

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500272

研究課題名（和文）量子化学計算を用いたグルコース環構造変換過程の網羅的解明とセルラーゼの分子設計

研究課題名（英文）Extensive investigation of the ring puckering paths of Glucose using quantum chemical calculation and the molecular design of cellulase

研究代表者

上田 一義（UEDA KAZUYOSHI）

横浜国立大学・工学研究院・教授

研究者番号：40223458

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、グルコースの環構造変換過程を量子化学的計算手法を用いて明らかにすることである。グルコースの環変換過程は地球儀上の緯度と経度の値を用いた Clemer-Pople のパラメータにより表記することが出来る。本研究の成果として、Clemer-Pople 図の北極部に相当するイス型 4C1 構造からねじれ配座を経て、南極部のイス型構造である 1C4 に至る多くの経路とその遷移状態を求めることが出来た。グルコースに関し、このような環変換経路の網羅的な解析はこれまでになく、今後のセルロース利用の基礎情報として重要な成果である。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this work is to clarify the whole processes of the inter-conversion of the ring conformations of the glucopyranose ring using quantum mechanics calculation. The inter-conversion process can be represented by using Clemer-Pople parameter which is shown by the degrees of the latitude and the longitude on the surface of the globe. The results of this work indicated that there are many pathways which connect north pole 4C1 conformation and south pole 1C4 structure. It also found their transition structures of those paths. This information will help to consider the application of carbohydrate to the industrial use.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2600,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：コンピューターシミュレーション

1. 研究開始当初の背景

植物組織の構成主成分はセルロースであり、その有効利用は石油代替のエネルギー資

源、材料資源として、最近益々緊急の課題となっている。そのセルロースを構成するグルコースは最も良く研究され、かつ最も良く知

られた糖であることは言うまでもない。しかし、そのグルコースにも未だに解決されていない重要な問題が多く残されている。たとえばグルコース環（グルコピラノース6員環）は通常 1C_4 のイス型構造をとっているが、環構造にはその他に“ねじれ配座”や 1C_4 イス型、舟型などいくつかの環構造を取る可能性のあることが多くの教科書に記載されている。しかし、実際にそれぞれの環構造がどのようなエネルギーを持っているのか、また、どの環構造が実現可能であるのか、さらに環構造間の変化はどのような道筋で進むのか（環構造変換パス）、環構造間の転移の中間にある遷移状態における構造と、その遷移状態におけるエネルギー障壁の高さは正確にはいくらなのか等の基本的なことが明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究ではグルコースの環構造変換過程の全貌を、量子化学的計算手法を用いて明らかにすることを目的とするものである。この研究は糖の中で最もポピュラーなグルコースについて、未だに明確でないグルコース環の立体配座について定量的に明らかにするもので、糖化学の最も基本的な基礎情報を与えるものである。また、実用的にも低炭素化社会実現に向けてのグリーンエネルギーの実用化研究の一つである、セルロースのエネルギー資源利用の効率化等を図る上で重要である。

3. 研究の方法

グルコース環（ピラノース環）の取りうる構造は図1のような Cremer-Pople 図により全体の様子を表すことが出来る。この図では $\theta=0$ 度が 1C_4 構造を表し、 $\theta=180$ 度が 1C_4 構造を表す。また、 $\theta=90$ 度のとき、 ϕ の様々な値に応じて 3B 、 1S_3 等の“ねじれ構造”を表現する事が出来る。本研究ではこの図で表現される様々な構造間の転移、特に、通常のグルコースが取る 1C_4 構造から、どのような“ねじれ構造”を経由して 1C_4 構造に至るのか、その構造間転移の経路・遷移状態構造・遷移エネルギー等を求めることが目的である。

