



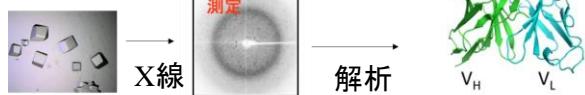
分子動力学計算による抗iPS 細胞抗体と糖鎖リガンドの相互作用様式の同定

○大野 詩歩¹, 田岡千拓¹, 大内 陽翔¹, 齋藤 祐希¹, 真鍋 法義¹, 湯浅 徳行², 松崎 祐二², 築地 信³, 川崎 敏祐⁴, 山口 芳樹¹
 1東北医薬大、2東京化成工業、3星薬大、4立命館大
 mail: s.ohno@tohoku-mpu.ac.jp

背景

タンパク質-糖鎖の相互作用様式を調べるためには、主に結晶構造解析が用いられる。

タンパク質+糖鎖の結晶



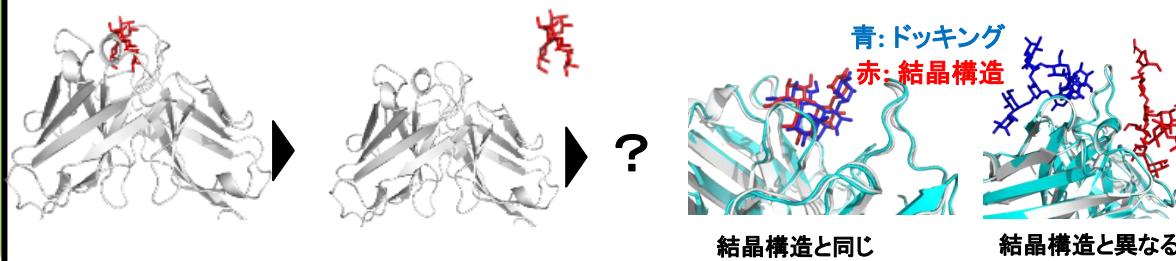
- ①結晶が得られない
- ②低分解能
- ③電子密度が低い

結晶構造解析はしばしば困難を伴う。

計算化学による解析

結果

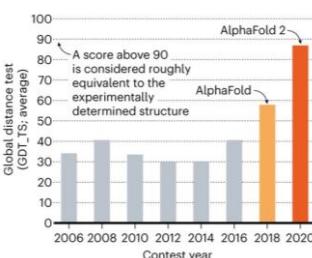
既知の抗体-糖鎖複合体のドッキングシミュレーション



既知の抗体-糖鎖複合体を再度ドッキングさせ、ドッキングの精度を判定する。

7例中5例が結晶構造の糖鎖と同じ向き・位置にある。
 正答率 約70%

近年、人工知能によるモデリングAlpha Fold や、リガンド探索システムAlphaFillの発展により、生物学分野において未知だった構造及び機能が明らかにされている。



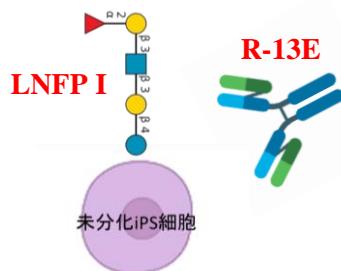
しかし、Alpha Foldではタンパク質-糖鎖複合体は得られない。AlphaFillは、低分子は補完できるが糖鎖などは適さない。Hekkelman et al., *Nature Methods*, 20, 205-213, 2023

精度が高いタンパク質-糖鎖複合体モデルを得るには？

Jumper et al., *Nature* 2021
Nature 588, 203-204 2020

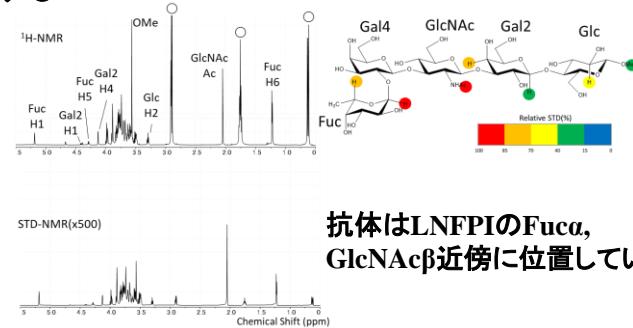
使用した抗体と糖鎖

発がん性を有する未分化iPS細胞に存在する糖脂質LNFP Iと、そのLNFP Iを認識し細胞障害活性を示す抗体R-13E。



Kawabe et al., *Glycobiology*, 23, 322-336, 2013 Matsumoto et al., *J. Biol. Chem.*, 290, 20071-20085, 2015

