

## 4D07

### 糖鎖の化学シフト計算と立体構造予測への応用

(理化学研究所)

○李秀栄、二島渉、山口芳樹、杉田有治

#### Structure prediction of N-glycan in solution using the combined molecular dynamics simulation and NMR spectroscopy

(RIKEN) Suyong Re, Wataru Nishima, Yoshiki Yamaguchi, Yuji Sugita

##### 【序論】

細胞表面にある糖鎖は、種類や長さ、分岐構造の違いといった構造多様性に加え、コンフォメーションの多様性を利用した分子認識を行っていると考えられている。柔軟性の高い糖鎖は X 線結晶構造解析による構造決定が極めて困難である一方、NMR スペクトルを用いればグリコシド結合の立体配座やダイナミクスに関する情報が得られる。さらに、分子動力学計算から原子解像度の位置情報を得ることができ、NMR と分子動力学計算の組み合わせは糖鎖構造解析の有力な手段となっている。しかし、NMR から得られる情報は、一般的に、短い距離情報であり時間的に平均化されているため、大きな糖鎖の構造や多様なコンフォマーの識別は難しい。分子動力学計算で柔軟な糖鎖構造を隈なく探索するのも容易でなく、2～3糖からなる小さなモデル糖鎖を対象とした研究が大部分を占める。本研究では、大きな糖鎖の立体構造ダイナミクスを明らかにすることを目的として、広い構造空間を効率良く探索しうるレプリカ交換分子動力学計算を用いた糖鎖 NMR データの予測を行った。

##### 【計算方法】

糖鎖の構造探索には、タンパク質の立体構造予測などで用いられてきたレプリカ交換分子動力学法 (REMD) を用いた。この手法では、温度の異なる複数のレプリカ (系のコピー) の分子動力学計算を並列・独立に実行し、ある頻度で隣接する温度を交換することで定温の分子動力学計算では実現できない幅広い構造探索を可能にする。本研究では水中 N 型複合型糖鎖に着目し、温度範囲を 300K～500K として 64 レプリカを用いた。糖鎖の力場には GLYCAM を用いた。各レプリカあたり 52ns の計算 (合計 3μs) から得られたトラジェクトリのクラスタリング解析を行い、代表構造と相対分布を抽出した。NOE と  $J$  スピン結合定数は、求めた相対分布の値を用いて、重み付き平均として計算した。

$${}^3J_{HH} = c_{gg} {}^3J_{HH}^{gg} + c_{g'j} {}^3J_{HH}^{g'j} + c_{tg} {}^3J_{HH}^{tg}$$
$$\frac{1}{r_{MD}^6} = \frac{c_a}{\langle r_a^6 \rangle} + \frac{c_b}{\langle r_b^6 \rangle} + \frac{c_c}{\langle r_c^6 \rangle} + \frac{c_{a'}}{\langle r_{a'}^6 \rangle} + \frac{c_{c'}}{\langle r_{c'}^6 \rangle}$$

## 【結果と考察】

Fig. 1A に、REMD 計算から求められた水中 N 型複合型糖鎖の代表構造を示す。これまで知られていた「Fold/Extend」構造を含め、5 つのコンフォメーションが得られた。さらに、5 つのコンフォメーションが、 $\alpha(1\rightarrow6)$ グリコシド結合の 2 つの二面角分布 ( $\Psi/\omega$ ) と非常に良く対応することも明らかになった。N 型糖鎖のコンフォメーションが本質的には  $\alpha(1\rightarrow6)$ グリコシド結合の局所的な配向によって決まることを示している。Fig. 1B に、 $\alpha(1\rightarrow6)$ グリコシド結合の  $\omega$  角回転異性体 (*gg, gt, tg*) に対して計算した NMR データ (NOE、*J* 結合定数) を示す。*J* 結合定数の値をみると、各異性体の値は実験値と異なるものの、重み付き平均をとった値は実験値と良い一致を示す。この結果は、分子動力学計算と NMR を組み合わせて、大きな糖鎖のコンフォマー予測が可能であることを示唆する。NOE や *J* 結合定数に加えて、周辺の相互作用変化を敏感に反映する化学シフトの計算も行えば、糖鎖の全体構造に関するより直接的な情報を得ることが出来る。当日は、化学シフト計算を含めた詳細を発表する。

