

ガラクトン酸への金属イオンの結合位置の 半経験的分子軌道計算による推定

中 村 泰 彦*

(1995年10月16日 受理)

An Estimate of the Preferable Sites of Galacturonic Acid
for Metal Ion Binding by a Semiempirical Method

Yasuhiko NAKAMURA

Abstract

Low-energy conformations for α -D-galacturonate ion and its 1,4-linked dimer were searched for by semiempirical MO calculations with PM3 hamiltonian. The preferable sites for metal ion binding were estimated on the basis of electrostatic potential of the resulting conformations. For the monomer a oxygen atom of the carboxyl group, the oxygen atom of the pyranose ring and the oxygen atom at the C(4) position were considered to coordinate to metal ions. For the dimer the possibility of coordination of the oxygen atoms at the carboxyl groups of consecutive residues seemed unlikely due to the long interatomic distance and the occurrence of the most negative values of the potential at the outer opposite sites.

緒 言

ペクチン質は植物の細胞壁や細胞間隙に分布し、代表的な可溶性食物繊維のひとつである。その組成は起源により異なるが、ガラクトン酸を主要構成成分とする酸性多糖類で、植物組織中では多くが不溶化して組織の硬さ維持に寄与している。不溶化にはセルロースなど不溶性多糖類との結合のほか、カルシウムイオンなどの多価金属イオンとの錯体形成が関与していると考えられており、事実、植物組織を金属キレート剤で処理することによって多くのペクチン質を可溶化させることができる。また、植物性食品の加工時に外部から多価金属塩を添加することによって、組織の軟化を

*鹿児島大学教育学部家政科

防ぐことができるが、これもペクチン質—多価金属イオンの結合によるペクチン質の不溶化の結果と考えられる。

植物から分離されたペクチン質の金属イオン吸着能についても多くの報告があり、遷移金属イオンを含む金属イオンとペクチン質の結合が円二色性測定¹⁾、分光スペクトル測定^{2), 3)}、電位差滴定⁴⁾等の結果から論じられている。また、植物が土壌から鉄イオンを吸収する際、根端で分泌される粘質液中で鉄(III)イオンが還元されることが分かっているが、この還元にはペクチン質の構成成分であるガラクトuron酸が関与しているといわれ、その反応機構も提案されている⁵⁾。一方、ウロン酸多糖類と金属イオンの結合様式がウロン酸の構造と関連づけて研究され、架橋結合モデルが提出されている^{6)~8)}。しかし、カルシウムイオンを含めて、金属イオンのガラクトuron酸イオンへの結合位置や結合における酸素原子の配位構造についてはなお不明なところが多い。そこで、ガラクトuron酸イオンの構造と電子状態を半経験的分子軌道法による計算から求め、ガラクトuron酸イオンへの金属イオンの結合位置を推定することを目的に、本研究を行った。

計 算 方 法

計算はHyperChemプログラムシステム⁹⁾を使い、IBM互換486DX2(66MHz)パーソナルコンピュータで行った。半経験的分子軌道計算のハミルトニアンはPM3¹⁰⁾を用いた。構造最適化はPolak-Ribiereの方法によった。構造最適化の集束条件は力の勾配のRMSで0.03kcal/Å·mol以下を原則としたが、この条件で集束しない構造は0.1kcal/Å·molとした。ダイマーの最低エネルギー構造の探索はすべての計算をPM3法で行うと計算に長時間を要するので、MM+力場またはAMBER力場を用いた分子力学計算を組み入れて次のように行った。まずPM3法で構造最適化した α -D-ガラクトuron酸イオンを1,4結合させてダイマーを作り、これをPM3法で最適化させた。次にこのダイマーのグリコシド結合を含む2つの二面角 ϕ 、 ψ をそれぞれ30度ずつ変化させながら分子力学計算を行い、エネルギーの低い ϕ 、 ψ の組み合わせを求めた。最後に、得られた ϕ 、 ψ を持つダイマーを出発構造としてPM3法で再度構造の最適化を行った。静電ポテンシャルは、分子の中心を直角座標の原点に置き、ピラノース環のC2、C3、C5が作る面をXY面にほぼ平行するように、C1が最大のX値と負のZ値を取るように置いて、X、Y、Zそれぞれの軸に垂直な面上の縦60、横60のグリッド点で計算した。面間隔は1Åとしたが、極小値前後は0.5Å間隔で計算した。最小のポテンシャル値を与える面を求め、この面上の静電ポテンシャルを等高線図で示した。

