

2P068 アレルゲン活性糖鎖 HPG- β 2-N6 アナログのコンフォメーション解析

(東和工大¹・徳島大薬²) ○宗像達夫¹, 後藤 了², 藤本照也¹, 加藤祐子¹

【序】近年、糖鎖に対する免疫活性等が注目を集めている。養殖牡蠣殻に付着する、白ホヤの体液中より単離された糖蛋白質が、喘息アレルギーのアレルゲンであることが福山大学の松浦、太田らのグループにより確認され、糖鎖のみでもアレルゲン活性を誘発することが報告された^{1,2)}。下図に示した HPG- β 2-N6 (Fig. 1) もまた、アレルゲン活性を持つ五糖鎖であり、アレルゲン活性、及びその免疫学的側面よりこれらの溶液中での立体構造解析に興味を持たれる。

HPG- β 2-N6 の立体構造解析を行うのに、定法である NMR の ROESY を用いた DG 法を適用しようとした場合、NMR において両端の GalNAc についてのピークの重なりが特に重なりが特に著しく、また、読み取ることのできる NOE については隣り合った残基間の NOE の情報が得られるのみで、その立体構造決定づける key となる情報は得られず、その立体構造解析決定が困難となっている。HPG- β 2-N6 の構造上の特徴として、(GalNAc β 1-4GlcNAc β 1-3)(GalNAc β 1-4GlcNAc β 1-6)GalNAc-ol の配列が示すように、対象性に富み、更に中央に存在する GalNAc-ol に起因する自由度の高さ、及び試料が微量である事により、立体構造情報を NMR のみで得るのは難しいと判断した。そこで演者らは、HPG- β 2-N6 は元々糖蛋白質から切り出された物であり、全体的な立体構造を決定するのは、構造中の中央付近の三つの糖鎖 GlcNAc β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc-ol であろう事に着目し、計算化学的側面より立体構造解析の足がかりをつけるべく計算を行った。

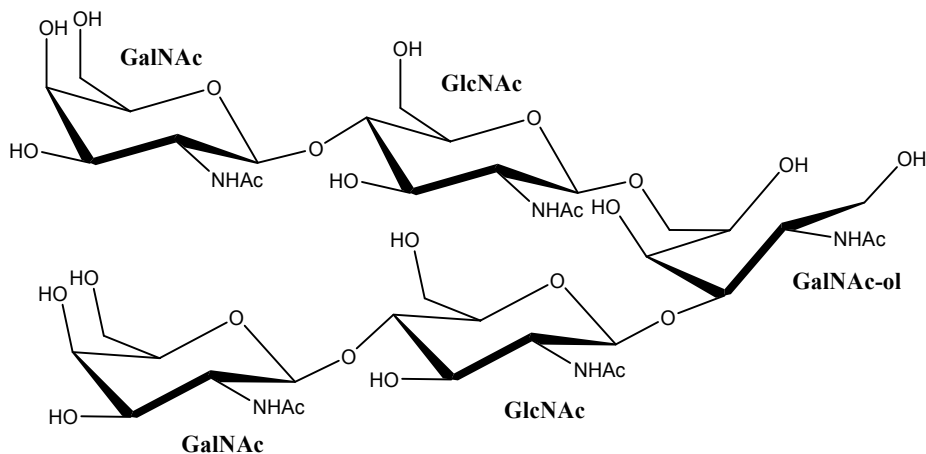


Fig. 1 HPG- β 2-N6

【方法】 HPG- β 2-N6 の立体構造を決定づける部分構造として、GlcNAc β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc (1) 及び GlcNAc β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc (2) (Fig. 2) をモデル化合物とし、コンフォメーションの多様性を解析した。コンフォメーションの構造最適化計算は AMBER/GLYCAM 力場を利用し、DFP 法で最適化した。ここで原子電荷は MOPAC2000 を用いて算出した。グローバルミニマム探索は CONFLEX アルゴリズムを改変したものを適用した。得られたコンフォメーションは最安定構造から 100 kcal/mol までのサンプリングを行

