

2. 2022年度研究成果報告

**糖類の安定な立体構造に分子軌道法で迫る
- 「ケーススタディ」の授業での取り組みなど****Prediction of the Stable Structures of Saccharides by Means of Molecular
Orbital Calculation - an Approach in the “Case Study” Class etc.**

伊藤 真人

Masato M. Ito

1. はじめに

分子軌道法は、化合物の構造情報を与えて、その電子状態に関する情報を量子化学の近似を用いて計算する理論的方法である。コンピューターの飛躍的な進歩に伴い、1990年代から化合物の安定構造を探索する「構造最適化」のアルゴリズムと組み合わせ、化合物の特定の構造から出発して、近傍の安定構造を探索することが可能になった。さらに、1990年代までの主流だった半経験的方法から、近年では近似のレベルを上げた Gaussian (Gaussian Inc.) などの第一原理計算法 (ab initio 法) を用いて得た計算結果を、実験結果と関連付けて考察するなど、数多くの研究が行われるようになってきている。

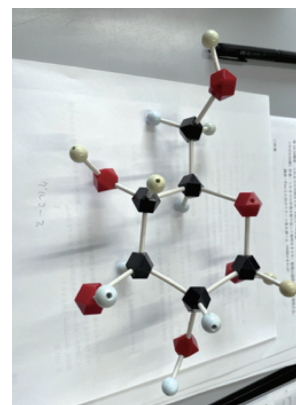
一方、半経験的分子軌道法計算パッケージの一つである MOPAC (Stewart Computational Chemistry) では、従来から MOPAC7 が無償公開されていて、分子化学計算の専門基礎教育や、研究に取り組む際の予備計算 (実験研究の「予備実験」に相当する) 用のアプリとして、現在でも幅広く使われている。

筆者は、2022年度の本学の3年生科目「ケーススタディ I」の授業で、無償公開されている半経験的分子軌道法 MOPAC を用いて、糖類の安定な立体構造の探索にどこまで迫れるかをテーマとして、履修者6名を指導したので、その概要を報告する。あわせて、糖鎖の安定構造を明らかにするための実験的および理論的な取り組みについて、昨年度の一連のコロキウムでの講演を拝聴した経験などに基づいて、現状での筆者の意見をまとめた。

2. 糖類の安定構造に分子軌道法で迫る - 「ケーススタディ I」での取り組み

「ケーススタディ I」は少人数科目であり、週1回、半期の演習型の科目である。履修者は必ずしも全員が有機化学の基礎科目を履修しているわけではない。そこで、まず糖類の立体構造に関する基礎的な内容を、学生実験室から借りた HGS 分子模型セット (丸善) を用いて学んだ。次いで、富士フィルム (当時) の千田範夫氏が開発した分子モデリングプログラムで、現在は MOPAC7 を内蔵している Winmostar version 10 (X-Ability Co.) の学生版 (無償) を、履修者が自分の Windows PC にインストールして使った (幸い全員が Windows PC を使っていた。理工学部棟 E307 PC 教室の Windows PC にもインストールされている)。

15回の授業を三部に分けた。第1部 (第1~6回) では、立体構造の取り扱いに慣れると共に、単糖類の構造に対する理解を深めるために、グルコースおよびその構造異性体である7つのアルドヘキソースの α 型および β 型の安定構造を求め、比較することを目標とした。第2部 (第7~11回) では、マルトース、ラクトース、スクロースのような二糖類の安定構造を求めることを目標とした、そして第3部 (第12~14回) では、学生の希望に応じて2つのグループに分けた。一つのグループは、セルロースやデンプンのような多糖類の立体構造に迫り、



もう一つのグループは、糖鎖の中ではもっとも簡単な、血液型の決定に関わっている3種類の糖鎖の安定構造の探索に取り組んだ。

第1回：HGS分子模型でグルコースの鎖状および環状構造を組み立てた(前ページの図は α -D-グルコース)。フィッシャー投影式の見方とこれに対応する分子模型の組み立て方、ピラノース環のイス形構造や α 型と β 型の違いを理解した。

第2回：ピラノース環のアキシャル及びエクソトリアル方向の置換基の区別や、環反転の可能性について説明した。アルドヘキソースの8つの異性体のHGS分子模型を手分けして組み立て、グルコースの2位~4位のヒドロキシ(OH)基がすべてエクソトリアル方向に伸びていることを理解した。これを基にして、分子模型から8つの異性体の安定性の違いを予測させた。エクソトリアル位にあるOH基の数(カッコ内)に基づく学生の予測は、安定なものから順に、glucose (4)、galactose (3)、mannose (3)、allose (2)、gulose (2)、talose (2)、altrose (2)、idose (1)となった。