結 果 と 考 察

Fig. 1に α -D-ガラクトuron酸1価アニオン(G^-)を真空中で最適化させて得られた構造(I)を示した。水分子の周期ボックス中での構造最適化はPM3法では長時間を要するので行わなかつ

中村：ガラクトツロン酸への金属イオンの結合位置の半経験的分子軌道計算による推定

たが、PM3 計算で得られた電荷を付与して行った MM+ 計算では、溶媒和された構造と真空中の構造では全体としての分子構造はあまり変わらなかった。アミノ酸りん酸エステルのように、強く分極した酸素原子と水素原子が、C-C あるいは C-O 結合のねじれが自由なために接近できる場合は、真空中と水分子を付加したときとで構造が大きく変わるが¹¹⁾、糖のピラノース環では環構成原子間の結合のねじれが拘束されるために酸素原子と水素原子の接近は真空中でも制限され、水分子の有無が構造変化に及ぼす影響は小さいと推定される。

構造 I のピラノース環を XY 面においたときの、X, Y, Z 軸に垂直なクリップ面の静電ポテンシャルの最小値とその面の分子中心からの距離、および面の前方 0.5 Å のクリップ面と後方 0.5 Å のクリップ面の間に存在する原子を Table 1 にまとめた。また、それぞれの軸方向で最小のポテンシャル値を与える面のポテンシャル等高線を Fig. 2 に示した。静電ポテンシャルの一番深い谷はカルボキシル基の酸素原子 O6 近くに見られるが、その谷はピラノース環の酸素原子 O5 の方に張り出している (Fig. 2 (c))。O7 近くにも同じような谷がある。4 つの水酸基の酸素原子付近にも静電ポテンシャルの谷があるが、カルボキシル基の酸

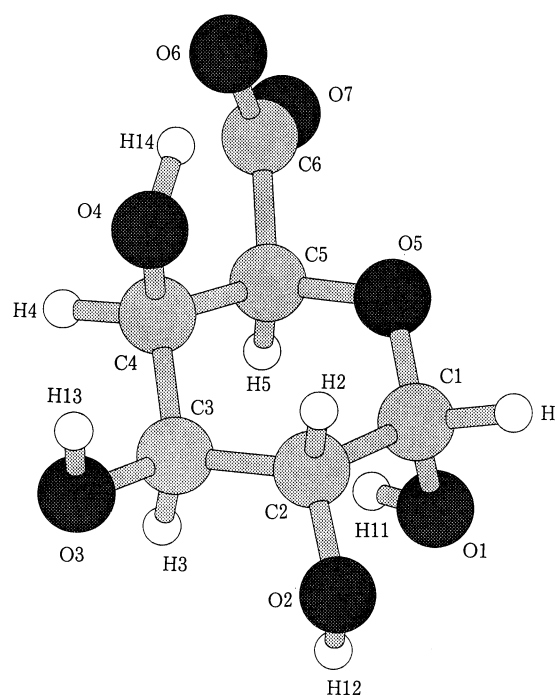


Fig.1 Molecular model and atomic numbering of optimized α -D-galacturonate ion 4C_1 conformation (I)

Table 1 The most negative values of electrostatic potential on XZ, XY and YZ planes of conformer I

Plane offset (Å)	XZ plane		XY plane		YZ plane	
	Atoms found within $\pm 0.5\text{\AA}$ of offset plane	Most negative potential	Atoms found within $\pm 0.5\text{\AA}$ of offset plane	Most negative potential	Atoms found within $\pm 0.5\text{\AA}$ of offset plane	Most negative potential
4		-0.1637		-0.1502		-0.1387
3	H12 H13 O2 O3	-0.2267		-0.2310		-0.1919
2	H2 H3 C2 C3	-0.1718	H14 O4 O6	-0.3886	H4 O7	-0.3407
1	H4 C4 O4	-0.2682	H2 H13 C4 C6	-0.2990	H3 H5 H13 H14 C3 C4 C5 C6 O3 O4 O6	-0.3862
0	H1 H11 H14 C1 O1	-0.2211	H1 H4 C2 C3 C5 O3 O5 O7	-0.3786	H11	-0.3192
-1	H5 C5 O5	-0.2456	H12 H3 H5 C1 C2	-0.3573	H2 H12 C1 C2 O1 O2 O5	-0.2372
-2	C6 O6	-0.3432	H11 O1	-0.2419	H1	-0.2204
-3	O7	-0.3986		-0.1663		-0.1514
-4		-0.3909		-0.1102		-0.1021

