

○松原 正陽、高田 康仁、後藤 仁志

豊橋技術科学大学大学院工学研究科 (〒441-8580 豊橋市天伯町雲雀ヶ丘 1-1)

【緒言】

糖タンパク質や糖脂質として生体内に存在する糖鎖は、生命活動に欠かせない様々な役割を持つことが明らかにされつつあるが、ウイルスや抗体の糖鎖認識機構など糖鎖配列の僅かな違いを判別するような現象を分子レベルで解明するためには、タンパク質や脂質上の糖鎖結合部位や安定配座だけでなく、糖残基上の水酸基が関わる水素結合のネットワーク構造を明らかにすることが望ましい。ところが、水溶液中の糖質分子は複数の配座異性体の混合状態にあり、多数の水酸基の回転異性化によって水素結合ネットワークは比較的容易に組み換わると考えられるため、実験測定でこのネットワーク構造を含む立体配座の特定は困難である。

一方、我々はこれまでの研究において、数種類の単糖について水溶液中における NMR 解析から得られた結合定数 ($^3J_{\text{HH}}$ と $^2J_{\text{CH}}$ 値) を再現するため、CONFLEX[1]を用いて優位な配座異性体を網羅的に生成し、それらの配座エネルギーを MMFF94s で評価することによって糖鎖 6 員環 (アルドヘキソピラノース環) の立体配座解析を行ってきた。そして、少なくとも 6 員環のねじれ角に強く依存していることで知られる $^3J_{\text{HH}}$ 値を再現することはある程度可能であることが分かった。ところが、MMFF94s において安定な 20 種類の配座異性体について Gaussian[2]による高精度 ab initio 計算を利用して配座エネルギーと NMR 結合定数を評価しても、 $^2J_{\text{CH}}$ 値をうまく再現することは出来なかった。一般に、糖鎖 6 員環上の $^2J_{\text{CH}}$ 値は水酸基の回転に強く依存していることから、水酸基を含めた立体配座と、分子内と溶媒水分子との水素結合を考慮した配座エネルギーを評価していないことが、 $^2J_{\text{CH}}$ 値を再現できない理由であると考えられる。特に、MMFF94s は、水素結合を一般的な非結合相互作用と同じ vdW 相互作用関数と電荷-電荷相互作用関数で評価するため、水素結合が持つ指向性を表現出来ていないことも、その理由の一つとして考えられる。

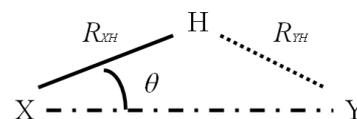
そこで本研究では、糖の立体配座解析に適用できる高精度な分子力場ポテンシャルの開発を目標に、水素結合ポテンシャルの改良と最適化を試みる。

【方法】

MMFF94s の Buffered14-7 型 vdW 相互作用関数の引力項に X-H 結合の伸縮率と cosine 関数を導入した次式を水素結合対に対して適用する。

$$E_{\text{HB}} = 0.5 \times \varepsilon_{ij} \left(\frac{1.07 R_{\text{YH}}^*}{R_{\text{YH}} + 0.07 R_{\text{YH}}^*} \right)^7 \left(\frac{1.12 R_{\text{YH}}^{*7}}{R_{\text{YH}}^7 + 0.12 R_{\text{YH}}^{*7}} - k_{\text{attr}} \frac{R_{\text{XH}}}{R_{\text{XH}}^0} \cos \theta \right) \dots \dots \dots (1)$$

ここで R_{XH} を X-H 結合距離、 R_{YH} を水素結合距離とし、 θ を水素結合角 H-X-Y と定義する (右図)。 k_{attr} は引力項係数であり、一般的な vdW 相互作用では $k_{\text{attr}} = 2$ を用いる。ここでは糖以外の水素結合系化合物に対する力場精度を維持するため、標準参照データセットを用いて k_{attr} を最適化した。また、MMFF94s では水素結合の標準平衡距離 R_{YH}^* は一般的な vdW の標準平衡距離 R_{ij}^* にスケール係数 0.8 を乗じて求められる。ここでは標準参照データセットと三種類の糖 (α -galactose: α -Gal, β -glucose: β -Glc, β -mannose: β -Man) のそれぞれ複数の配座異性体を用いて、これらの分子セットの MP2/6-31+G**による最適化構造を R_{YH} と θ が再現するようにこのスケール係数を最適化した。力場ポテンシャルの最適化において標的になる配座エネルギーは、上記の分子セットに水素結合二量体モデルを追加して、それらについてより高精度の ab initio 計算法 (MP4(SDQ)/6-311+G(2d,p)//MP2/6-31+G*等) に基づいたエネルギー評価を行った。



こうして最適化された力場を、ここでは「改良 MMFF」と呼ぶことにする。

さらに、CONFLEX/MMFF94s から得られた α -Gal の全ての配座異性体 150 個を対象に Gaussian09 を用いて MP2/6-31+G**による構造最適化を行い、それぞれのエネルギーを比較した。このうち最適化によって配座変換が起こったものについて、MP2/6-311+G(2d,2p)等のさらに高精度な構造最適化を行い、配座変換の有無やエ

エネルギーの変化を調べた。

糖の配座は、6員環配座の名称(1)に続いて、C1 から C4 に結合する水酸基の向き(2)、そして C5-C6(3)と C6-O6(4)結合の回転異性で区別でき、(1)₁(2)₁(3)₁(4)₁のように表記する。それぞれの定義は次のとおりである。

