

補体たんぱく質 C3 が抗原を捕捉する際の結合機構に関する理論研究

(神奈川大・理) 笹本千怜, 志村 亮, 松原世明

Theoretical study on the process of bonding of the complement protein C3 with the antigen

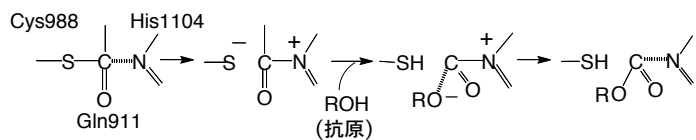
(Kanagawa Univ.) Chisato Sasamoto, Ryo Shimura, Toshiaki Matsubara

【緒言】 補体は生体内の免疫システムで重要な役割を果たすタンパク質であり、20 種ほど存在する。免疫システムには、自然免疫と獲得免疫があり、抗原が体内に侵入すると、前者に属するマクロファージや後者に属するキラーT 細胞などが抗原を攻撃し、外敵から体を守っている。特に、マクロファージは、抗原を捕食し消化してしまう。その際、マクロファージは、抗原と結合した補体を認識することで食作用を促進する。食作用を促進させる補体のこの作用をオプソニン化という。オプソニン化は、補体の重要な役割の一つである。本研究は、このオプソニン化に関与する補体 C3 に着目し、C3 が何故抗原をうまく捕捉できるのか明らかにすることを目的とし、量子化学計算により解析を行った。

【計算方法】 補体は全て、活性化の過程を経て機能を発現する。オプソニン化に関与する補体 C3 も、活性化され C3b となり機能を発現する¹⁾。その際、活性サイトを含む TED と呼ばれるドメインが移動するとともに結合部位が出現する。TED ドメインの活性サイトでは、Cys988 と Gln991 が接近し反応サイトとなるチオエステル-S-CO-を形成する(図 1)。従来の反応機構では、そこに、遠くにいた His1104 がやって来て、His1104 のイミダゾール基と Gln991 のアシル基との間で相互作用する。その後、S-C 結合が開裂し、抗原の OH 基を認識して抗原を捕捉すると考えられている²⁾。そこで、本研究では、この反応機構に含まれる中間体と遷移状態の構造最適化を行ない、反応のエネルギープロフィールを求めた。モデル分子として、活性サイトについては Cys-Gln-His、抗原については、実験でもモデル分子として採用されているアルコール(メタノール)を用いた。構造最適化は、密度汎関数法(B3LYP)により、6-311++G(d,p)基底系を用いて行った。平衡構造および遷移状態は、振動数を計算し確認した。反応座標は、IRC 計算により確認した。さらに aug-cc-pVTZ 基底系を用い、エネルギーを計算した。熱力学的パラメータの計算は、振動数を用い、298.15 K で行った。全ての計算は、GAUSSIAN03 プログラムを用いて行った。

【結果と考察】 従来の反応機構に含まれる遷移状態および平衡構造の構造最適化を行った結果、この反応機構は、4 中心の遷移状態(図 2)を経由する 1 段階の反応であることが分かった。アミノ酸の His は、Gln のカルボニル炭素と弱く相互作用しているものの、反応にはあまり関与しないことが分かった。したがって、C-S 結合は His の

(a) 従来の反応機構



(b) 新規反応機構

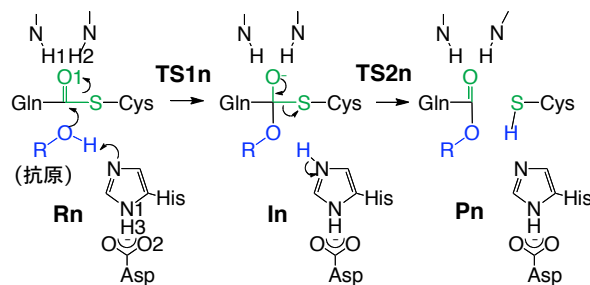


図 1. 補体 C3b が活性サイトで抗原を捕捉する際の従来の反応機構と新規反応機構

影響をほとんど受けることなく、C-S 炭素はメタノールの O-H 酸素の求核攻撃を受ける。遷移状態では、O-H 酸素と C-S 炭素の距離は既に短くなっており、結合がほぼ生成していることが分かる。遷移状態の後、O-H 水素はプロトンとして硫黄に引き取られ、反応は完了する。この反応は、わずかな発熱反応であり、活性化エネルギーは、36.6 kcal/mol と非常に大きいことが分かった (図 2)。また、His の影響によってエネルギー障壁はわずか 1 kcal/mol しか低下していないことが分かった。