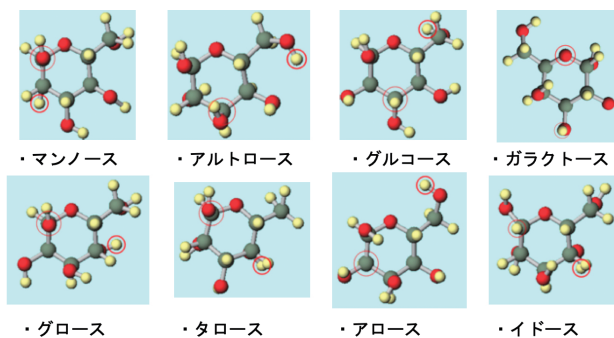
第3回：この回からWinmostarを用いて、まずグルコースの分子模型を作画できるようになった。

第4回：Winmostarに付属のMOPAC(メソッドはPM3)で、2つのグループに分かれてそれぞれ α -および β -グルコースの安定構造をそれぞれ探索した。もっとも安定な構造で生成熱(エンタルピー)は α 型が-271.0 kcal/mol、 β 型が-271.3 kcal/molであり、これに基づく300 Kでの両者の理論的存在比は37:63となった。

第5回：他のアルドヘキソースの α 型について、手分けして同様の方法で安定構造と生成熱を求めた。

第6回：第一部で得た成果を見やすい資料にまとめる方法をグループで討議し、ここまでの結果を報告書にまとめた。学生の

得た安定構造を右図に、生成熱の計算結果(kcal/mol)を表に示した。求めた生成熱に基づく安定性の順序は、第2回の予想とは異なり talose、



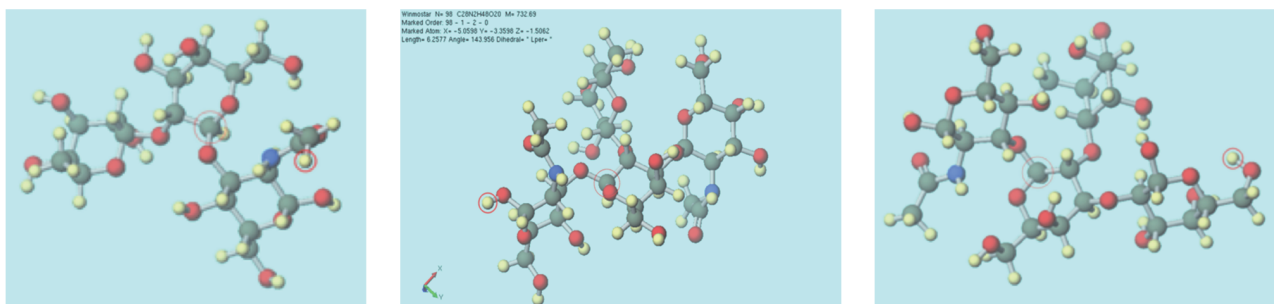
Glucose	-270.963
Galactose	-270.776
Mannose	-270.216
Allose	-270.434
Altrose	-271.183
Gulose	-271.144
Talose	-272.159
Idose	-271.655
Idose (Ring Inversion)	-270.261

idose、altrose、gulose、glucose、galactose、allose、mannoseとなった。一方、idoseの環反転した構造では生成熱の絶対値が小さくなり、C-6の側鎖がアキシャル側を向くと不安定になることが示唆された。また、安定構造を探索する過程で、近接するOH基どうしの位置関係を変えると生成熱が変わることがわかった。異性体間の安定性の順序が予想と一致しなかったことと合わせて、糖類ではOH基の間の分子内水素結合が構造の安定性に影響を与えており、OH基がアキシャル側を向いても必ずしも不安定になるとは限らないことが示唆された。このことは、学生が後に二糖類やオリゴ糖の安定構造を探索する際の手がかりとなった。

第7~11回：マルトース、ラクトース、セロビオースの3種類の二糖類について安定構造を探索した。それぞれ、二つのピラノース環を結ぶグリコシド結合のまわりの立体配座を変えて安定構造を探索したが、いずれの場合にも教科書等に示されている立体配座のほうが安定であるという結果が得られた。

第12~14回：学生は2つのグループに分かれた。一方はグルコースのオリゴマー(セルロースおよびデンプンのモデル)の安定構造を探索し、もう一方は、血液型の決定に関わっている糖鎖の安定構造を探索した。グルコースのオリゴマーを担当したグループは、グルコース単位を6個(六量体)まで伸ばして計算を行うことができた。これは、Winmostarが標準で内蔵しているMOPACでは計算可能な分子の大きさに、