- (1) 6員環配座は、いす (Chair) 型, ねじれ舟 (Skew) 型, 舟 (Boat) 型によって「C, S, B」で表し、参照面の上にある原子を上付き, 下にある原子を下付きとして、炭素の番号か O を追加して表記する。
- (2) 環上の 4 つの水酸基は、時計回りの向きに隣接水酸基と水素結合しているならば「c」, 反時計回りの方向であれば「r」, どちらでもない場合には「0」と表記する。
- (3) C5-C6 回転異性は、O5-C5-C6-O6 と C4-C5-C6-O6 のねじれ角の gauche と trans の組み合わせから「gg, gt, tg」のいずれかで表記する。
- (4) C6-O6 回転異性は、C5-C6-O6-H のねじれ角で+gauche, -gauche, あるいは trans かに対応してそれぞれ「g⁺, g, t」と表記する。

【結果】

α -Gal の MMFF94s で安定な 20 種類の配座異性体について、各計算法による配座 ⁴C₁ cccc gg g⁺ に対する配座エネルギーと、MP4(SDQ)/6-311+G(2d,p)計算を標準参照とした時の配座エネルギーの二乗平均差 (RMSD) を Table. 1 に示した。この表から明らかのように、MMFF94s や今回の改良 MMFF は ab initio 計算による α -Gal の配座エネルギーを適切に再現できていない。特に、改良 MMFF は、RMSD では 1 kcal/mol 以下の範囲で ab initio 計算の結果と一致しているが、二番目に安定な配座 ⁴C₁ rrr gt g の立体エネルギーを 2 kcal/mol 以上も低く評価している。β-Glu と β-Man においても改良 MMFF の RMSD は MMFF94s と同程度であり、今回の水素結合ポテンシャル関数の改良は、糖の配座エネルギーの再現性向上には、あまり貢献していないようである。何故、再現できないかについては、当日の発表にて考察する。

Table.1 Relative energies for stable 20 conformers of α -Gal in MMFF94s

Conformation	Steric Energy ΔE (kcal/mol)			
	MP4SDQ/6-311+G(2d,p) //MP2/6-31+G**	MP2/6-31+G**	MMFF94s	This work
⁴ C ₁ cccc gg g ⁺	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
⁴ C ₁ rrr gt g	0.7324	0.9725	-0.2456	-1.3563
⁴ C ₁ rrr tg g ⁺	1.0878	1.3305	2.9674	1.7484
⁴ C ₁ rrr gg g ⁻	1.5635	1.9233	1.7308	1.7355
⁴ C ₁ rccc gg g ⁺	1.8563	1.9756	1.3375	1.1532
⁴ C ₁ rrr tg t	2.2055	2.7064	2.7407	1.4759
⁴ C ₁ rrc gg g ⁺	2.4718	2.7213	3.5359	3.1139
⁴ C ₁ ccc0 gt g ⁻	2.6382	3.2135	3.7319	2.6685
⁴ C ₁ rrr gg t	2.7010	3.0319	1.9315	2.3652
⁴ C ₁ rrr gt t	2.7470	3.2958	2.4528	1.2473
⁴ C ₁ cccc tg t	2.9721	3.4025	4.5743	3.3646
⁴ C ₁ rrr tg g ⁻	2.9767	3.6673	5.2107	3.9122
⁴ C ₁ cccc gg g ⁺	3.2742	3.7416	5.0972	4.5481
⁴ C ₁ cccc gt g ⁻	3.6502	4.4334	4.4122	3.3067
⁴ C ₁ c0rr gt g ⁻	3.8131	4.4755	4.5769	3.3751
⁴ C ₁ rrr gt g ⁻	3.8737	4.3183	5.0358	3.6306
⁴ C ₁ cc0r gt g ⁻	3.9296	4.6313	4.8099	3.5682
⁴ C ₁ rcc0 gt g ⁻	4.1900	4.7714	4.8828	3.6308
⁴ C ₁ rccc gg t	4.6398	5.1141	3.2184	3.4924
⁴ C ₁ rc0r gt g ⁻	4.7502	5.2824	4.8547	3.5331
RMSD		0.4891	1.1127	0.8629
Max difference		0.7832	2.2340	-2.0887

CONFLEX/MMFF94s から得られた α -Gal の 150 の配座異性体に対して、改めて MP2/6-31+G**を用いた構造最適化を行った結果、31 の配座異性体の構造が著しく変化し、そのうち 22 は他の配座と同じ構造に収束した。このため、MP2/6-31+G**におけるユニークな配座異性体の数は 128 となった。典型的な例としては、Fig. 1(a)の配座 ⁴C₁ crrr tg t は、MP2/6-31+G**で最適化すると、C3 位の水酸基が回転して ⁴C₁ cc0r tg t に変換してしまう。さらに高精度な MP2/6-311+G(2d,2p)で最適化すると、C6 位の水酸基の向きも変化し、⁴C₁ cc0r tg g⁺に変換してしまう。また、Table. 1 において、精度の異なる ab initio 計算による配座エネルギーの差は平均で 0.5 kcal/mol もある。力場ポテンシャルを最適化するための標準参照として、ab initio 計算の基底関数や手法の選択が簡単ではないことが分かる。



Fig. 1 Optimized structures derived from the 71th of MMFF94s conformers

参考文献

- [1] CONFLEX6, H. Goto, S. Obata, T. Kamakura, N. Nakayama, K. Ohta; Conflex Corp., Tokyo, 2006.
- [2] Gaussian 09, M. J. Frisch, et al., Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.