一例として、南半球の環配座変換の起点として、 1C_4 から $\theta=90$ 度に相当するねじれ配座に至る経路の探索を示す。まず、 1C_4 の最安定構造を決定した。β-D-グルコピラノースは4つの水酸基と1つのヒドロキシメチル基を持つため、回転部分は6か所ある（図2）。さらに、4つの水酸基に対し、ゴーシュ型 (G^- と G^+)、トランス型 (T) の3種類の安定となる回転異性体があり、1つのヒドロキシメチル基の C5-C6-O6 の回転異性体には tg、gt、gg がある。そのため、計 729 の回転異性体を考慮する必要があり、本研究ではそれら全て

を 1C_4 の構造最適化の初期構造とした。まず、

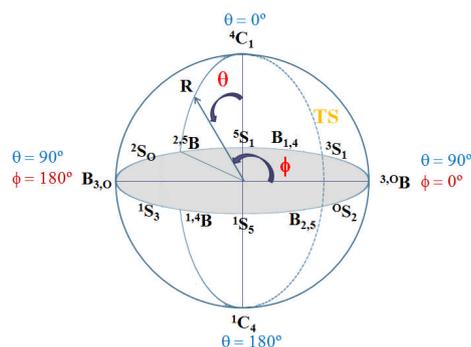


図1 Cremer-Pople の puckering parameter

RHF/3-21G で構造最適化し、最もエネルギーの低い構造から +2.5 kcal/mol 以内のエネルギーを持つ構造を抽出し、それらの構造についてさらに、B3LYP/6-311++G(d,p) で構造最適化を行い、最も安定な 1C_4 構造を決定した。

次に求めた 1C_4 から Boat 型（ねじれ構造）への環配座変換経路を探索するために、行きつく先のねじれ構造として、まず、 3B への

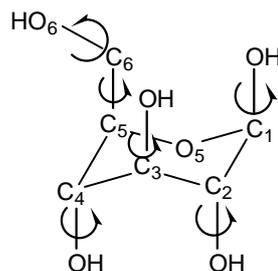


図2 glucose の OH 基と CH_2OH 基の回転異性体

経路を考えた（図3）。これは環にある酸素原子の動きによる構造変化であり、事前の研究 (*Carbohydr Res.*, **344**, 2266-2269 (2009)) により他の経路に比べて起こりやすいと考えられる。 1C_4 は環平面より上に1番炭素が、下に4番炭素が突き出た構造であり、 3B は3番炭素と酸素原子が共に環平面より上に突き出た構造である。これらの構造は環にある酸素原子が上下に振動することで互に変換する。したがって、この変換の遷移状態として、O原子が環平面にある封筒型構造 3E となることが予想される（図3）。そこで、この 3E 構造を持つ glucopyranose 環の遷移状態構造を見つけ出す作業を行った。すなわち、この 3E 配座に分子内水素結合を形成するような OH・ CH_2OH 基の回転異性体を考え、遷移状態計算を行った。計算レベルは B3LYP/6-311++G(d,p) である。

同様の考察により、 1C_4 から 1B への遷移状態となる 1E 、 2B への遷移状態となる 5E 、さらに $B_{1,4}$ への遷移状態となる E_4 についても探索した。最後に求めた遷移状態が予想した

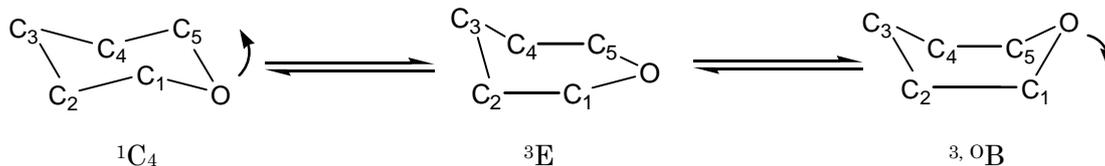


図3 予想した ${}^1C_4 \sim {}^3E \sim 3,0B$ 配座変換経路

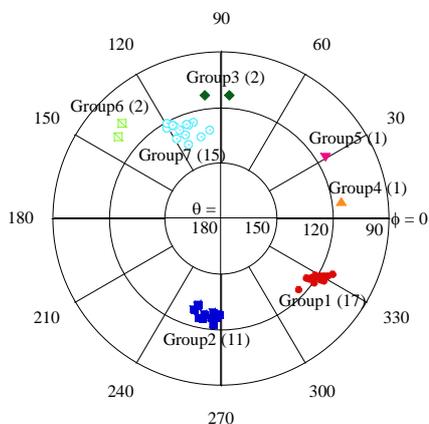


図4 Cremer-Popleのpuckering parameterによる遷移状態の分布 (カッコ内: 遷移状態の数)