水素以外の原子 70 個までという制限があるためだった。このため、デンプンに特徴的ならせん構造（繰り返し周期は単量体約 7 個）を十分に計算することができなかった。また、学生の PC では六量体の初期構造一つから安定構造を求めるのに、機種によって 7～10 分を必要とし、授業時間内でいくつもの初期構造から安定構造を探索するのは難しいことがわかった。一方、血液型の決定に関わっている糖鎖は単糖ユニット 3～4 個であり、安定構造の探索はできた（下図）。しかし、糖鎖に分岐（1-6 グリコシド結合）がある場合には分岐部分の立体構造の検討が授業時間内では十分にできなかったことから、得られた結果が最も安定な構造であるといえるところまでは到達しなかった。



血液型の決定に関わる糖鎖の可能な立体構造。左から O 型、A 型、B 型。

このクラスの授業の目標は、オリゴマー程度の糖誘導体の安定構造を求めるための基本的な方法を経験することを通して、有機化学物の安定な立体構造を量子化学計算を用いて求める方法の一端を学ぶことである。一回の計算で到達する安定構造は最初に作成した立体構造（初期構造）に依存することを体験し、もっとも安定な構造をこの方法で求めるには、（実験研究で何かを明らかにするのと同様に）相応の手間と時間がかかることを理解した。「ケーススタディ」の授業を通して、学術研究で成果を得るためには努力の蓄積が必要であることを認識したことは重要である。第 1～3 のどの段階でも、もっとも安定な構造を見出すには至らなかったが、授業の目標の一端は一応果たされたと言える。

3. 量子化学計算を用いる安定構造の予測

量子化学計算を用いる安定構造の予測に“研究として”取り組む場合には、次の取り組みが必要である。

3.1. 用いる分子軌道計算法。第一原理計算（ab initio）法。Gaussian などの市販のプログラムが知られている。近年は計算負荷の小さい密度関数（Density Function）法（菅野ら，1994）が主流になっていて、大きな分子でも現実的な時間内で計算できるようになっている。深谷ら（2023）は、マレーシア科学大学の Yeap 教授らとの共同研究で、PC よりも高性能なワークステーション上で Gaussian 16 を用いて、各種の液晶性有機化合物の安定構造を探索している。たとえば、分子量が約 1100 の有機化合物の安定構造の一つ求めるのに、Intel Xeon E5-2650（2.20 GHz, 24 コア）を 2 個搭載したワークステーションを用いて標準的な第一原理計算法（基底関数：B3LYP6-31G+（d,p））で、約 48 時間を要している。この分子量は、およそ 6 個の単糖からなる糖鎖に相当する。糖鎖全体では、これより大きいものはそれほど多くない。速やかとは言えないが、一つの安定構造を現実的な時間内に得ることができる。より高性能なコンピュータを用いれば、所要時間はそれだけ短縮される。

3.2. 安定構造の探索と比較。安定構造について考察するには、さまざまな初期構造から安定構造を求め、比較する必要がある。多糖類では、分子内水素結合が多数存在するため、複数の安定構造が見つかる可能性がある。このため、できるだけ多くの初期構造から出発して、得られる結果を比較する必要がある。さもな

いと、思いがけない安定構造を見落として、誤った結論に陥りかねない。普通の有機化合物では、初期構造を自動生成することのできる CONFLEX (Goto and Osawa, 1989; CONFLEX Co.) というプログラムが知られている。これと同様の機能をもつ糖鎖版が開発されれば、単糖ユニット間の安定そうなつながりを予想した初期構造が網羅的に自動生成できるようになり、この問題の克服につながる事が期待される。

3.3. 実験データとの関係。糖鎖の構造を実験的に明らかにすることのできる唯一の方法は単結晶 X 線結晶回折法である。タンパク質に対しては膨大な構造データの蓄積がある。糖タンパクについても同様だろうが、タンパク質の構造解析に取り組むからといって、必ずしも糖鎖の構造まで求める必要があるとは限らない。最近のコロキウムで聞いている限りでは、糖鎖に関しては構造データが報告されている例は必ずしも多くないようである。また、分子内相互作用によって内部から表面まで全体的な高次構造が比較的しっかりしているペプチド鎖に比べると、表面から外に突き出ている糖鎖は、ゆらぎが大きいため X 線回折では精度良く観測できない場合もあるようだ。

タンパク質の結晶構造データからだけでは十分な情報が得られないとしたら、独立に合成した糖鎖を用いて結晶構造を解析するのも一つの方法である。最近、グラムスケールの五糖類を液相、one-pot で自動合成できる多糖類の自動合成機の開発が報告されている (Yao, 2022; 鈴木, 2023)。商品化に進むかどうかは需要次第だろうが、いずれは、合成経路をプログラムすることができれば、分岐のあるものを含めて望みの糖鎖を自動的に合成できる日が来るかも知れない。これができれば、結晶化して X 線結晶解析で立体構造を明らかにすることは難しくないだろう。