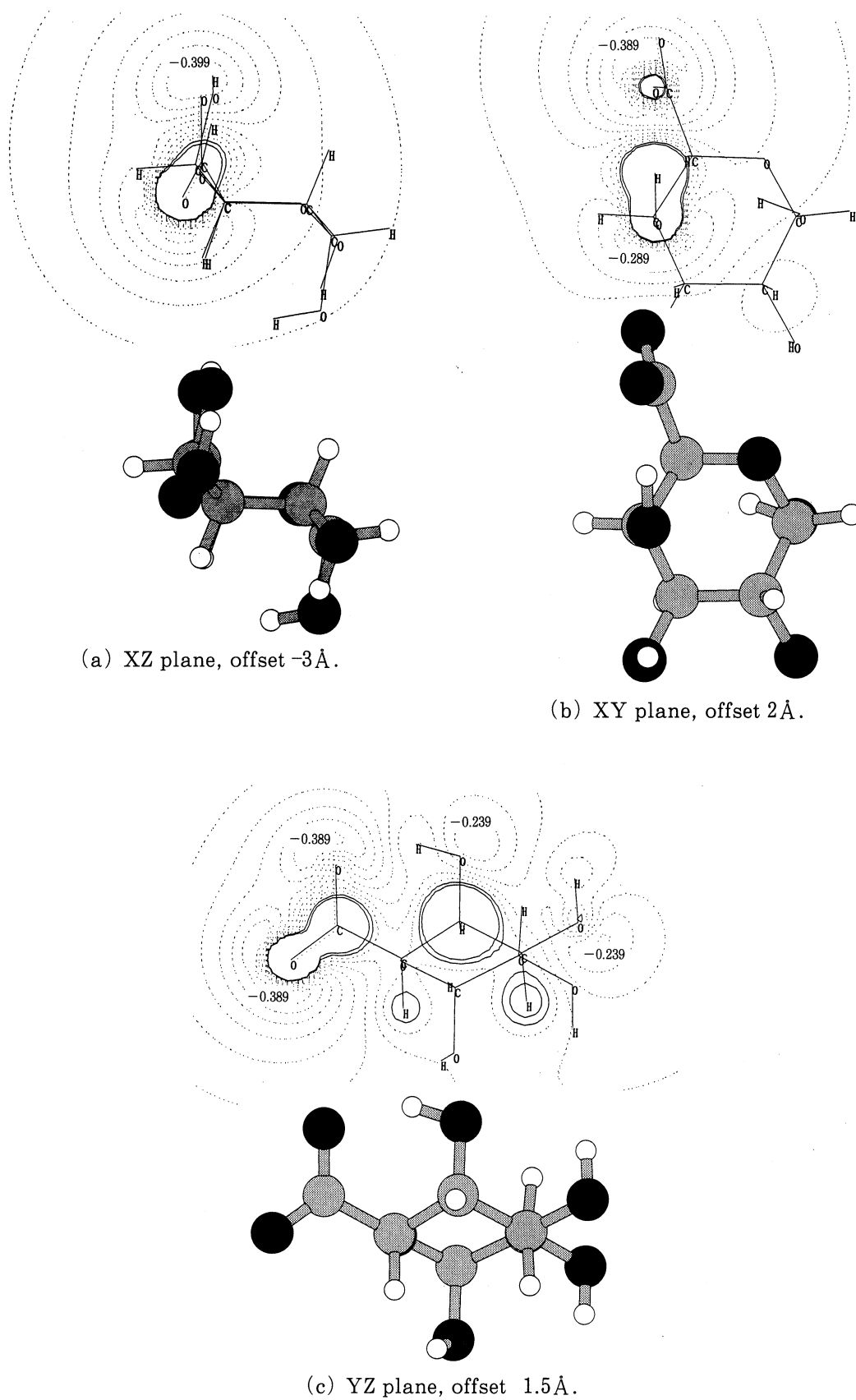


Fig. 2 Electrostatic potential around the atoms of conformer I

中村：ガラクトロン酸への金属イオンの結合位置の半経験的分子軌道計算による推定

素原子付近に比べるとポテンシャル値は大きい (O3, O4については Fig. 2 (c) でも認められる)。O6, O5, O4 の酸素原子の上方 (Z 軸の正の方向) は広く空いているので、金属イオンが上方から O6, O5, O4 に接近するのに立体的障害はない。また、O6-O5, O5-O4, O4-O6 の原子間距離はそれぞれ 3.06 Å, 3.01 Å, 2.63 Å で、これらの酸素原子が金属イオンに同時に配位する構造は十分考えられる。マグネシウムイオンと G^- の結合に関する STO-3G レベルの非経験的分子軌道計算では、マグネシウムイオンが O6, O5, O4 に配位した構造が得られるが (未発表)、PM3 法による静電ポテンシャルおよび最適化構造はこの 3 つの酸素原子が金属イオンに配位する可能性が大きいことを示している。

ペクチン質中のガラクトロン酸は D 型で α -1,4 結合していることが確かめられているので、 α -1,4 結合 D-ガラクトロン酸ダイマーの構造と静電ポテンシャルについても計算した。ダイマーの PM3 法による構造最適化は計算に長い時間を必要とするので、計算方法のところに述べた分子力学計算との組み合わせにより行った。