

MOE の HLA 解析アプリケーションの紹介

ヒト白血球型抗原 (HLA) の立体構造は細胞性免疫の分子機構を解明するために重要な分子です。弊社では、MOE 上で動作する HLA に特化したホモロジーモデリングツール HLA-Modeler¹⁾ と HLA 結合抗原性ペプチド予測ツール HLABAP²⁾ を開発しました。HLA-Modeler は、構造未知の HLA の立体構造を既知の HLA の構造を参照し予測します。HLABAP は HLA に結合する任意のペプチドの結合強度を予測し、親和性の高いペプチド配列を提案します。本稿では、これらのツールの概要と特長および解析例について説明します。

■ HLA-Modeler の概要

これまでに行われた X 線解析から HLA は共通の基本構造を持つことがわかっています。様々な HLA に特異的に結合する抗原ペプチドを正確に予測し、その相互作用を理解するためには、各 HLA に特有な立体構造をできるだけ正確に知ることが重要です。しかし、多様な HLA のうち、これまで X 線構造解析された HLA はその一部であり、今後も全ての HLA がすぐには構造解析されないことが想定されます。そこで弊社では、HLA とそれに結合するペプチドの立体構造を半自動で予測・評価する HLA 分子構造モデリングツール HLA-Modeler を開発しました。

HLA-Modeler は、HLA 立体構造データベース、HLA アミノ酸配列データベース及び HLA モデリングプログラムから構成されます。立体構造データベースは PDB に登録されている X 線の立体構造に基づいて構築しました。モデリングプログラムは、入力するアミノ酸配列と類似するテンプレート構造の選択、ホモロジーモデリング、結合ペプチドの配置、および構造の評価を半自動的に行います (図 1)。

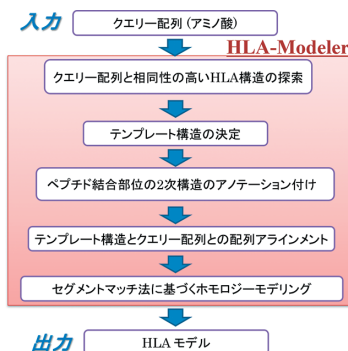


図 1. HLA-Modeler の動作フロー

■ HLA-Modeler の特長

■ 1. 計算速度

10 個の中間構造を作成して、一つの最終構造を得る場合、HLA-Modeler の計算は Intel Core i7-2620M CPU (2.70 GHz) を用いて数分で完了します。

■ 2. モデリング精度

HLA-Modeler は、複数提示されるテンプレート構造の選択と HLA に結合するペプチドのアライメント以外の作業は自動的に行いホモロジーモデルを構築することができます。ここでモデリング精度を検証するため、構造が既知である HLA の配列を用いて、実際の構造との一致度を主鎖構造の RMSD を算出して検証しました。テンプレート構造の選択は配列相溶性が高いものから採

用しました。

HLA Class I の 198 種類のアレルの配列とテンプレート構造を複数用いて、HLA-Modeler で合計 1060 の構造を構築しました。一例として、HLA-B*27:09 (PDB: 1K5N) をテンプレート構造として HLA-B*53:01 のホモロジーモデルを作成した結果、主鎖原子の RMSD は 0.67 Å となりました (図 2)。Class II では 45 種類のアレルの配列とテンプレート構造を複数使用し、合計 78 の構造を構築しました。

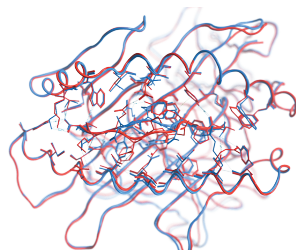


図 2. HLA-B*27:09 (PDB: 1K5N) をテンプレート構造として HLA-B*53:01 のホモロジーモデルを作成した例。青: X 線構造 (PDB: 1A1M)、赤: ホモロジーモデル。

HLA のホモロジーモデルと X 線構造との RMSD は、候補となったテンプレートの配列相溶性 (およそ 80 から 100%) によらず、0 から 3 Å の範囲内でした (図 3 (a))。このことは自動的に選択されるテンプレート構造が妥当であったことを示唆しています。さらに評価対象をペプチド結合ドメイン (Class I $\alpha 1+\alpha 2$, Class II $\alpha 1+\beta 1$) に絞った場合、RMSD が 0 から 1 Å の範囲に収まり、精度よく立体構造を予測できていることが示唆されました (図 3 (b))。

