

課題名 (タイトル) :

**Analysis of a peptide's motions and structural changes in MHC class II molecule of mouse under effects of DM molecule**

利用者氏名 : ○宮部俊宏

所属 : 生命システム研究センター 計算分子設計研究グループ

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

本課題の対象としているのは2つの免疫系タンパク質とそれらの相互作用である。対象タンパク質は Major Histocompatibility Complex Class II Molecule (MHC) 及びそのホモログ分子である DM 分子である。MHC は免疫系の反応を促す非常に重要なタンパク質で、MHC は樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞の表面に存在する。抗原提示細胞は体外からの抗原を飲みこみ破碎してペプチドを生成し、MHC はこれらのペプチドのうちの 1 つと結合する。ペプチドと結合した MHC/ペプチド複合体は、自身を T 細胞受容体 (T Cell Receptor, TCR) に提示し、TCR が MHC/ペプチド複合体を認識すると、そのペプチドが由来しているタンパク質を体内から排除するように免疫系の反応を引き起こす。また、本研究で対象としているもう 1 つのタンパク質である DM 分子は、MHC に非常によく似たタンパク質であるが、構造が異なるためにペプチドと結合することが無く、また抗原提示することもない。DM 分子は MHC とペプチドの結合を触媒作用によって助けるといことが言われており、よりアフィニティの高いペプチドの結合を促すと考えられている。しかし、これらの作用が具体的にどのような作用でもって行われているのかは不明であった。したがって、本課題の目的は DM 分子が MHC にどのような効果を及ぼすことによってペプチド選択を助けているのかを解明するという部分、及び同時に行っていた実験から得られたデータとの比較である。

近年、ヒトの DM 分子がヒトの MHC 分子と作用している状態での結晶構造解析が発表された。論文によると、DM 分子は MHC とペプチドが結合する溝のような形状の部分に構造変化を及ぼしていることがわかった。MHC はタンパク質の上部に溝

のような形状の部分を持っており、この部分に対するタンパク質を水素結合によって結合し、TCR に提示することが知られている。しかし先述の論文では、DM 分子が MHC に結合した際には、MHC 上のペプチドの N 末端付近が結合する P1 pocket と呼ばれるサイトが MHC 自らの生成する水素結合によって閉じてしまうことが明らかになった。DM 分子はこの構造変化を通して、MHC 内の水素結合によるポテンシャル障壁を超えることの出来るようなアフィニティの高いペプチドを選択していると考察されている。

しかし、先述の研究は結晶化の観点から、ペプチドに制限があった。だが、論文によって報告から、ペプチドの N 末端側の情報が非常に重要であると考えられ、そのためには MHC の溝を埋め尽くす長さのペプチドが存在した状態での研究が必要である。そこで、我々の研究グループでは、X 線 1 分子追跡法 (Diffracted X-ray Tracking, DXT) を用いて MHC の溝を埋め尽くす長さのペプチドを用いた際の動態を解析することで結晶構造からの推察を確かめるとともに、分子動力学 (Molecular Dynamics, MD) シミュレーションを用いて DM 分子による MHC への効果を観測するという研究を行った。DXT は X 線を用いることで非常に小さな分子内レベルの運動を高速で観測することのできる 1 分子計測手法であり、MHC 上のペプチドの動態を観測できる手法である。したがって DXT を用いて DM 分子の影響の有無で MHC 上のペプチドの動態にどのような変化が起きたかを観測できる。また、MD シミュレーションではタンパク質を構成する全原子の動態を観測することが出来、結晶構造との比較が可能であり、また DXT によって得られた揺らぎのデータと比較を行うことも可能であると考えられる。

2. 具体的な利用内容、計算方法

計算には HOKUSAI GreatWave にインストールされている AMBER14 を用いた。リソースユニットとして GWACSG を用い、リソースグループとしては基本的に amber を用い、GPU を利用した計算の際には amber\_gpu を用いた。AMBER による計算において、作成した構造からトポロジーファイルと座標ファイルを作成する部分から、計算・解析までをすべて HOKUSAI GreatWave でおこなった。

計算対象としては DM 分子が作用している状態の MHC と DM 分子が存在しない状態の MHC を用いた。結晶構造解析データからホモロジーモデリングを行って結晶化の条件の制約を取り除いた構造である。これらについて 200ns の計算を行った。

### 3. 結果

計算結果を解析することによって、根平均二乗変位 (Root Mean Squared Deviation: RMSD)、根平均二乗揺らぎ (Root Mean Squared Fluctuation: RMSF) と平衡状態の平均構造を算出した。これらのデータと結晶構造のデータを比較することによって、DM 分子の影響を明らかにすることが出来た。また、揺らぎ情報によって実験との比較が可能であることが示唆された。

### 4. まとめ

計算により、DM 分子が MHC に及ぼす影響を観測することが出来た。また実験の結果と比較可能なデータを得ることが出来た。

### 5. 今後の計画・展望

計算時間の伸長、また実験計測時間を短くすることなどによって、計算と実験のタイムスケールを揃えて直接的な比較を行う。また、ペプチドの種類を変えることによって DM 分子の効果に変化があることなどを確認したい。また、今回実験計測との比較が可能なが示唆されたため、他の系においても同様の研究手法を用いることが出来ると考えられる。

平成 27 年度 利用研究成果リスト

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

宮部俊宏, 松下祐福, 小園裕子, 関口博史, 池崎圭吾, 小園晴生, 佐々木裕次「X線1分子追跡法を用いた免疫系タンパク質におけるペプチド結合制御機構の動態解析」第29回日本放射光学会年会(2016/01/09-11)