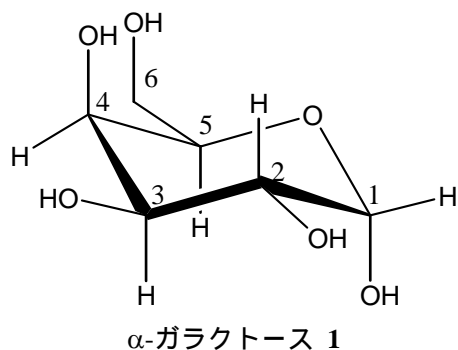


アミノ糖の立体配座解析

(豊橋技科大*, 東北大**) 松原正陽*, 後藤仁志*, 及川雅人**

【序】多細胞生物の細胞表面は糖脂質，糖タンパク質として存在する多様な糖鎖により覆われており，多細胞生物の営みに重要であることが示唆されている．糖鎖は，哺乳類では 9 種の単糖の組み合わせ配列からなるポリマー構造をしており，核酸，タンパク質に次ぐ第三の生体高分子と位置付けることができる．生体ポリマーは，それぞれの構成単位の組み合わせにより分子および機能に多様性を与えている．そのため糖鎖の要素である糖の立体構造を解析することは，非常に重要な課題になってくる．現在では，糖の解析は NMR を用いた方法が一般的であるが，糖は複雑に中間構造を取りやすく，糖の種類同定は困難であった．



東北大の及川等は，NMR 解析により得られる C,H 遠隔スピン結合定数 (${}^2J_{C,H}$) の値から糖の種類を同定する手法として ${}^2J_{C,H}$ インデックス法を開発した[1]．この方法はアルドヘキソピラノースに 11 組ある ${}^2J_{C,H}$ のうち六員環上に存在する 8 組の値について，それらの基準値からの大小関係を指標とし，その二値データの組み合わせにより糖を同定する．

及川等は，この手法をアミノ糖やこれをアセチル化した N-アセチルアミノ糖に拡張した．その結果，アミノ糖と N-アセチルアミノ糖の ${}^2J_{C,H}$ 値の差 ($\Delta^2J_{C,H}$) は，8 組の RMS 平均値で 1.1 Hz 程度であったのに対し，α-ガラクトース 1 のアミノ置換体 α-ガラクトサミン(α-GalN)とそのアセチル化体(α-GalNAc)の C4, H5 間の $\Delta^2J_{C4,H5}$ 値は 5 Hz となり，RMS 平均値から大きく異なることが分かった．様々なアミノ糖に対して ${}^2J_{C,H}$ インデックス法を適用していく上で，この現象の解明は非常に重要である．

そこで我々は，古典力場計算法によるガラクトサミンを含む様々なアミノ糖と N-アセチルアミノ糖の多配座解析などを行うことでその原因を調べているが，ターゲットとなる ${}^2J_{C,H}$ 値の予測は量子化学的手法を適用せざるを得ない．そこで本研究では，NMR - ${}^2J_{C,H}$ 値の理論計算において，実測値を十分に再現できる適切な基底関数と密度汎関数 (DFT) 法を探索する．

【方法】配座空間探索プログラム CONFLEX[2,3]を用いてα-GalN の配座創出を行った．ここで，配座空間の探索範囲を最安定配座から 10.0 kcal/mol 以内に設定した．また，創出される配座異性体の配座エネルギーの評価は，高精度分子力場の一つとして知られる MMFF94s [4]を用いた．糖の配座エネルギーは溶媒効果の影響を受け易いため，ここでは有効誘電率を考慮することで評価した．次に，CONFLEX が創出したα-GalN の最安定構造を，DFT 法 (B3LYP/6-31G**, B3LYP/6-31+G**) による構造最適化を行い，得られた最適化構造に基づいて NMR - ${}^2J_{C,H}$ 値の理論予測を行った．さらに，複数の基底関数(6-31+G**, 6-311+G(2d,p))と汎関数(B3LYP, B3PW91)を組み合わせた理論予測も行った．尚，密度汎関数計算は全て Gaussian03 を用いて行った [5]．



