

2P087 芳香族炭化水素受容体と外来性及び内在性リガンド間の特異的相互作用： 分子シミュレーション及び生化学実験の比較

(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、村田享士郎¹、佐篠和哉¹、澤村聡視¹、伊藤聡²、石原-菅野美津子³、栗田典之^{1,*}

Ab initio molecular simulations and biochemical assay on specific interactions between aryl hydrocarbon receptor and exogenous/endogenous ligands

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

○Satoshi Miyagi¹, Kyoshiro Murata¹, Kazuya Sashino¹, Satoshi Sawamura¹, Satoshi Itoh²,
Mitsuko Ishihara-Sugano³ and Noriyuki Kurita^{1,*}

【はじめに】

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、それらを特異的に結合し、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。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、AhR が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も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、原子レベルでは未解明である。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 の立体構造も未解明である。

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、分子モデリングと古典分子力学(MM)法を用いて求めた[3]。また、Motto ら[4]は、分子モデリングを用い、ラット AhR の LBD に様々なダイオキシン類を結合した複合体の構造を水中で最適化し、細胞実験の結果を説明できる構造を得ている。しかし、外来性及び内在性リガンドと AhR 間の特異的相互作用の違いは、原子・電子レベルでは明らかになっていない。本研究では、AhR と外来性リガンド(TCDD、 β -NF)、及び AhR と内在性リガンド(FICZ、ITE)の複合体の水中での安定構造を、分子モデリングと MM 法によって作成し、リガンドの違いによる特異的相互作用の変化をフラグメント分子軌道(FMO)計算により解析した。更に、その結果を細胞実験の結果と比較し、リガンドの違いによる特異的相互作用の変化を解析した。

【計算手法】

本研究では、リガンドとして外来性の TCDD、 β -NF と内在性の FICZ、ITE を採用し、ラット AhR の LBD とリガンドの複合体の水中での安定構造を決定し、AhR とリガンド間の特異的結合が、外来性、内在性でどのように異なるかを解析した。まず、AhR の LBD の立体構造を、タンパク質構造予測プログラム MODELLER、及び鋳型構造を用い作成した。次に、タンパク質リガンドドッキングプログラム Autodock を用い、AhR 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、幾つかの代表構造を、MM 計算プログラム AMBER9 を用い、水中で最適化した。最後に、各最適化構造のエネルギーを FMO 法[5]の MP2/6-31G 計算により求め、最安

定な複合体の構造を決定した。更に、FMO 計算の結果から、AhR の各アミノ酸残基とリガンド間の相互作用エネルギーを解析し、AhR とリガンド間の結合に重要なアミノ酸を特定し、リガンド種類による特異的結合特性の変化を解析し、細胞実験の結果と比較した。

また、AhR とリガンド間の相互作用には、van der Waals 相互作用が重要であると考えられるため、従来の MM 法による構造最適化では不十分な可能性がある。そこで、FMO 法の MP2/6-31G 計算を用いた部分構造最適化により、複合体のリガンド、及びその周囲のアミノ酸残基の構造を、電子相関を考慮し高精度に最適化した。

【結果と考察】

AMBER9 を用いて水中で最適化した複合体の最安定構造を Figure 1 に示す。4 種類のリガンドは全て同じ向きで AhR に結合するが、リガンドの大きさが異なるため、 β -NF は AhR 上部の α -helix に偏り、ITE と FICZ はポケットの上下に渡って広く結合する。これらの複合体に対する AhR の各アミノ酸とリガンド間の相互作用エネルギー(IE)を Table 1 に示す。内在性リガンドである FICZ と ITE は、外来性リガンドに比べて、AhR に強く相互作用する。また、全てのリガンドが AhR の Gln381 と強く引力相互作用し、更に、フェニルアラニンやチロシンなど、芳香環を持つアミノ酸と相互作用していることがわかる。計算結果の詳細、及び細胞実験との比較は、当日のポスターにて発表する。

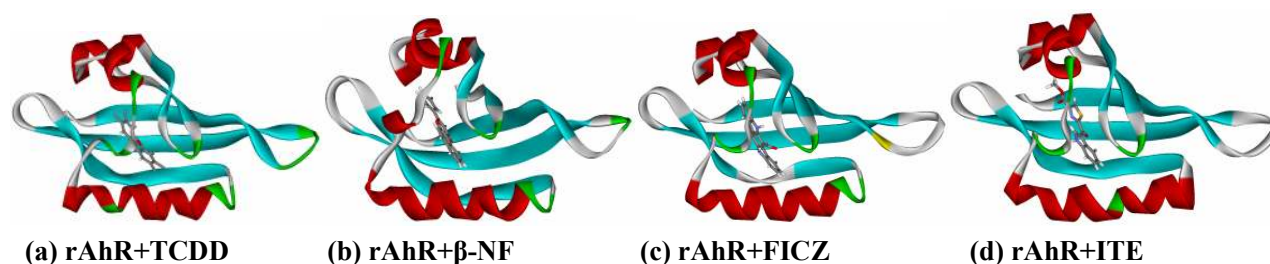


Figure 1 Structures of the rAhR+ligand complexes optimized in water by AMBER9-MM

Table 1 Interaction energies (I.E.) (kcal/mol) between ligand and each amino acid residue of rAhR

TCDD		β -NF		FICZ		ITE	
Residues	I.E.	Residues	I.E.	Residues	I.E.	Residues	I.E.
Gln 381	-5.9	Ala 332	-6.6	Gln 381	-23.2	Tyr 320	-20.1
Tyr 320	-4.2	Gln 381	-6.2	Phe 293	-7.2	Gln 381	-8.9
Phe 293	-3.5	Phe 322	-5.6	Hid 289	-4.0	Phe 293	-5.4
Phe 349	-2.9	Gly 319	-4.5	Cys 331	-3.7	Ala 332	-4.7
Cys 331	-2.6	Hip 324	-3.9	Thr 294	-3.2	Phe 285	-4.3
Met 346	-2.5	Phe 293	-3.4	Ala 332	-3.1	Phe 349	-3.1
Gly 319	-2.2	Hid 289	-3.3	The 287	-2.3	Ser 363	-2.8
Hip 335	-2.0	Met 346	-3.1	Leu 351	-2.2	Cys 331	-2.6
Hid 289	-1.9	Ile 323	-2.9	Phe 322	-2.1	Hip 324	-2.4
Leu 351	-1.1	Thr 287	-2.8	Phe 349	-2.0	Hip 330	-2.1

[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.