抗体とLNFP IのSTD-NMR解析



抗体はLNFP IのFuc α , GlcNAc β 近傍に位置していた。

目的

計算化学に実験データ(STD-NMR)を組み込み、精度が高い抗体-糖鎖複合体のモデルを得る。

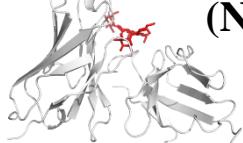


+



実験データ (NMR)

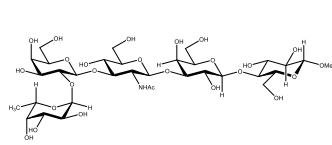
計算化学



抗体-糖鎖複合体モデル

方法

実験データ(STD-NMR)を組み入れたドッキングを行い精度を比較する。(計算ソフト: HADDOCK2.4)



糖鎖



抗体Alpha Foldモデル

ドッキングで得られた複合体に対して分子動力学(MD)シミュレーションによるモデルの最適化を行う。

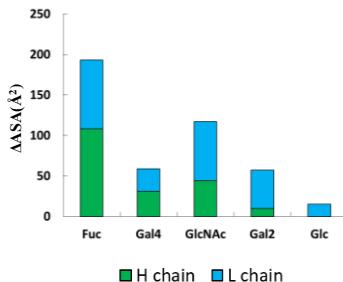
(計算ソフト: GENESIS1.7.0 力場: CHARMM36、シミュレーション時間: 100 ns)

抗体-LNFP I複合体のMDシミュレーションによる結合部位の解析

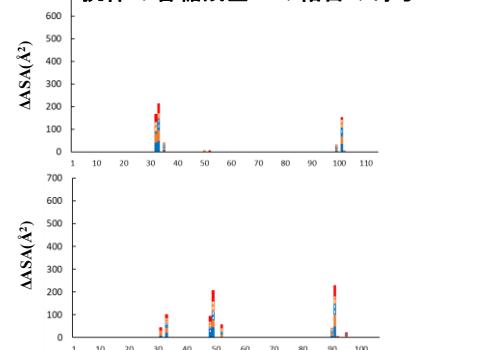
MDシミュレーション
 動画リンク



各糖残基の抗体への結合の寄与



抗体の各糖残基への結合の寄与

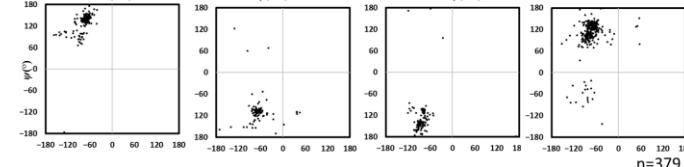


Δ ASA=溶媒露出度 Δ ASA=ASA(抗体結合なし)-ASA(抗体結合あり)

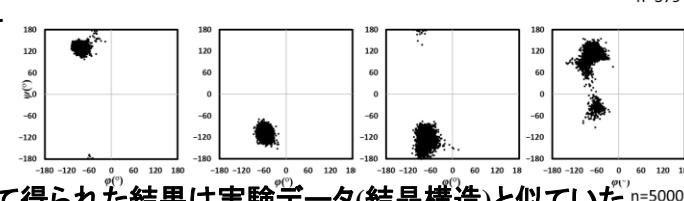
抗体はNMRの結果同様LNFP IのFuc α , GlcNAc β と主に結合していた。

抗体-LNFP I複合体のMDシミュレーションによるコンホメーション解析

結晶構造におけるLNFP Iの各構成2糖間の二面角の分布



MDシミュレーションによって得られたLNFP Iの各構成2糖間の二面角の分布



MDシミュレーションによって得られた結果は実験データ(結晶構造)と似ていた。n=5000

まとめ・謝辞

抗体-LNFP I複合体の解析において、計算と実験を組み合わせることが重要であり、相互補完的な手法の有効性が示唆された。

謝辞: 医薬基盤・健康・栄養研究所 李秀榮先生

東北大学サイバーサイエンスセンターAOBA-B