

### タンパク質－糖鎖認識機構の分子モデリング

(産業技術総合研究所 計算科学研究部門) ○石田豊和

#### はじめに

近年の糖鎖生物学の進展の結果、生物機能の多様性において細胞表面での糖鎖認識過程が重要な役割を担う事が徐々に明らかにされているが、分子レベルで見た場合の糖基質認識機構の詳細な理解は殆ど得られていない。理由の一つとして糖鎖のとりうる複雑な配座の多様性や、高分解能の結晶構造に基づいたタンパク質－糖鎖複合体の情報の不足が挙げられる。計算機シミュレーションでタンパク質－糖鎖複合体の構造をモデル化する場合の難点としては、糖鎖ポテンシャル関数の信頼度の問題がよく話題となるが、これは既に標準的な分子力場が開発されて、近年数多くの大規模長時間シミュレーションが実行されているタンパク質、核酸系の理論計算の現状とは大きく異なる。

糖鎖を特異的に認識して結合する糖タンパク質を総称してレクチンと呼び、現在では多数のレクチンファミリーが知られているが、生物内の細胞間の分子認識、細胞接着、細胞内の物質の取り込みにはC型レクチンが重要な役割を果たす事が実験的に明らかとされている。特に白血球の血管内壁への接着過程ではセレクチンが重要な役割を果たす事が知られていて、この生理学的現象の分子論的メカニズムの解明は、リポソームと糖鎖からなる能動的標的指向性DDSの開発には不可欠の課題となっている。近年ヒトのE、Pセレクチンに対して糖鎖を結合した結晶構造が得られた結果、現実的なタンパク質環境をモデル化し、理論計算をツールとして糖鎖認識機構の理論解析が現実的な課題となりつつある。そこで本研究グループでは、(1) 古典分子動力学計算による水中でのレクチン－糖鎖の動的な構造解析、(2) QM/MM計算を用いた複合体の高精度な構造精密化、更に(3) 全系量子計算による分子間相互作用の精密な解析という一連の系統的な分子モデリングを通して、糖タンパク質セレクチン－糖鎖間の相互作用の本質を明らかにする研究を行った。

#### 計算手法

計算に必要なプログラムはこれまで独自に開発を行なって来たコードを利用した。ab initio QM/MM電子状態計算についてはタンパク質力場としてAMBER(parm. 96)を採用し、全系量子計算にはフラグメント分子軌道法ベースで実行して、フラグメント法の実装されたGAMESS量子化学計算プログラムを併用している。対象として選択した系は、(1) 糖タンパク質に関してはヒトのE、Pセレクチンの2点、(2) 糖鎖としてはシ

アリルルイス X (SLe<sup>X</sup>)に限った。この系に関しては複合体の結晶構造が既に得られているため、実験構造をもとに標準的な手続で初期モデルを構築して溶媒和させたモデルを作成し、タンパク質、SLe<sup>X</sup>、水を含んだおよそ 2 万原子系に対して構造の精密化を実行した。糖鎖ポテンシャルの信頼度の問題を考慮して、構造の精密化は QM/MM レベルで実行し、相互作用エネルギー成分の解析を行なった。さらに詳細な理解を得る目的で、全系量子計算による予備的な計算も実行した。

## 結果

現時点での実質的な研究成果は、E セレクチンと SLe<sup>X</sup> 複合体のモデル化と、予備的な計算の実行にとどまった。E セレクチン複合体に関しては実験構造の分解能もそこそよいことから、水を含んだクラスターでの構造精密化で得られた計算構造とも大きな構造変化はなく、E セレクチン- SLe<sup>X</sup> 間の分子間相互作用に関しても現実系を反映していると考えられる解析が実行できた。SLe<sup>X</sup> は C-タイププレクチンドメイン領域の表面に弱く結合しているだけであるが、糖鎖の認識に関与しているアミノ酸残基も、結合領域に存在する Glu、Arg 等のごく限られた残基である事が確かめられた。また相互作用エネルギーの解析結果は、QM/MM レベルでも全系量子計算レベルでも本質的に殆ど変化がないので、これは糖鎖の認識としては基本的に静電相互作用が本質である事を示唆している。

糖タンパク質の糖鎖認識機構において問題となるのは、(1) 糖鎖の Bioactive conformation と (2) 糖鎖のタンパク質に対する Binding epitopes である。これら 2 点に関して意味ある情報を得る為に、更に進んで自由エネルギー空間上での糖鎖の構造をマップする事を試みた。この場合の自由エネルギー面は、(1) 糖鎖の溶媒和自由エネルギーと (2) 糖鎖の配座の内部エネルギーの 2 つの情報を反応座標に選択した 2 次元エネルギー面で、この縮訳された情報をもとに糖鎖の Bioactive conformation を抽出する事を試みた。これら解析結果は当日発表する予定である。

## 謝辞

本研究は戦略的創造研究推進事業 (CREST) 採択課題、「DDS シミュレータの研究開発」の支援のもとに行なわれた。三上益弘博士 (研究代表者)、北浦和夫博士、内丸忠文博士 (グループリーダー) らとの議論に感謝します。