

分子動力学シミュレーションによる巨大生体分子の 構造機能相関の解明

Elucidation of the structure–function relationship of biomacromolecules
by the molecular dynamics simulation

近藤 寛子
北見工業大学

1. 研究目的

抗体は異物（抗原）に特異的に結合する機能を持ち、体内に侵入した細菌やウイルスの除去に関わる。PG16 はヒト免疫不全ウイルス（HIV）を中和する抗体の 1 つである。抗体の抗原結合部位は 6 つの相補性決定領域（CDR）からなり、その一つである CDR-H3 は配列、構造ともに最も多様性が大きい領域であるが、結晶構造から PG16 は 28 残基の長い CDR-H3 を持ち、抗原結合により大きな構造変化が起こらないことがわかった。PG16 は CDR のアミノ酸変異に耐性を持つものの、CDR-H3 の Trp^{H100A}, Asp^{H100I}, Tyr^{H100Q} の変異では中和能が大きく低下することも明らかになっている。Trp^{H100A} と Asp^{H100I} は抗原結合部位付近に位置しているが、Tyr^{H100Q} は抗原からは離れたところに位置しており（図 1 参照）、この残基の物理的役割は不明である。そこで本プロジェクトでは、PG16 の野生型（WT）および Tyr^{H100Q} の Ala 変異体（Y100qA）および Phe 変異体（Y100qF）について分子動力学シミュレーションを行い、これらのアミノ酸変異が PG16 の動態に与える影響を解析した。

2. 結果

WT, 変異体 (Y100qA, Y100qF) とともに野生型の結晶構造 (PDB ID: 4DQO) から図 1 に示す V_H, V_L ドメインのみを切り出して水和させたものを初期構造とし、初速度を変えて、温度圧力一定 (300 K, 1 bar) 条件の 300 ns のシミュレーションを各系 3 本ずつ、計 9 本行った。まず、各シミュレーションにおけるタンパク質の安定性をみるために non-CDR-H3 V_H ドメインでフィッティングを行った場合の non-CDR-H3 V_H ドメインおよび CDR-H3 の RMSD を解析した。その結果、non-CDR-H3 V_H ドメインはすべてのシミュレーションで 1 Å 前後と安定していたのに対し、CDR-H3

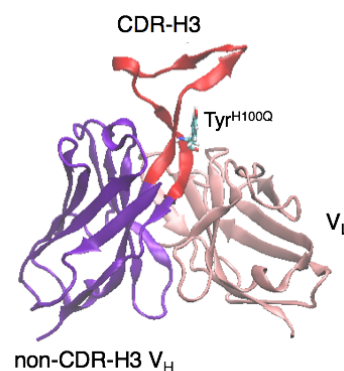


図1. PG16の立体構造

は WT で 4.86 ± 2.15 Å, 4.71 ± 1.88 Å, 4.06 ± 1.24 Å, Y100qF で 6.10 ± 1.75 Å, 5.06 ± 1.22 Å, and 6.39 ± 1.61 Å, Y100qA で 10.28 ± 2.35 Å, 5.71 ± 1.83 Å, and 4.43 ± 0.99 Å となり、変異体でやや大きい傾向となった。特に、Y100qA では 3 本中 2 本のシミュレーションで CDR-