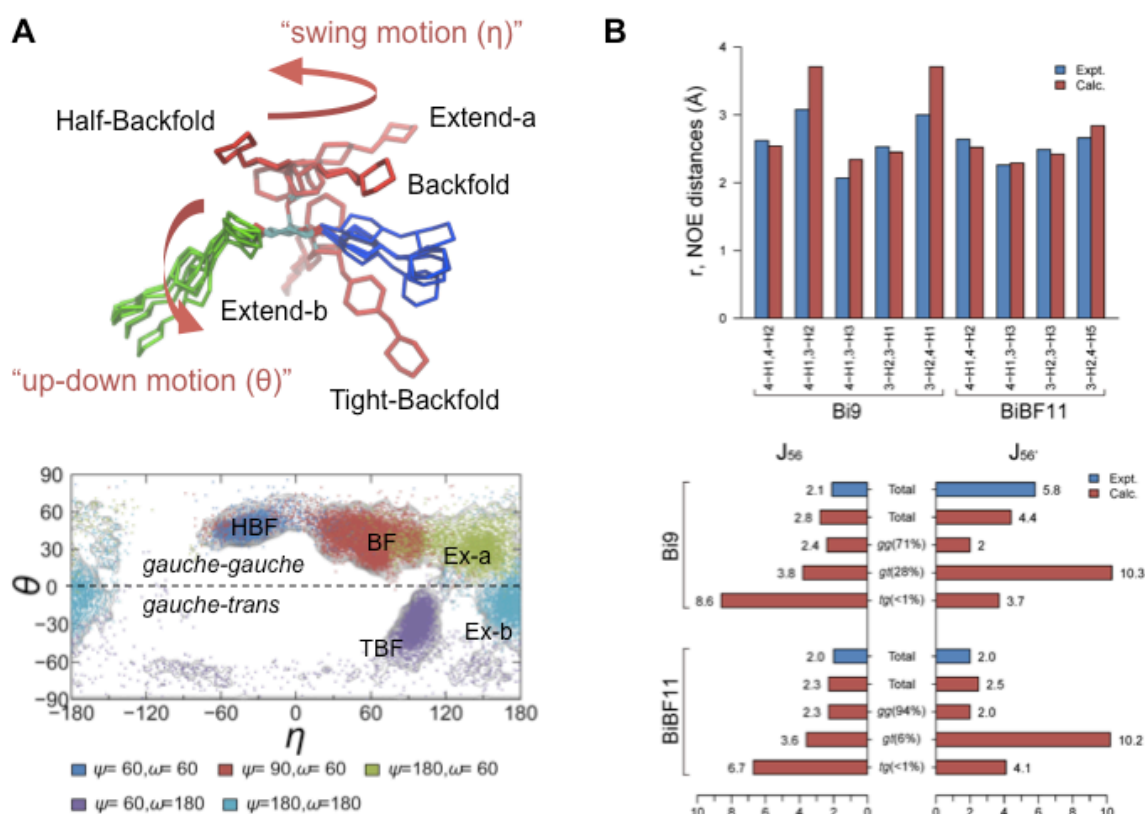


Figure 1. REMD 計算から得られた N 型複合型糖鎖のコンフォメーションと NMR データ。

(参考文献) [1] Sugita, Y., & Okamoto, Y. (1999) *Chem. Phys. Lett.*, 314:141–151. [2] Re, S. et al. (2011) *Biophys. J. (Letter)* 101:L44–L46. [3] Nishima, W. et al. (2012) *J. Phys. Chem. B* 116:8504–8512. [4] Re, S., et al. (2012). *Biophys. Rev.* 4:179–187.