

分子動力学計算による芳香族炭化水素受容体と その共役因子の複合体の安定構造の探索

(豊橋技術科学大学大学院¹、理化学研究所計算科学機構²、東芝研究開発センター³)

○宮城慧¹、佐篠和哉¹、村田享士郎¹、伊藤聡²、石原-菅野美津子³、栗田典之^{1,*}

Molecular dynamics simulations for searching stable structure of AhR complex with co-factor protein

(Toyohashi University of Technology¹, AICS RIKEN², R&D Center Toshiba Corporation³)

○Satoshi Miyagi¹, Kazuya Sashino¹, Kyoshiro Murata¹, Satoshi Itoh², Mitsuko Ishihara-Sugano³ and
Noriyuki Kurita^{1,*}

【はじめに】

これまでに、芳香族炭化水素受容体 (AhR: Aryl hydrocarbon receptor)は、外来異物が生体内に取り込まれた際に、それを特異的に結合し、高い親和性で認識し、その情報を核に伝え、代謝酵素の発現を誘導するタンパク質であることが明らかになっていった。さらに、近年の細胞実験[1-2]により、AhR が細胞分化にも重要な役割を担っていることが明らかになった。例えば、ナイーブ T 細胞が Th17 細胞と制御性 T 細胞へ分化をする際、AhR による転写調節が関わっていることが報告された[1]。その結果、自己免疫疾患やアレルギーといった細胞内外の環境によって調節される免疫系の制御機構に AhR が関与することが初めて示された。ナイーブ T 細胞の分化の方向性は、2 種類の AhR リガンドによって変化する[2]。その 1 つは外来性リガンド TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)であり、もう一方は内在性リガンド FICZ (6-formylindolo [3,2-b]carbazole) である。現状では、AhR に結合するリガンドの違いにより、AhR がどのように T 細胞の分化を分岐させるかは、原子レベルでは明らかになっていない。また、AhR とリガンド間の相互作用解析の際に必須である AhR の立体構造は未解明である。

我々は、これまでに、マウス AhR の LBD (Ligand binding domain)の構造、及び LBD に TCDD が結合した複合体の水中での安定構造を、分子モデリング手法と古典分子力学法を用いて求めた[3]。また、分子モデリングで用いる鋳型構造を代え、AhR と様々なダイオキシン類を結合させた複合体の構造を水中で最適化し、実際の細胞実験と比較した結果も発表されている[4]。しかし、AhR による異物認識機構においては、AhR は異物を結合した後、DNA の対象領域に結合するために共役因子と二量体を形成し、その二量体が DNA に特異的に結合すると考えられている。本研究では、この機構の詳細を解明する目的で、AhR と共役因子である ARNT (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator)の二量体を分子モデリングによって作成し、リガンドの有無による二量体間の結合特性の変化を高精度分子シミュレーションにより解析した。

【計算手法】

本研究では、リガンドとして外来性の TCDD と内在性の FICZ を採用し、ヒューマン AhR と ARNT を含めた複合体の安定構造を探索し、AhR へのリガンド結合が、AhR と ARNT の二量体形成にどのような影響を与えるかを解析した。AhR の LBD の立体構造は、タンパク質の構造予測プログラム MODELLER を使い、ARNT に関しては、これまでに AhR の鋳型として用いていた構造の ARNT の部分構造をそのまま使用し、二量体の立体構造を作成した。更に、タンパク質リガンドドッキングプログラム Autodock を使い、二量体の様々な位置にリガンドをドッキングし、複合

体の候補構造を多数作成し、古典分子力学計算プログラム AMBER9、及び Fragment molecular orbital (FMO)[5]法を用い、最安定な複合体の構造を決定した。その後、リガンド有無及び種類の変化により、二量体間の結合特性がどのように変化するかを明らかにするため、古典分子動力学 (MD)計算を用い、複合体の構造変化をより広い領域で探索した。最後に、FMO 計算を用い、二量体形成に重要なアミノ酸の解明、リガンド有無による二量体間の結合特性の変化を解析した。