配座変換経路のものであるかどうかを確認するために、これらの遷移状態を通る環配座変換の前後の環配座を決める固有反応座標計算を行った。計算レベルはB3LYP/6-311++G(d,p)である。

4. 研究成果

全部で49個の遷移状態を見出すことが出来た。それらを7つのグループに分類して検討した。各グループ内の最も低いエネルギーをグループ間で比べ、これらエネルギーの低い順にグループの番号をGroup1、Group2などとし、各Groupの最もエネルギーの低い遷移状態をTS1、TS2などとした。puckering parameterによる遷移状態の分布を図4に示した。 $\phi = 150 \sim 240^\circ$ に遷移状態は見つからなかった。最もエネルギー差の小さい遷移状態を 3E ($\theta = 0^\circ$ 、 $\phi = 125.3^\circ$)と予想したが、計算結果はGroup1に属する 3H_2 ($\theta = 330^\circ$ 、 $\phi = 129.2^\circ$)が、最もエネルギー差の小さい遷移状態となった。Group1の数は最も多く17個で、 $\Delta E = 6.09 \sim 10.49$ kcal/molの範囲であった。次に遷移状態の数が多いGroupは、15個の遷移状態をもつGroup7であるが、これらに属する遷移状態は高い遷移エネルギーを持つことが分かった ($\Delta E = 10.29 \sim 16.36$ kcal/mol)。

Group1の最も低い遷移状態 (TS1) の環構造は 3H_2 で、 1C_4 -ggとのエネルギー差は6.09 kcal/molである。虚の振動数の振動モードはピラノース環の酸素原子O6の振幅が大きいたことが確認でき、このO6の振動により環配座が変化する。振動モードは予想通り

glucose環中の酸素が振動するモードであった。 1C_4 -ggと同じ側鎖配座の遷移状態はGroup1内でエネルギー差6.90 kcal/molのところにあった (TS1'とする)。TS1'の虚の振動モードも環の酸素原子O6が大きく振動する。TS2—TS7についても同様に振動計算を行った。

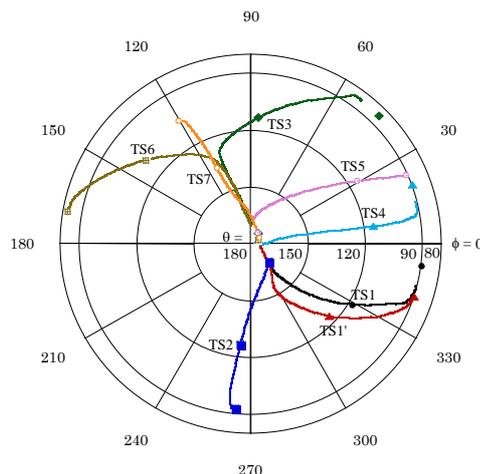


図5 Cremer-Popleのpuckering parameterによる

< 固有反応座標 (IRC) 計算 >

図5にIRC計算による環配座変換経路を示した。曲線はIRC計算の経路を表わし、曲線の先端はIRC計算の最終構造の(θ , ϕ)を表わす。それぞれの曲線の中央付近にある同じ色のマークは遷移状態の位置であり、曲線の先端上あるいは少し離れた曲線と同じ色のマークは最終構造から構造最適化した構造の位置を表わす。

