. ○「希少糖の X 線構造解析と電子状態計算」、田原康宏、吉田裕美、山地理嗣、渡部優史、竹下圭、何森健、神鳥成弘、石井知彦、日本化学会第 90 春季年会(2010)、近畿大学、大阪。
10. ○「配位結合型人工 DNA における銅スピン間に働く強磁性相互作用の電子論的考察」、田原康宏、石井知彦、坂根弦太、第 59 回錯体化学討論会(2009)、長崎大学、長崎。

[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。