【結果と考察】

Autodock を用いて求めた AhR-ARNT 二量体と TCDD の複合体、及び FICZ の複合体には、共に 4 個の代表構造があり、それぞれリガンドの結合位置が異なる。それらの構造を水中で最適化し、FMO 計算によってエネルギーを計算し、Figures 1a, 1b に示す最安定構造を得た。従来のドッキングシミュレーション[4]により、AhR と TCDD の複合体においては、AhR の 7 つのアミノ酸が TCDD に相互作用することが明らかになっている。今回作成した Figure 1a の構造においても、同じ 7 つのアミノ酸が TCDD 周囲に存在し、作成した複合体構造の妥当性を確認できた。

これらの構造を初期構造にして、300K の水中で、MD 計算を 1nsec 行った結果を、Figures 2a, 2b に示す。Figure 1 と比べると、リガンド結合部位近傍の α ヘリックス構造が崩れている。また、二量体の AhR 及び ARNT の重心間距離は Figure 2a で 7.18 Å、Figure 2b で 4.88 Å であり、リガンドを含まない二量体 (Figure 2c) では重心間距離は 13.75 Å であるので、リガンドの有無と種類により、AhR と ARNT 間の相互作用が変化することが明らかになった。これらの構造に対し、FMO 計算により、AhR と ARNT 間の特異的相互作用を解析した結果は、当日のポスターで発表する。

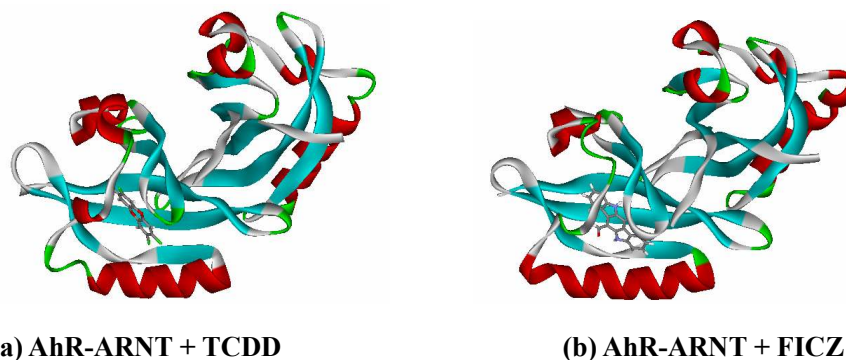


Figure 1 MM-optimized structures of the complexes with AhR-ARNT dimer and TCDD/FICZ

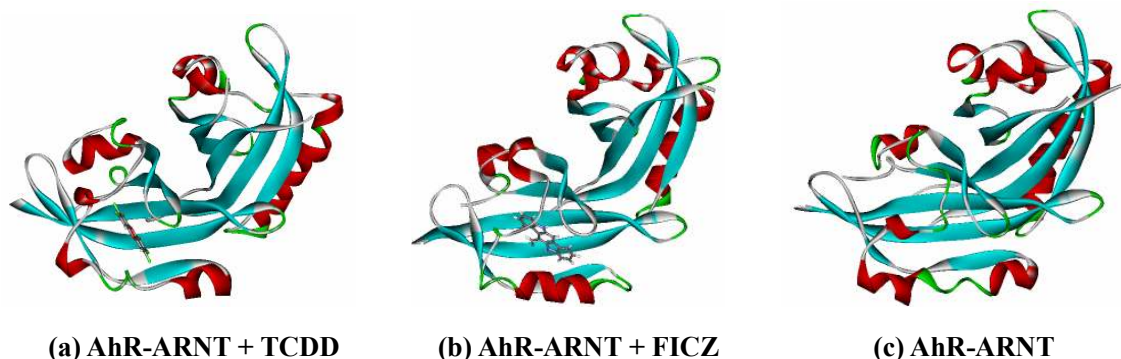


Figure 2 MD-simulated structures of the complexes with AhR-ARNT dimer and TCDD/FICZ

[1] F. J. Quintana, *et al.*, *Nature*, 2008, 453, 65. [2] M. Veldhoen, *et al.*, *Nature*, 2008, 453, 106.

[3] S. Miyagi, *et al.*, *Int. J. Quantum Chem.*, 2012, 112, 289.

[4] I. Motto, *et al.*, *J.Chem.Inf.Model*, 2011, 51, 2868. [5] K. Kitaura, *et al.*, *Chem.Phys.Lett.*, 2001,336,163.