おこなったすべての計算で遷移状態から中心の 1C_4 配座 ($\theta = 180^\circ$)に行きついた。以後、内方向といい、南極SP (South Pole)と表記する。もう片方の経路は $\theta = 90^\circ$ 付近に行きついた。以後、外方向といい、赤道面EP (Equatorial Plane)と表記する。例えば、TS1の内方向の最終的な環変換構造をSP1、外方向の最終構造をEP1と表わす。TS7は $\theta = 90^\circ$ に届かなかった ($\theta = 75.2^\circ$)。中心の 1C_4 配座 ($\theta = 180^\circ$)から遷移状態を通して、赤道面の $\theta = 90^\circ$ の環配座まで直線的な変換経路をたどると考えていた。直線的な変換経路もあるが、しかし、大きく曲がって予想できない環配座に行きついたものもあった。

表1 遷移状態と環配座変換前後の構造とそのエネルギー。エネルギーの単位は kcal/mol である。 ${}^1\text{C}_4\text{-gg}$ の -431348.329 kcal/mol を基準としている。

	TS1	TS1'	TS2	TS3
内方向	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{gtG}^-$	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{gtG}^-$	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{G}^-\text{TTggG}^+$
(SP)	2.35	0.00	2.35	1.05
TS	${}^3\text{H}_2\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{gtG}^-$	${}^3\text{H}_2\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^1\text{H}_2\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{gtG}^-$	${}^5\text{H}_4\text{-G}^+\text{G}^-\text{TG}^-\text{ggG}^+$
	6.09	6.90	7.10	7.42
外方向	${}^3\text{B-G}^+\text{TTG}^-\text{gtG}^-$	${}^3\text{B}/{}^0\text{S}_2\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^1\text{S}_5\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{gtG}^-$	${}^3\text{S}_1/\text{B}_{14}\text{-G}^+\text{G}^-\text{TG}^-\text{ggG}^+$
(EP)	3.52	3.83	4.01	2.68
<hr/>				
	TS4	TS5	TS6	TS7
内方向	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^+\text{ggG}^+$	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{G}^-\text{G}^-\text{TgtG}^-$
(SP)	0.00	0.84	0.00	6.74
TS	${}^3\text{E-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^3\text{H}_4\text{-G}^+\text{TTG}^+\text{ggG}^+$	${}^5\text{H}_0/{}^2\text{S}_0\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^5\text{E-G}^+\text{G}^-\text{G}^-\text{TgtG}^-$
	7.54	7.79	10.24	10.29
外方向	${}^3\text{S}_1\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$	${}^3\text{S}_1\text{-G}^+\text{TTG}^+\text{ggG}^+$	$\text{B}_{30}\text{-G}^+\text{G}^+\text{TG}^-\text{ggG}^+$	${}^{25}\text{B-G}^+\text{G}^-\text{G}^-\text{TgtG}^-$
(EP)	2.68	5.40	1.37	8.11

TS1 と TS1' の変換経路は同じようにカーブしている。そのため、TS1 と TS1' の ϕ の差 12° が、そのまま、EP1 と EP1' の ϕ の差 10.5° となった。側鎖の最後の3つの配座が異なっているが、エネルギー差はほとんどなく 0.31 kcal/mol であった。TS1' は ${}^1\text{C}_4$ の最も安定な側鎖と同じ配座であるから、予想した通り SP1' は ${}^1\text{C}_4$ の最も安定な配座となった(表1)。これら2つの IRC 計算では側鎖の配座の変化は見られなかった。

TS2 の変換経路はほぼ直線的であり、側鎖配座の変化はなかった。SP2 は SP1 と同じ構造となった。EP2 は ${}^1\text{S}_5$ 配座で、比較的エネルギーは高い。

TS3 の変換経路は、遷移状態から内方向で大きく曲がっている。SP3 は ${}^1\text{C}_4$ の gg 配座であるが、最もエネルギーが低い ${}^1\text{C}_4$ も gg 配座で、それより 1.05 kcal/mol だけ高い。EP3 は ${}^1\text{C}_4\text{-tg}$ と同じエネルギー差であった。