グリコシド結合を含む 2 つの二面角 H1-C1-O1-C4' (ϕ) と C1-O1-C4'-H4' (ψ) を 30° ずつ変えて、ダイマーの構造最適化を行った結果を Fig. 3 に示した。MM+力場を使って計算したときのエネルギーの低いダイマーの構造は $\phi = 0^\circ$, $\psi = 30^\circ$ であった。AMBER 力場を使用した計算では $\phi = -30^\circ$, $\psi = 30^\circ$ であった。MM+力場は Allinger らの MM 2 力場¹²⁾を、パラメーターのない原子に対しては新たな関数形による既定値を使って全原子に適用できるようにしたものであり、静電相互作用は、ここでは結合双極子モーメントを使用して計算した。AMBER 力場¹³⁾は、アミノ酸や核酸用に作られたものであり、水素結合の項を明示的に取り入れているという特徴がある。Fig. 3 から分かるように、MM+力場での計算結果と AMBER 力場での計算結果は極小エネルギー構造の出現場所に関しては類似しており、立体的障害の少ないダイマーの構造は $\phi = -30^\circ \sim 0^\circ$, $\psi = 30^\circ$ 付近にあると推定された。そこで、初期構造を $\phi = 0^\circ$, $\psi = 30^\circ$ とし、PM3 法で最適化させて得られた構造 (II) を Fig. 4 に示した。これは、PM3 法で最適化させた構造 I を α -1,4 結合させて AMBER 法で最適化させ、続いて PM3 法で最適化を行って