H3 の RMSD の大きな変化が見られた。そこで、構造変化の詳細を調べるために主成分分析 (PCA) を行った。すべてのトラジェクトリを纏めて non-CDR-H3 V_H ドメインでフィッティングを行った後、主鎖の重原子の座標に対して PCA を行った。PC1 (寄与率: 32.9%) は CDR-H3 が non-CDR-H3 V_H および V_L ドメインに対して折れ曲がるような運動となっていた。Y100qF では WT に比べて PC1 方向にやや広がった分布が得られ、Y100qA では二峰性の分布が得られた。このことから Y100qA のシミュレーションでは CDR-H3 が大きく折れ曲がる構造転移が起きていることがわかった。また、各系単体での PCA の結果から、PC1 の運動方向は、WT でも動きやすい方向であることが示唆された。主鎖の二面角 (ϕ , ψ) の解析から、Y100qA では (構造転移が見られなかった 1 本も含めて) すべてのシミュレーションで Gly^{H97} の二面角が WT に比べて大きく変化しており、 ϕ , ψ ともに変化しやすい傾向にあることが示唆された。構造遷移が見られた 2 本では、 ψ に特に大きな変化が見られた。Gly^{H97} は変異を入れた Tyr^{H100Q} とともに疎水性コアを形成していると考えられている残基であり、Y100qA 変異体では、変異の影響により疎水性コアの相互作用が弱くなり、Gly^{H97} の二面角が変化しやすくなったことにより構造転移が起こりやすくなることが示唆された。Y100qF 変異体では Tyr^{H100Q} と Pro^{H99} の間の水素結合は消失するが、側鎖の疎水性相互作用が残るため、Y100qA に比べると構造転移は起こりにくくなっていると考えられる。

3. 学際共同利用が果たした役割と意義

数万から数十万原子のシミュレーションを野生型や変異体の各系について複数本行おうとすると計算量が大きくなる。メニーコア CPU を搭載した並列化効率の高い計算機を用いることで効率的にシミュレーションを実施することができた。また、本プロジェクトにより複数のタンパク質について構造・動態・機能相関の解析を北見工業大学および広島市立大学の共同で実施することができた。

4. 今後の展望

本プロジェクトでは V_H, V_L ドメインのみのシミュレーションを行ったが、今後は C_{H1} ドメインおよび C_L ドメインを含めた Fab 領域全体のシミュレーションを行い、両ドメインの Fab 領域の動態への影響を含めて解析を行いたい。また、PG16 と同様に高い HIV 中和能を持つ PG9 についてもシミュレーションを行い、PG9 および PG16 の CDR-H3 周辺の動態の比較を行いたい。

5. 成果発表

(1) 学術論文

- i. Yu Takano, Hiroko X. Kondo, Yusuke Kanematsu, and Yasuhiro Imada, "Computational study of distortion effect of Fe-porphyrin found as a biological active site", *Japanese Journal of Applied Physics* **59**, 010502, 2020

ii. Hiroko X. Kondo, Ryo Kiribayashi, Daisuke Kuroda, Jiro Kohda, Akimitsu Kugimiya, Yasuhisa Nakano, Kouhei Tsumoto, and Yu Takano, "Effects of a remote mutation from the contact paratope on the structure of CDR-H3 in the anti-HIV neutralizing antibody PG16", *Scientific Reports* **9**:19840, 2019

iii. 近藤 寛子, 吉田 紀生, 城田 松之, "電位依存性カリウムチャンネル Kv1.2 の変異体における不活性化の分子機構の解析", *アンサンブル* **21**, 283-289, 2019

(2) 学会発表

i. Hiroko X. Kondo, Norio Yoshida, Gen Masumoto, Matsuyuki Shirota, Yu Takano, and Kengo Kinoshita, " (口頭) Analysis of Effect of Mutation on the Response for Membrane Depolarization in the Voltage-Gated Potassium Channel Kv1.2", 第 97 回日本生理学会大会, 大分, 2020 年 3 月

ii. Hiroko X. Kondo, Norio Yoshida, Gen Masumoto, Matsuyuki Shirota, Yu Takano, and Kengo Kinoshita, (口頭) "Analysis of Effect of Mutation on the Response for Membrane Depolarization in the Voltage-Gated Potassium Channel Kv1.2", 第 57 回日本生物物理学会年会, 宮崎, 2019 年 9 月

(3) その他

使用計算機	使用計算機 に○	配分リソース*	
		当初配分	追加配分
Cygnus	○	2520	
Oakforest-PACS	○	22400	
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。			