TS4 の変換経路は、直線的で赤道付近で急に曲がったが、側鎖配座の変化はなかった。SP4 は SP1' と同じ構造となった。

TS5 の変換経路は、直線的であった。SP5 は ${}^1\text{C}_4$ の gg 配座であるが、SP3 よりさらにエネルギーが低かった。最も安定な ${}^1\text{C}_4\text{-gg}$ とのエネルギー差 (0.84 kcal/mol) はほとんどない。EP5 は EP4 と同じ環配座 (${}^3\text{S}_1$; θ の差は 1° 、 ϕ の差は 4°) に行きついた。しかし、側鎖の配座は異なっていた。4番目の配座が EP5 で

G^+ 、EP4 で G^- であった。 $\text{C}_4\text{-O10-H21}$ の H21 は水素結合に関与していないわりに、エネルギー差 ΔE は 2.72 kcal/mol と大きい。

TS6 の変換経路は、遷移状態から内方向で大きく曲がっており、遷移状態から外方向ではほぼ直線的であった。TS3 の変換経路と対称的である。しかし、TS3 の環配座変換と違い、内方向での側鎖配座の変化はなく、外方向で2番目が T から G^+ に変化した。SP6 は、SP1'、SP4 と同じ構造となった。TS6 のエネルギー差が 10.24 kcal/mol と大きいにも関わらず、EP6 のエネルギー差が 1.37 kcal/mol と小さかった。この差は ${}^1\text{C}_4\text{-gg}$ と ${}^1\text{C}_4\text{-gt}$ のエネルギー差よりも小さい。 $\text{B}_{30}\text{-G}^+\text{G}^+\text{TG}^-\text{ggG}^+$ は ${}^1\text{C}_4$ 以外で最もエネルギーが小さい構造である。

TS7 の変換経路は、直線的であった。遷移状態のエネルギーが高いので、SP7 と EP7 のエネルギーも高くなったと考えられる。側鎖配座の変化はなかった。

環変換中に側鎖配座は、保存される傾向にある。例外は、変換経路が大きく曲がった TS3 と TS6 である。しかし、側鎖配座が、TS3 では大きく曲がる内方向で変化する場合であり、TS6 では直線的な外方向で変化する場合である。

以上、結論として、 ${}^1\text{C}_4$ からの環変換は、まず、最も安定な ${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{ggG}^+$ から出発し、側鎖が回転して ${}^1\text{C}_4\text{-G}^+\text{TTG}^-\text{gtG}^-$ (SP1) となる。その後、最も低い遷移状態である ${}^3\text{H}_2\text{-G}^+$