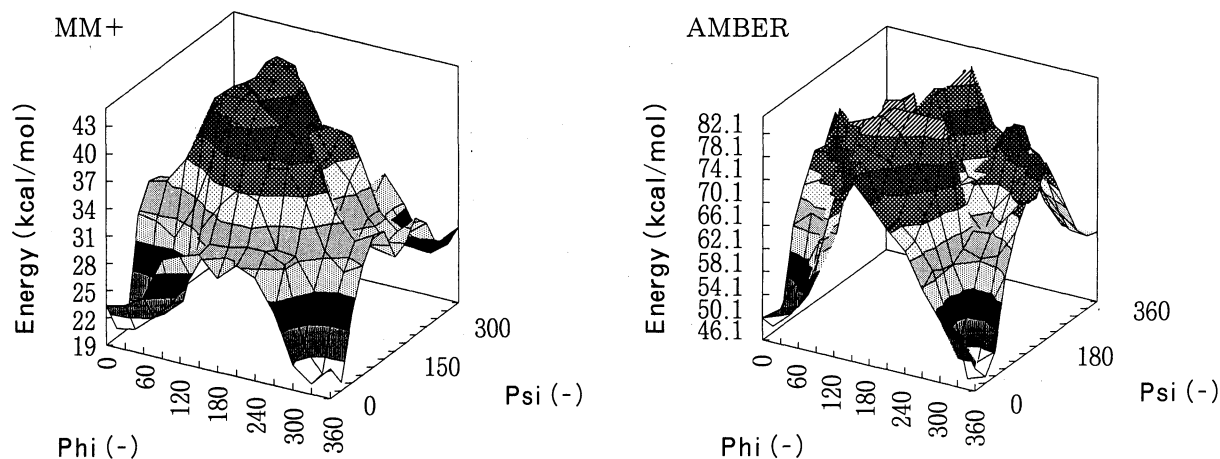


Fig. 3 Total energy of a dimer with respect to two dihedral angles ϕ and ψ

得られた構造 ($\phi = 20^\circ$, $\psi = 28^\circ$) より 4 kcal/mol だけエネルギーが低かった。このエネルギー差は、用いた方法の全体的精度からすると有意とは言えないが、構造最適化法によって得られる構造は初期構造に依存する局所的最低エネルギー構造に過ぎないので、 ϕ , ψ 検索を行って確認することが必要である。

構造 II の静電ポテンシャルを構造 I の場合と同様にして求めた結果を Table 2 と Fig. 5 に示した。等高線図はかなり複雑であるが、静電ポテンシャルの最も深い谷は、構造 I のときと同じく、2つのカルボキシル基のそれぞれの酸素原子付近にある (Fig. 5 (a), 5 (b), 5 (c))。2つのカルボキシル基の炭素原子間距離は 7.28 Å で、カルボキシル基の炭素原子はダイマーのほぼ両端に位置しているため、静電ポテンシャルの深い谷は完全に分離された形になっている。2つのピラノース環に

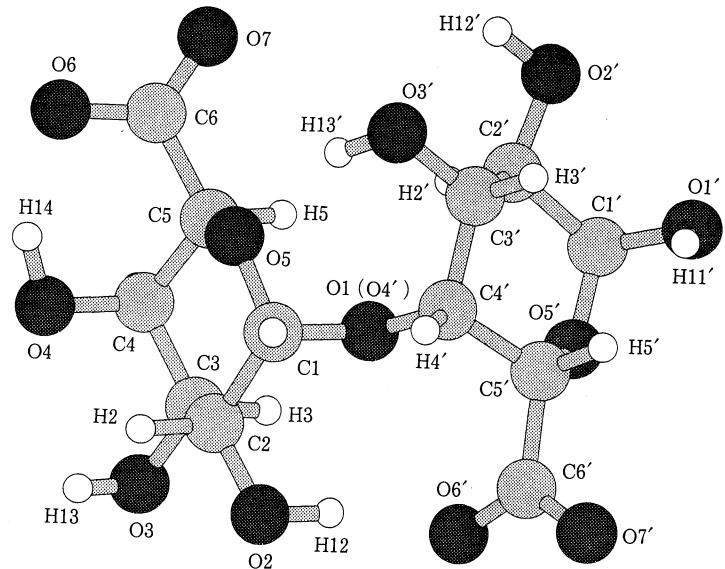


Fig. 4 Molecular model of optimized conformation (II) for α -D-galacturonate ion dimer

Table 2 The most negative values of electrostatic potential on the XZ, XY and YZ planes of conformer II

Plane offset (Å)	XZ plane		XY plane		YZ plane	
	Atoms found within ± 0.5 Å of offset plane	Most negative potential	Atoms found within ± 0.5 Å of offset plane	Most negative potential	Atoms found within ± 0.5 Å of offset plane	Most negative potential
5		-0.2618		-0.3489		-0.1892
4		-0.4103	H13 H14 O4 O6	-0.4661		-0.2392
3	H12 H13 O2 O3 O6' O7'	-0.4408	H2 H4 C4 C6 O3	-0.3668	H4	-0.3703
2	H2 H3 C2 C3 C6'	-0.4501	H1 C2 C3 C5 O5 O7	-0.4470	H3 H5 H13 H14 C4 C6 O3 O4 O6 O7	-0.4618
1	H1 H4 H5' C1 C4 C5' O4 O4' O5'	-0.2594	H3 H5 H12 H13' C1 O2	-0.4374	H1' H2' C3 C5	-0.4062
0	H14 H1' H4' C1' C4' C5 O5	-0.4314	H4' O3' O4'	-0.3047	H12' C2 C1' C2' O5 O2' O4' O5'	-0.3882
-1	H5 H2' H11' C2' C3' O1'	-0.4373	H2' C3' C4' O6'	-0.4391	H2 H12 H13' C1 C3' O2 O1' O3' O6'	-0.4485
-2	H3' H13' C6 O6 O3'	-0.4233	H3' H12' C2' C5' C6' O2'	-0.4109	H1 H3' H5' H11' C4' C5' C6'	-0.3921
-3	H12' O7 O2'	-0.3221	H5' C1' O5' O7'	-0.4589	H4' O7'	-0.4733
-4		-0.2928	H1' H11' O1'	-0.3781		-0.3560
-5		-0.3526		-0.3009		-0.2261

