

先天免疫タンパク質 **Ficolin** とリガンドの相互作用に関する理論的検討(東海大・情報教育セ¹、JST-CREST²)○朱 振霞^{1,2}、日向寺祥子^{1,2}

【序】先天免疫タンパク質Ficolinは、細菌などの表面糖鎖を認識することで補体系を活性化する生体防御システムの重要な分子である。補体活性の第三の経路であるレクチン経路とは、Mannose-binding lectin (MBL) による活性化のことを指すが、Ficolinによる補体の活性化もレクチン経路と見なされており、注目すべきパターン認識分子のひとつである。さらに、Ficolinの立体構造に関する報告は多く[1]、その糖鎖結合特異性に対する分子レベルでの解析の可能性も広がっている。

一方で、フラグメント分子軌道法 (FMO法) は、タンパク質などの大規模な分子の高精度量子化学計算を可能とする手法である[2,3]。本研究では、免疫分子Ficolinと糖との相互作用について、FMO法を用いて解析を行い、Ficolinの糖に対するパターン認識機構を電子レベルで議論する。

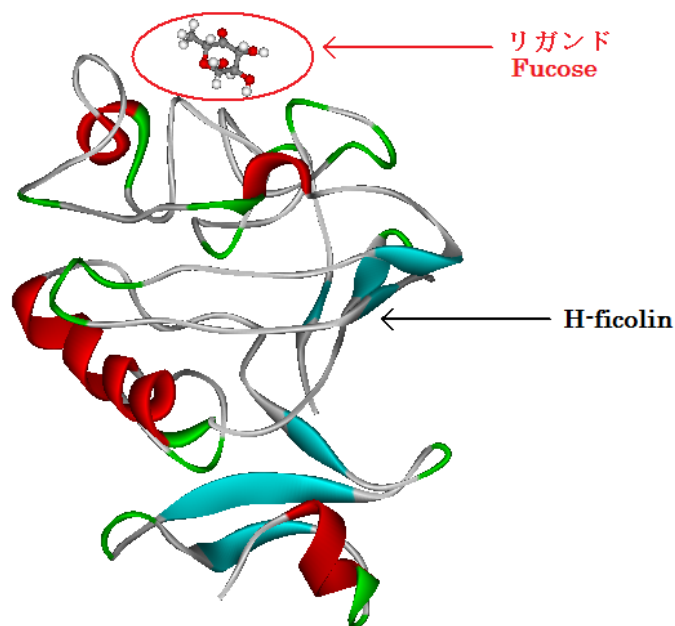


図1 H-ficolin モノマーとリガンド (ここでは Fucose)

【解析手法】 Human H-ficolin は、リガンド非結合時のトリマー構造、Fucose 結合時、Galactose 結合時の立体構造データが Protein Data Bank に登録されている (PDB ID: 2j64、2j60、2j5z)。それら PDB データをもとに、①リガンド非結合時、②リガンド (Fucose、Galactose) 結合時、③Fucose および Galactose のモノマー構造を構築した。

構造構築の段階では、PDB で欠損している原子 (Missing Atoms) や水素原子の付加を行い、付加した原子の座標については CHARMm 力場を用いた構造最適化計算を行い決定した。欠損原子の付加は Swiss-PDB でを行い、それ以外の前処理はソフトウェアパッケージ Discovery Studio

で行った。

H-ficolin とリガンドとの相互作用を観察するため、構築した各構造に対して量子化学計算を行った。ここでは、1フラグメントにつき1アミノ酸残基（S-S 結合を含むシステインは2残基で1フラグメント）を割り当てた FMO 計算を、HF/6-31G レベルで行った。用いたソフトウェアは ABINIT-MP である。リガンド-H-ficolin 間の結合エネルギーは以下の式（1）に従って求めた。

$$\Delta E = E_{\text{comp}} - (E_{\text{ficolin}} + E_{\text{ligand}}) \quad (1)$$

ここで、 E_{comp} 、 E_{ficolin} 、 E_{ligand} は、それぞれ糖-ficolin 複合体、リガンド非結合時の H-ficolin、リガンドの全エネルギーを表す。

FMO 法の特徴のひとつとして、フラグメント間相互作用エネルギー（IFIE）が算出できることが挙げられるが、結合エネルギーに加えて IFIE の解析により、H-ficolin の糖結合性に重要な役割を果たすアミノ酸残基の特定を試みた。

【結果と考察】式(1)に基づき算出した、Fucose-H-ficolin 間の結合エネルギーは-2.07kcal/mol であった。また、図2に Fucose との相互作用が-1.0 kcal/mol 以下であったアミノ酸残基の IFIE 値をまとめる。この結果から、Fucose との結合においては、Cys222 (-4.5 kcal/mol)、Cys235 (-4.5 kcal/mol)、Lys253 (-5.4 kcal/mol)、Tyr254 (-3.3 kcal/mol) が重要な役割を果たしているものと考えられる。さらに、リガンドが Galactose の場合にも同様の解析も行った。それらの結果について当日発表する。

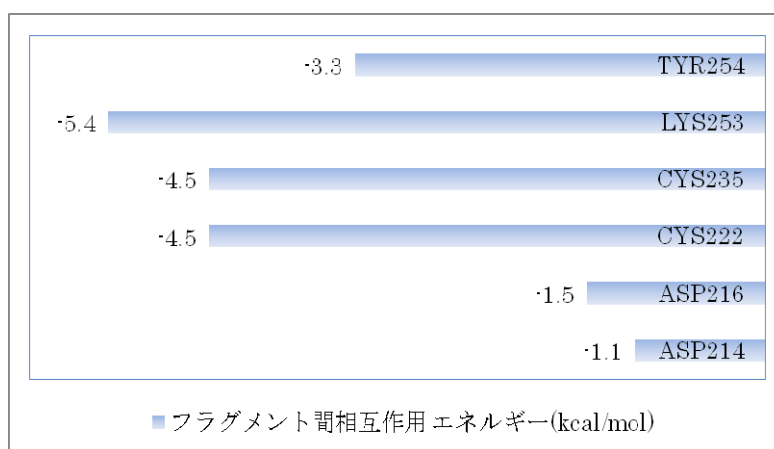


図2 Fucose と H-ficolin のアミノ酸残基間の相互作用エネルギー（IFIE 値<-1.0 kcal/mol のアミノ酸のみ）

【参考文献】

- [1] V. Garlatti, *et al.*, *EMBO J.*, **2**, 623-633(2007).
- [2] K. Kitaura, *et al.*, *Chem. Phys. Lett.* **312**, 319-324 (1999).
- [3] D.G. Fedorov, *et al.*, in "Modern Methods for Theoretical Physical Chemistry of Biopolymers", edited by E.B. Starikov, *et al.* (Elsevier B.V., Amsterdam, The Netherlands, 2006) p. 3.; T. Nakano, *et al.*, in "Modern Methods for Theoretical Physical Chemistry of Biopolymers", edited by E.B.