

(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、内藤フィリップ邦夫、和田昌久
Kayoko Kobayashi, Kunio Phillip Naito, Masahisa Wada

東京大学
The University of Tokyo

- ※1 先端創生利用（長期タイプ、長期トライアルユース、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）を追記してください。
- ※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。（トライアルユース、及び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、100 K～300 Kの温度範囲においてX線粉末回折測定を行った。どちらのアミロース結晶も300 Kと比較して100 Kでは全ての格子定数が減少していた。また100 Kから300 Kまで徐々に温度を上げていくと、各ピークが少しずつ低角側にシフトすることが観測された。このような変化は250 Kを超えたあたりで急激に大きくなり、相転移が起きていることが示唆された。

B-type and A-type amylose crystals were prepared by recrystallization of short-chain amylose, which was synthesized by phosphorylase. Synchrotron X-ray powder diffraction of these samples were carried out at 100–300 K. All the unit-cell parameters of both amylose crystals at 100 K were smaller than the parameters at 300 K. When the samples were heated from 100 to 300 K, the peaks gradually shifted to lower angles. These shifts in the peaks were particularly remarkable above 250 K, which indicated that the phase transition occurred around this temperature.

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（ α -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A型およびB型結晶を調製した。本研究ではこれらのアミロース結晶の粉末回折測定を100～300 Kの温度範囲で行い、低温における結晶構造および熱膨張挙動を解明することを試みた。

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℃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℃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。一方、溶解させた後に約60°Cまで冷却したところで予め温めておいたアセトン50%になるように加えると白色沈殿が生じ、Fig. 1bに示すようなアミロースA型結晶が得られた。

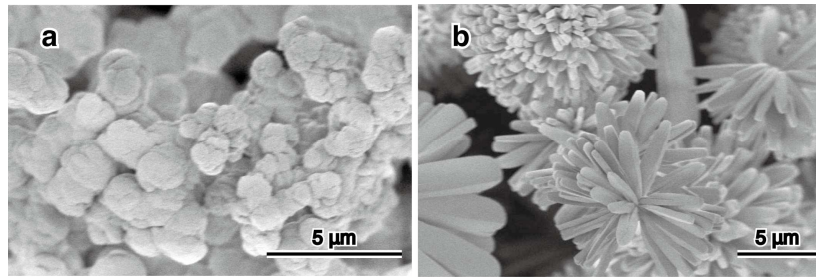


図1 調製した試料のSEM像
(a) B型アミロース
(b) A型アミロース

調製したA型および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、1mmのキャピラリーに封入した。これをBL15のデバイセ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

B型アミロースの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、単位格子を求めたところ、 $a = 18.084 \text{ \AA}$ 、 $c = 10.538 \text{ \AA}$ 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 $a = 17.935 \text{ \AA}$ 、 $c = 10.492 \text{ \AA}$ となっており、300 Kと比較して a 軸方向は0.8%、 c 軸方向は0.4%、体積にして2.1%小さかった。

一方、A型アミロースを既報の単斜晶の単位格子 [Imberty et al., 1988; Popov et al., 2009] に基づいて指数付けし、単位格子を求めたところ、 $a = 21.031 \text{ \AA}$ 、 $b = 11.696 \text{ \AA}$ 、 $c = 10.660 \text{ \AA}$ 、 $\gamma = 122.4^\circ$ 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 et al., 1988; Popov et al., 2009]。100 Kで測定したのも同様にして単位格子を求めたところ $a = 20.937 \text{ \AA}$ 、 $b = 11.561 \text{ \AA}$ 、 $c = 10.621 \text{ \AA}$ 、 $\gamma = 122.3^\circ$ となっており、300 Kと比較して a 軸方向は0.4%、 b 軸方向は1.2%、 c 軸方向は0.4%、体積にして2.2%小さかった。

またB型およびA型アミロースの昇温に伴うX線回折プロファイルの変化を図2に示した。徐々に昇温させながら測定を行っていくと、B型、A型ともに各ピークが徐々に低角側へとシフトすることが観測された。このような変化は特に250 K以上で顕著であり、以前に研究を行った β -1,3-グルカンの場合と同様に相転移が起きていることが示唆された [Kobayashi et al., 2013]。またB型、A型ともに温度上昇に伴って各ピーク幅が小さくなっており、結晶性が増加していることがわかった。

5. 今後の課題

今後は各温度で得られた全てのプロファイルから単位格子を算出し、各格子定数の熱膨張係数や結晶性の変化などをさらに詳しく求めたい。また、得られた各ピークの強度を抽出して結晶構造解析を行い、各温度における結晶構造の解明を目指す。

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

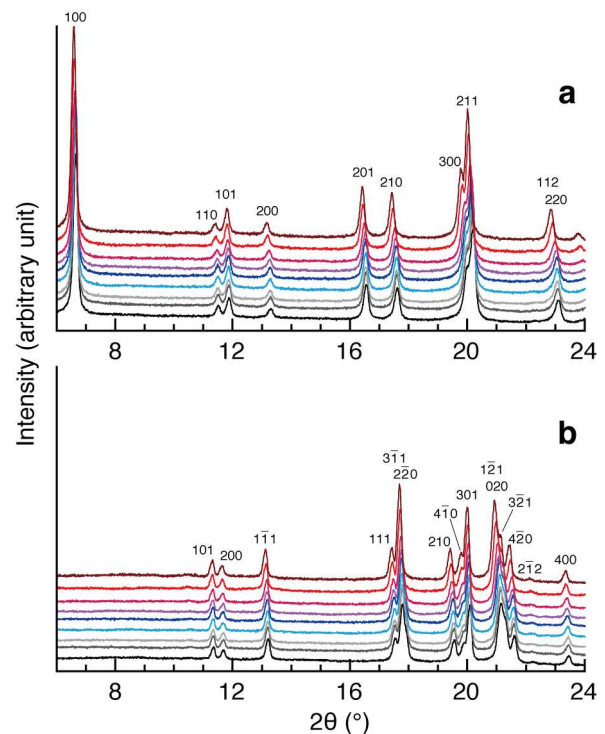


図2 100 Kから300 Kまで25 Kずつ昇温させた際のX線粉末回折プロファイルの変化。一番下が100 Kのプロファイル。

(a) B型アミロース、(b) A型アミロース

Y. Takahashi, T. Kumano, and S. Nishikawa
Crystal structure of B-amylose.
Macromolecules, 37, 6827-6832, 2004

D. Popov, A. Buléon, M. Burghammer, H. Chanzy, N. Montesanti, J.-L. Putaux, G. Potocki-Véronèse, and C. Riekell
Crystal structure of A-amylose: A revisit from synchrotron microdiffraction analysis of single crystals.
Macromolecules, 42, 1167-1174, 2009

A. Imberty, H. Chanzy, S. Perez, A. Buléon, and V. Tran
The double-helical nature of the crystalline part of A-starch.
Journal of Molecular Biology, 201, 365-378, 1988

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

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: 2014年4月頃を予定)