中村：ガラクトツロン酸への金属イオンの結合位置の半経験的分子軌道計算による推定

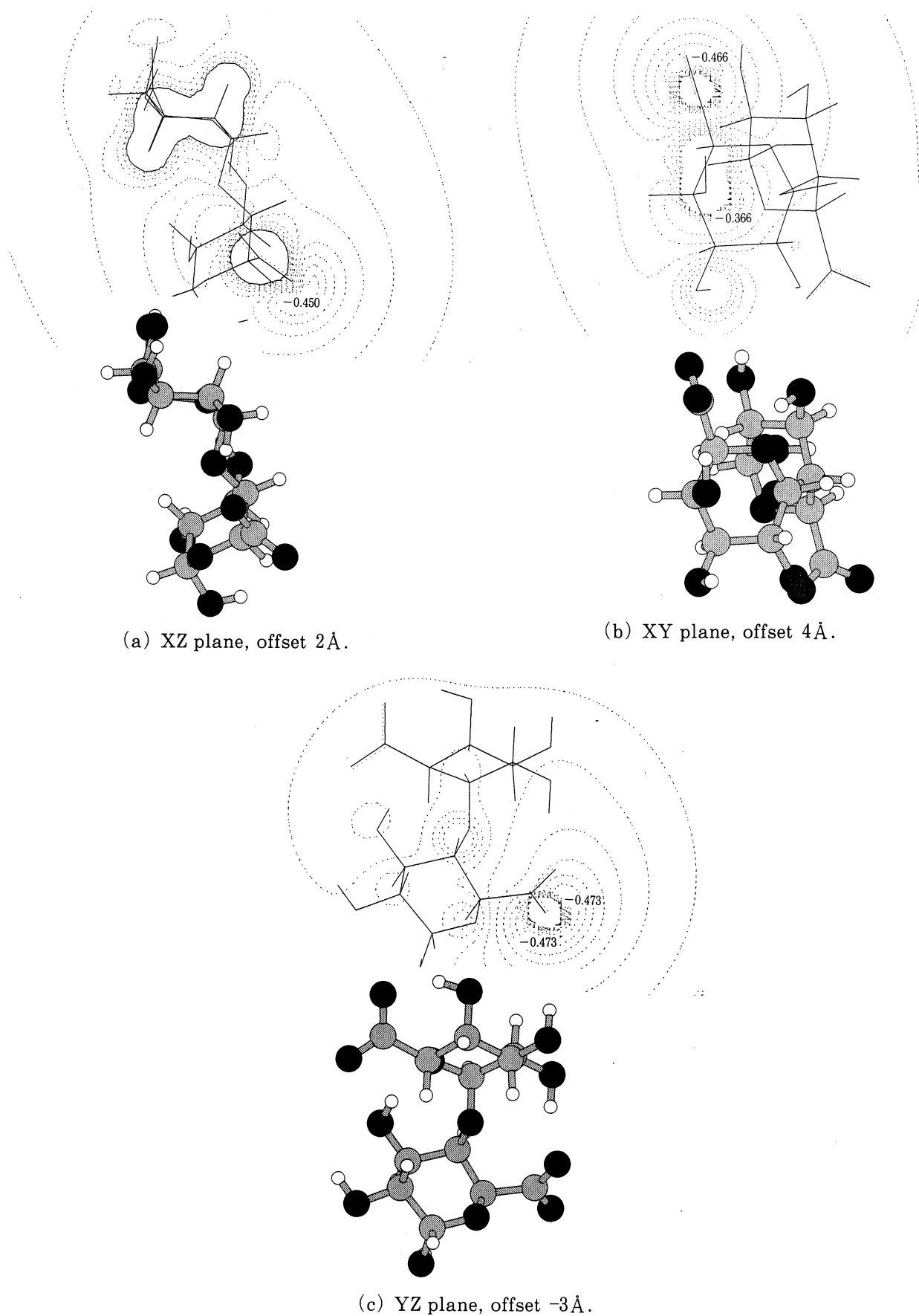


Fig. 5 Electrostatic potential around the atoms of conformer II

よって囲まれる空間にはカルボキシル基の酸素原子近傍の谷に匹敵する静電ポテンシャルの谷は存在しない。Smidsrød ら⁸⁾はアルギン酸における L-グルコン酸の¹C₄型構造の α -1,4結合は、金属イオンを受け入れるのに適当な空間を作ると報告しているが、この構造に比べるとG⁻(⁴C₁型)の1,4結合によって作られる空間は狭く、この領域に金属イオンが結合するのは立体構造上も無理がある。Kohn ら¹⁴⁾はペクチン質の分子モデルから、隣接するG⁻残基の解離カルボキシル基間の距離は、両カルボキシル基の酸素原子がカルシウムイオンに配位するには遠過ぎるとしている。PM3計算によって最適化された構造の静電ポテンシャルおよびカルボキシル炭素原子間の距離からも、隣接するG⁻上のカルボキシル基の酸素原子が同時に配位する形での金属イオンの結合の可能性は低いと言うことができる。

要 約

α -D-ガラクトuron酸イオンのモノマーおよびその1,4結合ダイマーの真空中での低エネルギー構造を、PM3ハミルトニアンを使った半経験的分子軌道計算から求め、その静電ポテンシャルから、金属イオンの結合位置を推定した。最適化された構造の静電ポテンシャルの一番深い谷はモノマー、ダイマーともカルボキシル基の近くにあったが、静電ポテンシャルの谷のようすと原子の空間配置から、モノマーではカルボキシル基の酸素、ピラノース環の酸素、4位の水酸基の酸素の各原子が金属イオンに配位する可能性が高いと考えられた。ダイマーでは2つのカルボキシル基の炭素原子間の距離が大きく静電ポテンシャルの谷が分離していることから、隣り合う残基のカルボキシル基の酸素原子が共に金属イオンに配位する形の結合は起こりにくいと考えられた。

文 献

- 1) R. Kohn, Pure Appl. Chem. **42**, 371 (1975)
- 2) S. Deiana, L. Erre, G. Micera, P. Piu and C. Gessa, Inorg. Chim. Acta, **46**, 249 (1980)