い、解析を行った。その際、各糖の配座が椅子型ではなく、舟型になっているコンフォメーションについては結果から除外した。

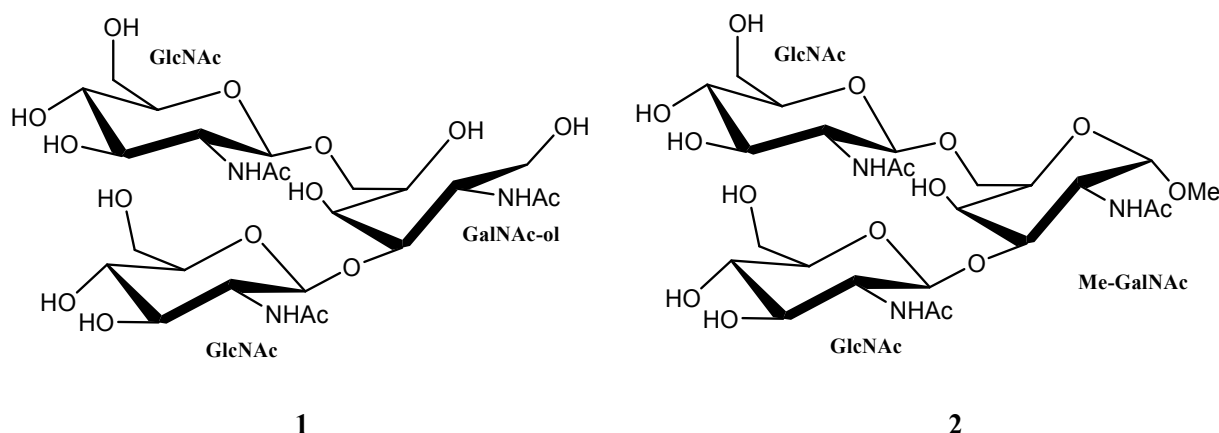


Fig. 2 HPG- β 2-N6 のアナログ化合物

【結果】化合物 2 について、最安定構造から 10 kcal/mol までの conformation の重ねあわせを行った計算結果を Fig. 3 に示した。分岐点の Me-GalNAc を中心に、 β 3-1, β 6-1 の各糖間の結合について conformation が一様に分布しているのが見て取れる。また、これらの結果についてエネルギー差から計算される存在確率にしたがって Plot すると Fig. 3 右図のようになり、GlcNAc(β 1-6)Me-GalNAc の結合は *tg*-conformer が優勢であることが解る。現在、得られた計算結果と実験からのデータとの妥当性について検討を行っている。

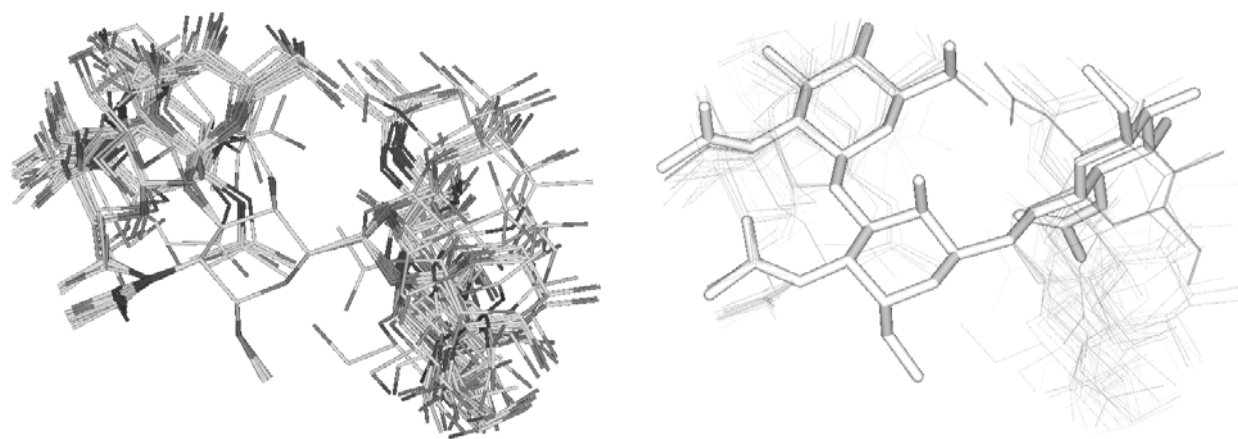


Fig. 3 化合物 2 の 10 kcal/mol までの Conformation (左図) と Population による Plot, Population の大小によりその太さを変化させてある(右図)

【参考文献】

- 1) M. Ohta, et al., *Arch. Biochem, Biophys.* **1989**, 275, 151
- 2) S. Shigeta et al., *J. Biochem.* **1990**, 108, 47