

(様式第5号)

## アミロース結晶の粉末回折および熱膨張挙動 Powder Diffraction and Thermal Expansion of Amylose Crystals

小林加代子、和田昌久  
Kayoko Kobayashi, Masahisa Wada

東京大学  
The University of Tokyo

- ※1 先端創生利用（長期タイプ、長期トリアルユース、長期産学連携ユース）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記して下さい。
- ※2 利用情報の開示が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後二年以内に研究成果公開（論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表）が必要です。（長期トリアルユース、及び長期産学連携ユースを除く）

### 1. 概要（注：結論を含めて下さい）

酵素合成した低分子量のアミロースを再結晶化させることによりアミロースのB型結晶を調製し、X線粉末回折測定を行った。300 Kにおける単位格子は六方晶 ( $a = 18.074 \text{ \AA}$ ,  $c = 10.531 \text{ \AA}$ ) であり、これまでに報告されている値と一致した。100 Kに冷却すると単位格子は  $a$  軸、 $c$  軸ともに減少し、 $a = 17.935 \text{ \AA}$ ,  $c = 10.492 \text{ \AA}$  となった。B型結晶は冷却に伴って、二重らせん間の距離、らせんの周期が減少することがわかった。

B-type amylose crystal was prepared by recrystallization of short-chain amylose, which was synthesized by phosphorylase. Synchrotron X-ray powder diffraction of the sample at 300 K showed a typical pattern of B-type amylose with a hexagonal unit cell ( $a = 18.074 \text{ \AA}$ ,  $c = 10.531 \text{ \AA}$ ). On cooling to 100 K, the  $a$ -axis and  $c$ -axis values decreased and the unit cell parameters were determined as  $a = 17.935 \text{ \AA}$ ,  $c = 10.492 \text{ \AA}$ . This result indicated that both the distance between the double helices and the pitch of the helices contracted with cooling.

### 2. 背景と目的

澱粉は陸上植物をはじめとする多くの生物が光合成産物として貯蔵する多糖である。天然の澱粉は不溶性の顆粒として存在し、由来する植物種によって組成や固体構造が異なるため、それに応じて様々な物性を示す。したがって澱粉の利用にはその固体構造の理解が不可欠であり、これまでも数多くの研究が行われてきた。しかしその構造は非常に複雑であり、未だに解明されていない点も多い。澱粉は半結晶性の物質であり、その結晶領域はA型もしくはB型と呼ばれる結晶形を有している。ただし、天然の澱粉を構成するアミロース ( $\alpha$ -1,4-グルカン) には分岐があり、その分子量も一様ではなく、このような不均質な分子から結晶構造やその性質の解析に適した高結晶性の試料を得ることは難しい。そこで我々は、均一な構造を持つアミロースを酵素合成し、これを再結晶化させることによって極めて結晶性の高いB型結晶を調製した。本研究ではこのB型アミロース結晶の粉末回折測定を行うことにより、室温および低温における結晶構造について調べた。

### 3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

スクロース、スクロースホスホリラーゼ、マルトペンタオース、グリコーゲンホスホリラーゼを含む反応液を37°Cで3日間反応させた。ここにエタノールを加えて得られた沈殿を回収し、重合度がおよそ20であるアミロースを得た。この合成アミロースを120°Cで水に溶解させた後に徐々に冷却させたところ、室温付近で白色沈殿が生じ、Fig. 1に示すようなアミロースB型結晶が得られた。調製したB型結晶は相対湿度85%のデシケータ中に保存して余分な水分を除き、0.5mmまたは1mmのキャピラリーに封入した。これをBL15のデバイシェラーカメラに取り付け、試料の冷却装置を用いて100~300 Kの温度範囲で粉末回折測定を行った。波長は1.8 Å、検出器にはイメージングプレートを用いた。得られた回折プロファイルは非線形最小二乗法プログラムを用い、各回折ピークを

pseudo-Voigt 関数に近似してピーク分離を行った。

#### 4. 実験結果と考察

300 K および 100 K において得られた B 型アミロースの粉末回折プロファイルを図 2 に示す。どちらも高  $Q$  領域まで鋭いピークが観測され、調製した B 型結晶は非常に結晶性が高いことがわかる。100 K で得られたプロファイルは 300 K で得られたものと同様のパターンを示したが、ピークが全体的に高  $Q$  領域にシフトしていた。