- 3) G. Micera, S. Deiana, C. Gessa and M. Petrera, Inorg. Chim. Acta, **56**, 109 (1981)
- 4) S. Deiana, G. Micera, G. Muggiolu, C. Gessa and A. Pusino, Coll. Surf. **6**, 17 (1983)
- 5) S. Deiana, C. Gessa, V. Solinas, P. Piu and R. Seeber, J. Inorg. Biochem. **35**, 107 (1989)
- 6) D. A. Rees, Chem. & Ind. (London), 630 (1972)
- 7) G. T. Grant, E. R. Morris, D. A. Rees, P. J. C. Smith and D. Thom, FEBS Letters, **32**, 195 (1973)
- 8) O. Smidsrød, A. Haug and S. G. Whittington, Acta Chem. Scand. **26**, 2563 (1972)
- 9) "HyperChem Release 3", Autodesk Inc., Sausalito, CA 94965
- 10) J. J. P. Stewart, J. Comp. Chem. **10**, 209, 221 (1989)
- 11) S. Lunell and Y. Nakamura, Int. J. Quantum Chem. **35**, 395 (1989)
- 12) N. L. Allinger, J. Am. Chem. Soc. **99**, 3279 (1977)
- 13) S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, C. Ghio, G. Alagona, Jr. S. Profeta and P. Weiner, J. Am. Chem. Soc. **106**, 765 (1984)
- 14) R. Kohn and I. Furda, Collect. Czech. chem. Commun. **33**, 2217 (1968)