

3P107 分子動力学法による抗原抗体複合体の結合自由エネルギー計算と構造解析

(金沢大院・自然) 高松 佑一郎, 杉山 歩, 長尾 秀実, 西川 清

【序】

抗体はその機能・構造がよく解明されている生体内高分子であり、原則として非自己となる異物を特異的に認識し、適応免疫応答の一役を担っている。抗体の抗原認識機構として重要なのは抗体 Fab フラグメント上に存在する超可変部位 (HV, LV: おおよそ 28-35, 49-59, 92-103 番目のアミノ酸残基) が作り出す Complementarity determining regions (CDRs) のループ構造である。その抗原認識には水素結合、疎水結合、ファンデルワールス力、静電気力といった可逆性の非共有結合力が大きく関与しており、超可変部位のアミノ酸配列が多様な抗原に対応している。また、指定部位突然変異誘発法を用いた遺伝子工学的手法によって、意図的なアミノ酸配列を超可変部位に組み込んだ抗体分子を作成することもできる。このような抗体工学とシミュレーションを用いた抗体分子認識機構の解明や結合予測計算が結びつく事で、親和性の高い抗体医薬を効率的にデザインできる可能性も予想される。

本研究では抗原抗体結合力の計算を目標とし、構造がよく解明されている抗原抗体複合体としてインフルエンザウィルスの赤血球凝集素 (HA)、アミノ酸変異を導入した HA と中和抗体 Fab フラグメント複合体の原子座標を用い、分子動力学法を用いて水溶液中の状態を再現した。Wild-Type HA と変異導入 HA の結晶構造の差を見た実験[1]によれば、これらの HA・抗体結合において、T131I の単一アミノ酸変異で構造的な歪みと水素結合の損失が生じると考えられ、エネルギー的に不利な変化によって抗体との親和性は約 1/4000 になる。それら静的な実験結果を動的に検証する事を念頭に、親和性低下の理由となる構造変化解析と結合自由エネルギー計算を行った。構造については CDRs と Wild-Type HA、変異導入 HA の経時変化に着目し、揺らぎの差を求めた。この差により結合強度の違いを検討する事ができる[2]。具体的には複合体結合部位[Fig.1]における HA127-132、155-161 番アミノ酸配列のループ構造と Fab フラグメント CDRs (HV, LV) のループ構造の揺らぎ B-factor を計算、比較した。結合自由エネルギーについては MD による平衡化後、安定状態と思われるトラジェクトリを使用して計算、結果を実験で得られている解離定数と比較、考察した。

【計算】

計算に用いた原子座標は Brookhaven Protein Data Bank の”2VIR(Wild-Type)”と”2VIS(T131I)”を用い、MD 計算には Amber8[3]を使用した。条件を以下に示す[Table.1]。まず複合体周囲 8.0

に水分子を配置し[Fig.2]、系全体を中性とする為カウンターイオン Na^+ (2 VIR)、 Cl^- (2VIS) を配置した。続けて、系を水和させるため 30kcal の拘束をつけながら最急降下法 2000steps 共役勾配法 18000steps でエネルギー最小化を行い、拘束を徐々に解いていった。その後 Heating MD を行い 100K から 300K まで 5K ずつ 200ps かけて系を暖め、平衡化 MD(300K)に移行した。

Force Field parameter : Parm99

NPT ensemble

Periodic boundary condition

Cut off : 10.0 Angstrom

Shake Off

Time step: 1fs

Solvate Water Box : TIP3P

Table.1:MD 条件

【解析】

上記計算で得られたトラジェクトリより、CDRs 部位における揺らぎ B-factor は次の式によって求められる。

$$B(t) = \frac{8}{3N} \pi^2 \sum_i^N \left\langle \left| R_i(t) - R_i(0) \right|^2 \right\rangle$$

B-factor は ptraj によって算出した。

また、結合自由エネルギーは次の式によって求められる[4]。

$$\Delta G_{bind} = \langle E_{mm} \rangle + \Delta G_{solv} - T\Delta S$$

$\langle E_{mm} \rangle$: Total molecular-mechanical energy. ΔG_{solv} : Total solvation energy.

$-T\Delta S$: Solute entropic contribution.

各項目は MM_PBSA によって算出した。 詳細な計算結果は当日報告する。

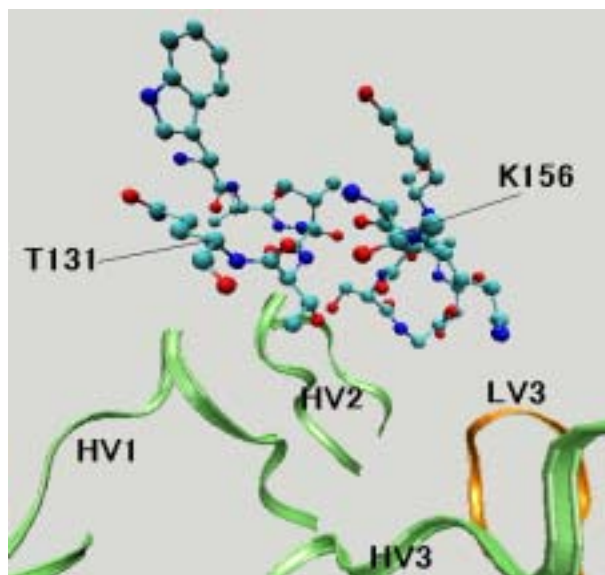


Fig.1: Wild-Type HA と Fab フラグメント CDRs の結合部位

【参考文献】

[1] Damien Fleury. *Nature Structural Biology*. 5, 119(1998).

[2] 木下智己、畑 晶之、根矢三郎、星野忠次、大日方 千紘. 第 26 回情報化学討論会講演要旨集. 69-72(2003).

[3] D.A. Pearlman, D.A. Case, J.W. Caldwell, W.S. Ross, T.E. Cheatham, III, S. DeBolt, D.Ferguson, G. Seibel, and P. Kollman. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Comp. Phys. Commun.* 91, 1(1995).

[4] Chong, L.T. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 96, 14330(1999).

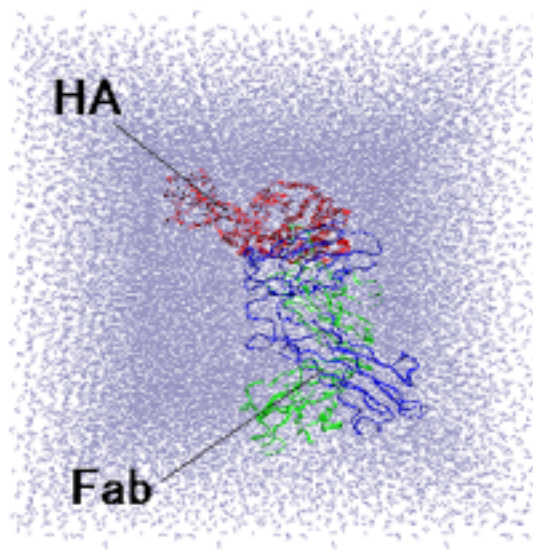


Fig.2: Wild-Type HA と Fab フラグメント複合体の水和状態