このような大きなエネルギー障壁を越えて反応が進行しているとは考えにくい。そこで我々は、図 1(b) に示す従来の反応機構とは異なる新たな反応機構を考えた。これは、セリンプロテアーゼによるたんぱく質分解反応の反応機構と同様の反応機構である。この場合、His は反応を仲介する役割を果たす。His がメタノールの O-H 水素をプロトンとして引き取ると同時に O-H 酸素が C=O 炭素に付加し、中間体 In を生成する。この際、O-H 酸素の負の電荷は C=O 酸素に移動する。その後、C-S 結合が開裂するとともに、His は引き取ったプロトンを硫黄に引き渡す。この反応機構の反応物 Rn、中間体 In、生成物 Pn および最初の過程 Rn→In の遷移状態 TS1n、その後の過程 In→Pn の遷移状態 TS2n を構造最適化しエネルギープロファイルを求めた。図 2 に示すように、2つのエネルギー障壁はともに小さくエネルギープロファイルは滑らかである。その理由の一つは、中間体 In がエネルギー的に大きく安定化されるためである。In の C=O 酸素の負の電荷は、周囲のアミノ酸 (今回は水分子をモデル分子として使用) の正の部分電荷との相互作用によって安定化される。実際、図 3 に示すように、In は正の部分電荷を持つ 2つの H (今回は水分子) と水素結合を形成する。また、基質と His との間のプロトンの受け渡しでは、Asp が重要な役割を果たしている (図 3 では Asp の周囲のアミノ酸の効果は考慮していない)。これらのアミノ酸の効果は、これまでセリンプロテアーゼの反応機構で示唆されてきたことであり、我々は他の類似の酵素反応においても量子化学計算によって確認してきた³⁾。また、メタノールの O-H 酸素の求核性は、His との相互作用によって高くなっていることも分かった。このように、補体 C3b の抗原との結合反応は、従来の機構ではなく、我々が提案する新たな機構で進行すると考えられる。当日は、エステル結合がチオエステル結合であることの重要性、つまり S 原子をもつ Cys の寄与の重要性、さらにその他の周囲のアミノ酸の効果なども議論する予定である。

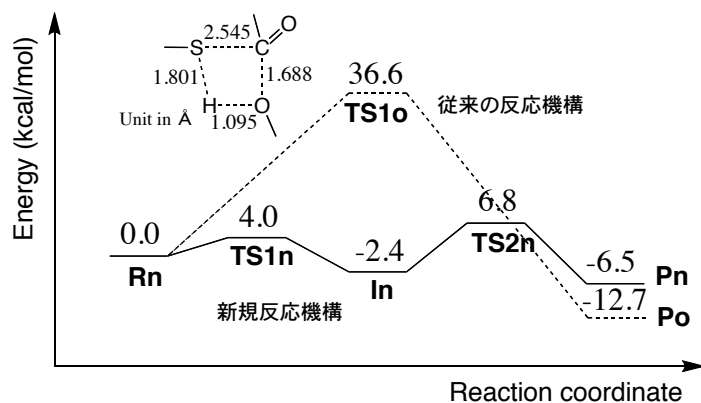


図 2. 補体 C3b が活性サイトで抗原を捕捉する際の従来の反応機構と新規反応機構のエネルギープロファイルおよび前者の遷移状態構造

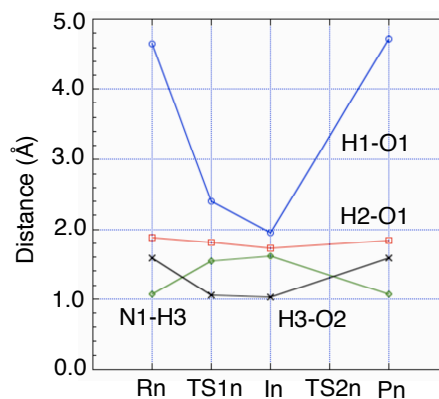


図 3. 新規反応機構の反応座標に対する構造パラメータの変化

【参考文献】

- 1) A. A. Ajces, K. Gunasekaran, J. E. Volanakis, S. V. L. Narayana, G. J. Kotwal, and H. M. K. Murthy, *Nature*, **444**, 221-225 (2006).
- 2) S. K. A. Law and A. W. Dodds, *Protein Science*, **6**, 263-274 (1997).
- 3) Y. Sakae, T. Matsubara, M. Aida, H. Kondo, K. Masaki, and H. Iefuji, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **82**, 338-346 (2009).