図1 α -GalN の最安定配座

【結果と考察】 α -GalN の配座探索を行った結果，1%以上の存在確率を示す配座異性体は163個創出された。また，最安定配座の存在確率は69.17%であった。この最安定配座をさらにDFT法により最適化した構造を図1に示した。

α -GalN の最安定構造の ${}^2J_{C,H}$ の実測値と理論値の差($\Delta^2J_{C,H}$)を図2に示した。各C,Hの組み合わせにおいて，上から順に基底関数が大きくなっている。この図から，8組中7組の ${}^2J_{C,H}$ 値について基底関数が大きくなるにつ

れ，実測値に近づいていることが分かる。また，一般有機化合物の計算に用いられるB3LYP/6-31+G+**では，NMR- ${}^2J_{C,H}$ 値の予測を行うには不十分であり，少なくとも6-311+G(2d,p)程度の基底関数の大きさが必要であることが示された。

一方，C4, H5間の ${}^2J_{C4,H5}$ 値は他と異なり基底関数を大きくすることによって実測値と離れる傾向にあった。これは ${}^2J_{C4,H5}$ の値が最安定配座だけでなく，他の安定配座からの寄与が大きいのことを示唆している。今後，他の糖や配座異性体に対しても同様に ${}^2J_{C,H}$ の理論予測を行い，溶媒効果を考慮することによって，実測値を再現する配座解析を行うとともに， ${}^2J_{C,H}$ インデックス法の拡張について考察する予定である。

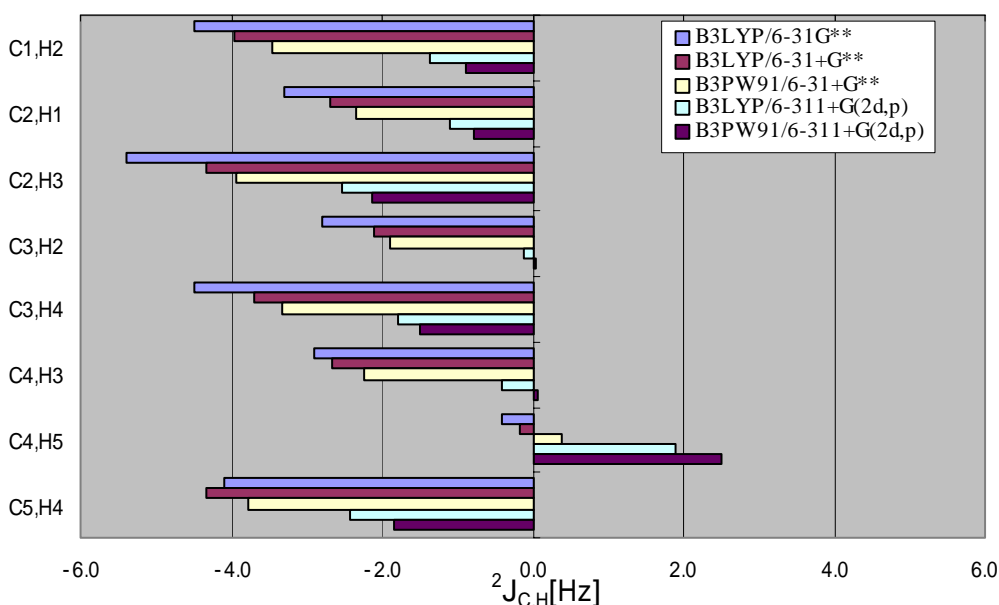


図2 α -GalN の ${}^2J_{C,H}$ の実測値と理論予測値との差： ${}^2J_{C,H} = {}^2J_{C,H,expl.} - {}^2J_{C,H,calc.}$

【参考文献】

- [1] M. Oikawa, S. Adachi, S. Kusumoto, *Organic Lett.*, **2005**, 7; 661-664.
- [2] H. Goto, E. Osawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 8950-8951; H. Goto and E. Osawa., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1993**, 187-198.
- [3] CONFLEX5, H. Goto, S. Obata, T. Kamakura, N. Nakayama, and K. Ohta; Conflex Corp., Tokyo, 2005.
- [4] T. A. Halgren, *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 490; T. A. Halgren, *J. Comput. Chem.*, **1999**, 20, 720.
- [5] Gaussian 03, Revision C.02, M. J. Frisch, *et. al.*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.