3.4. AI による立体構造の予測。コロキウムでは、AI による糖鎖の立体構造予測が期待されている。その際に指摘されるのは、立体構造データの蓄積が十分ではないという問題である。近年、AI による立体構造の予測が注目されているが、タンパク質の高次構造 (wwPDB) でも、有機化合物の立体構造 (CCDC) でも、AI が注目を集め始めるよりずっと以前から、X 線結晶解析による膨大なデータの蓄積があった。AI による構造予測が機能するには、データベース化されたビッグデータの存在が必要不可欠であるとされている。糖鎖を含むタンパク質、脂質などの天然物の結晶構造解析の進展により、立体構造についてそれだけのビッグデータが揃うにはどれだけ時間が必要だろうか。

4. おわりにー構造予測は必要か

糖鎖研究の目標は、糖鎖の生物での役割、特に生理機能・生物機能を解明し、予測する方法を模索することだろう。これにより生命科学の進歩につながると共に、その成果は医学、薬学、農学など生命の関連する幅広い分野への応用の可能性が広がる。

生命に関連する他の重要な配列情報の一つに核酸のゲノム配列がある。ヒトをはじめとして多くの生物のゲノム配列が解明され、データベース化されている (NLM)。このデータベースでは、もっぱら DNA や RNA の 4 種類の塩基 (A, T (U), G, C) の配列情報 (種類と順序) だけが検索され、利用されている。塩基の化学構造の違いによる DNA や RNA の立体構造への影響に言及されることはまずない。

糖鎖の場合はどうだろうか。糖鎖を構成する単糖の種類と配列順序を集積した糖鎖構造リポジトリ (GlyTouCan) が更新されると並行して、糖鎖の関連する生命科学情報を集積した糖鎖科学ポータル (GlyCosmos) の構築とデータ共有が本研究所の木下副所長らによって進んでいる。

これで十分だろうか？単糖ユニットの種類と配列順序の情報だけで生命科学現象の解明と予測に十分であれば、核酸 (ゲノム) の場合と同様に、糖鎖の立体構造情報が糖鎖の生命科学に寄与する余地はあまりない。一方、タンパク質の場合には、そのアミノ酸配列 (一次構造) だけでなく高次の立体構造に関する情報が、

その生命科学現象の理解と予測に必要不可欠である。このため、高次構造と機能とを合わせたデータベースの蓄積が進んでいる。糖鎖は果たしてどちらのタイプの配列情報にあたるだろうか？糖鎖の構造と生命科学現象に果たす役割がさらに解明されるにつれて、次第に明らかになっていくだろう。

5. 謝辞

2022年度春学期「ケーススタディ I」で筆者のクラスを履修した学生諸氏、TAを務めた菊池廣大氏および液晶性物質の最安定構造探索の実際について教えて戴いた金子和義博士、菊池氏および深谷椋氏に深く感謝する。

6. 引用文献

CCDC, “Cambridge Crystallographic Data Centre”, <https://www.ccdc.cam.ac.uk>.

CONFLEX Co., “CONFLEX, High Performance Conformation Analysis”, <https://www.conflex.co.jp>.

Gaussian Inc., “Gaussian, Expanding the Limit of Computational Chemistry”, <https://gaussian.com>.

Glycosmos Portal, <https://glycosmos.org>.

GlyTouCan, <https://glytoucan.org>.

Goto, H. and Osawa, E. (1989), “Corner flapping: a simple and fast algorithm for exhaustive generation of ring conformations”, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 24, 8950–8951.

National Library of Medicine (NLM), “Genome”, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>.

Stewart Computational Chemistry, “MOPAC”, <http://openmopac.net>.

X-Ability Co., “Winmostar シミュレーションをすべての化学者に ”, <https://winmostar.com/jp/>.

X-Ability Co., “Winmostar User Manual 11.5.0”, https://winmostar.com/jp/manual_jp/html/.

wwPDB, “Worldwide Protein Data Bank”, <https://www.wwpdb.org>.

Yao, W., Xiong, D. C., Yang, Y. *et al.* (2022), “Automated solution-phase multiplicative synthesis of complex glycans up to a 1,080-mer”, *Nat. Synth* **1**, 854–863. <https://doi.org/10.1038/s44160-022-00171-9>.

菅野暁 監修, 里子允敏, 大西猶平 (1994), “密度汎関数法とその応用”, 講談社.

鈴木達哉 (2023), “液相自動合成機による 1080 糖の合成”, *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, **35**, J17, <https://doi.org/10.4052/tigg.2226.6J>.

深谷椋, 菊池廣大, 金子和義, 清水昭夫 (2023), 私信.

丸善, “HGS 分子構造模型”, <https://www.maruzen-publishing.co.jp/hgs/>.

(Web ページは 2023 年 4 月 1 日～5 月 1 日の間に接続し、確認した。)