300 K において観測されたピークを既報の六方晶の単位格子 [Imberty & Perez, 1988; Takahashi et al., 2004] に基づいて指数付けし、各温度における単位格子を求めたところ、 $a = 18.074 \text{ \AA}$ ,  $c = 10.531 \text{ \AA}$  となった。この値はこれまでに報告されたものとおおよそ一致していた [Imberty & Perez, 1988; Takahashi et al., 2004]。一方、100 K で測定したものも同様にして単位格子を求めたところ  $a = 17.935 \text{ \AA}$ ,  $c = 10.492 \text{ \AA}$  となった。300 K における値と比較すると、 $a$  軸方向には 0.8%、 $c$  軸方向には 0.4% 収縮しており、体積にして 1.9% 減少していた。B 型アミロースは  $c$  軸方向をらせん軸とする二重らせん構造が提案されている。従って本研究で得られた結果は、冷却によって B 型アミロースはらせん間距離、らせん周期ともに減少することを示していると考えられる。

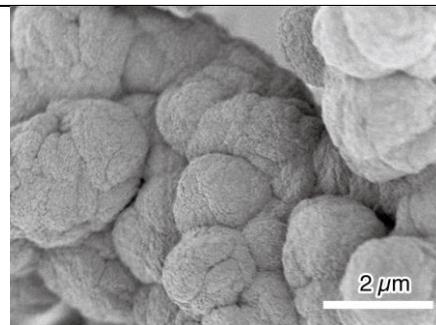


Fig. 1. SEM image of B-type amylose crystal.

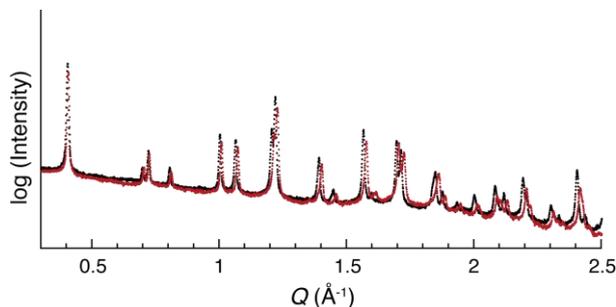


Fig. 2. Synchrotron X-ray powder diffraction profiles of B-type amylose crystal obtained at 300 K (black) and 100 K (red).

#### 5. 今後の課題

本申請課題では、100~300 K 間の各温度における結晶構造についてもデータを得ることを試みたが、強度が不十分であることから正確な単位格子を算出することができなかった。今後追加で実験を行いたい。

また A 型アミロースも同様の測定を行い、熱膨張挙動を明らかにしていきたい。

#### 6. 参考文献

A. Imberty and S. Perez

A revisit to the three-dimensional structure of B-type starch.  
Biopolymers, 27, 1205-1221, 1988

Y. Takahashi, T. Kumano, and S. Nishikawa

Crystal structure of B-amylose.  
Macromolecules, 37, 6827-6832, 2004

#### 7. 論文発表・特許 (注: 本課題に関連するこれまでの代表的な成果)

K. Kobayashi, S. Kimura, E. Togawa, and M. Wada.

Thermal expansion behavior of hydrate paramylon in the low-temperature region.  
Carbohydrate Polymers, 91, 543-548, 2013

#### 8. キーワード (注: 試料及び実験方法を特定する用語を 2~3)

- ・ 澱粉
- ・ アミロース
- ・ X 線粉末回折

#### 9. 研究成果公開について (注: ※2 に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文(査読付)発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください。(2013 年度実施課題は 2015 年度末が期限となります。))

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

- |                |         |   |   |
|----------------|---------|---|---|
| ① 論文(査読付)発表の報告 | (報告時期:) | 年 | 月 |
| ② 研究成果公報の原稿提出  | (提出時期:) | 年 | 月 |