TTG⁻gtG⁻ (TS1) を通り、³⁰B-G⁺TTG⁻gtG⁻ (EP1) に行きつく経路が最も取りやすい経路であることが示された。さらに、赤道面に沿って、この計算で得られた赤道面の最も安定な B₃₀-G⁺G⁺TG⁻ggG⁺ (EP6) になると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Osamu Takahashi, Katsuyoshi Yamasaki, Yuji Kohno, Kazuyoshi Ueda, and Motohiro Nishio, "Importance of the CH/ π hydrogen bond in the enhancement of CD amplitude of exomethylene steroids" *RSC Advances*, **2**, 10891-10898 (2012). 査読有
- ② Kazuki Mori, Takanori Kobayashi, Kazuhisa Sakakibara, and Kazuyoshi Ueda, "Experimental and theoretical investigation of proton exchange reaction between protic ionic liquid diethylmethylammonium trifluoromethanesulfonate and H₂O", *Chemical Physics Letters*, **552**, 58-63 (2012). 査読有
- ③ Atsushi Tsutsumi, Namsrai Javkhantugs, Atsushi Kira, Masako Umeyama, Izuru Kawamura, Kazuyoshi Ueda and Akira Naito, "Structure and orientation of bovine lactoferrampin in the bacterial membrane as revealed by Solid-State NMR and molecular dynamics simulation.", *Biophys. J.* **103**, 1735-1743 (2012). 査読有
- ④ 森一樹、樺島智大、源聡、玉城哲平、上田一義, "Gromacs のための計算支援ソフト GISP の開発", *J. Comput. Chem. Soc. Jpn.*, **11**, 98-103 (2012). 査読有
- ⑤ Keiko Kondo, Minoru Takeda, Masato Katahira, Jun-ichi Koizumi, and Kazuyoshi Ueda, "Conformational analysis of an extracellular polysaccharide produced by *Sphaerotilus natans*", *Carbohydrate Research*, **360**, 102-108 (2012). 査読有
- ⑥ Takanori Kobayashi, Daichi Hayakawa, Tegshjargal Khishigjargal and Kazuyoshi Ueda, "Ab initio studies of the crystal structure of cellulose triacetate I.", MRS Online Proceedings Library, 1470, mrs12-1470-xx03-05, (2012). doi:10.1557/opl.2012.1204 査読有
- ⑦ Takanori Kobayashi, Yuji Kohno, Toshiyuki Takayanagi, Kanekazu Seki, and Kazuyoshi Ueda, "Rare gas bond property of Rg-Be₂O₂ and Rg-Be₂O₂-Rg (Rg = He, Ne, Ar, Kr and Xe) as a comparison with Rg-BeO", *Computational and Theoretical Chemistry*, **991**, 48-55 (2012). 査読有

- ⑧ Kenichi Ogata, Yoshitaka Yamaguchi, Youji Kurihara, Kazuyoshi Ueda, Hiroataka Nagao, Takashi Ito, "Twisted Coordination Mode of Bis(N-Heterocyclic carbene) Ligands in Octahedral Geometry of Group 6 Transition Metal Complexes : Synthesis, Structure, and Reactivity" *Inorganica Chimica Acta.*, **390**, 199-209 (2012). 査読有
- ⑨ Hitomi Miyamoto, Mariko Ago, Chihiro Yamane, Masaharu Seguchi, Kazuyoshi Ueda, and Kunihiko Okajima, "Supermolecular Structure of Cellulose/Amylose Blends Prepared from Aqueous NaOH Solutions and Effects of Amylose on Structural Formation of Cellulose from Its Solution", *Carbohydr. Res.* **346**, 807-814 (2011). 査読有
- ⑩ Namsrai Javkhantugs, Akira Naito, Kazuyoshi Ueda, "Molecular Dynamics Simulation of Bombolitin II in the Dipalmitoylphosphatidylcholine Membrane biyaer", *Biophys. J.*, **101**, 1212-1220 (2011). Doi:10.1016/j.bpj.2011.07.018 査読有
- ⑪ Daichi Hayakawa, Kazuyoshi Ueda, Chihiro YAMANE, Hitomi MIYAMOTO and Fumitaka HORII, "Molecular dynamics simulation of the dissolution process of cellulose triacetate-II nano-size crystal in DMSO", *Carbohydr. Res.* **346**, 2940-2947 (2011). Doi:10.1016/j.carres.2011.10.019 査読有
- ⑫ Shuichi Toraya, Namsrai Javkhantugs, Daisuke Mishima, Katsuyuki Nishimura, Kazuyoshi Ueda, Akira Naito, "Dynamic Structure of Bombolitin II Bound to Lipid Bilayers as Revealed by Solid-state NMR and Molecular-Dynamics Simulation", *Biophys. J.*, **99**, 3282-3289 (2010). 査読有

[学会発表] (下記他、計 10 件)

- ① 平成 24 年度神奈川県ものづくり技術交流会予稿集、3PS-11, 神奈川県産業技術センター、2012 年 11 月 7 日—11 月 9 日, "糖 α -L-イドピラノースにおける環配座変換の計算による解析" 小林 正人、栗原 庸次、上田 一義

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 一義 (UEDA KAZUYOSHI)
横浜国立大学・大学院工学研究院・教授
研究者番号：40223458