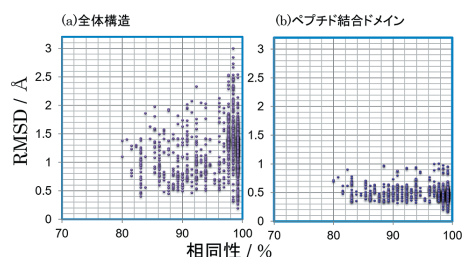


図 3. Class I におけるテンプレート/入力配列間の相溶性と X 線構造/ホモロジーモデル間の RMSD との関係

■ HLABAP の概要

HLA はペプチドと結合し、T 細胞受容体に対しペプチドを抗原として提示して特異的に結合します。特定の HLA に対して高い結合能を持つペプチドが得られれば、

そのペプチドを含む抗原タンパク質に対する免疫反応を効率的に誘導するワクチンを設計することができます。HLABAP (Human Leucocyte Antigen-Binding Antigenic Peptide Predictor) は特定の HLA の 3 次元構造に基づいて親和性の高いペプチド配列を提案するプログラムです。HLABAP の解析の流れは次のようになります。

1. 目的の HLA の立体構造を、最も相同性が高いアレル分子をテンプレートにしてホモロジーモデリングで構築します。あるいは既に HLA-Modeler で自動的に構築した構造を用います。
2. 1 で得られた HLA に結合しているペプチドをテンプレートにして、HLA の存在下で新規ペプチドをホモロジーモデリングします。
3. HLA 上に作成されたペプチドと HLA との結合スコアを計算します。

最終的にスコアによってユーザーが指定したペプチドが定量的に HLA に結合するか否かを判定することができます。スコアは MOE のスコア関数のうち Affinity_dG, London_dG, GBVI/WSA_dG, Contact Energy, Protein Properties を採用しています。

HLABAP の特長

1. モデリング精度

HLABAP は HLA のペプチド結合ポケットにペプチド構造をモデリングします。HLA-A*02:01 を例にとり、PDB に登録されている X 線構造の 9 残基のペプチドに着目し主鎖原子の RMSD を計算すると N 末端から 1、2、3、7、8、9 番目のアミノ酸残基は主鎖の RMSD がおよそ 1 Å 以内で再現できていることがわかります (図 4)。

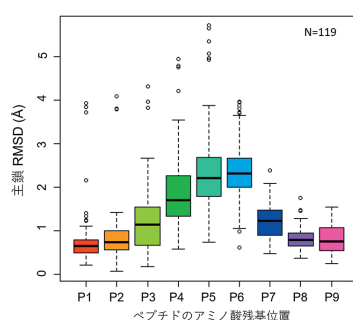


図 4. HLABAP により作成したペプチド構造と X 線結晶構造との RMSD による比較。

モデリングされた残基の RMSD 値は十分に小さく、両端の残基の構造がアンカーとして HLABAP によって適切に予測されていることを示しています。比較的 RMSD が大きくなった P3~P7 残基は HLA の表面に露出しているため、対応する T 細胞受容体が結合していない場合、比較的柔軟な構造になります。すなわち、この結果は HLABAP が結合親和性の実験値を予測するために精度よく抗原ペプチドの 3D 構造を構築できていることを示しています。

2. スコアの妥当性

HLA-A*02:01 とペプチドの結合アッセイデータを用い

た解析精度の検証事例を示します。配列と結合データ (IC₅₀) は The Immune Epitope Database (IEDB) のウェブサイトから取得し、ペプチド配列 3995 種とその活性値を得ました。pIC₅₀ が 7.3 以上の配列は 1082 あり、ポジションごとに統計をとった場合、疎水性残基の位置が特徴的であることがわかります。P2, P9 位置に疎水性アミノ酸残基が頻出しており、俯瞰的に見れば疎水性残基の割合が多い傾向があることが確認されました (図 5)。

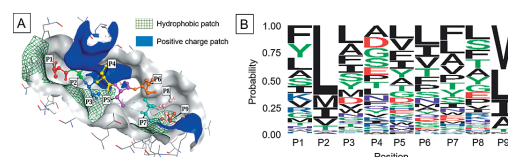


図 5. HLA のペプチド結合部位のタンパク質パッチ解析 (A) とペプチドのアミノ酸残基の出現頻度 (B)

HLA の構造として PDB ID: 1HHG を用い、ペプチド配列 3995 種を用いて HLABAP による解析を行いました。pIC₅₀ 値と単一のスコアリング関数の相関を表 1 に示します。Contact Energy は、pIC₅₀ の実験値とスコアとの相関係数が他のスコアと比較して最も高いことが示されました。pIC₅₀ = 7.8 を閾値として高活性ペプチドの判定率と誤判定率の ROC 曲線プロットを描き、曲線下の面積 (AUC) を求めたところ、Contact Energy は最も高い 0.748 となり、任意の Class I アレルの pIC₅₀ 値を適切に予測できることを示唆しています。異なる実験室でのアッセイの結果は互換性が低いことを考えると、Contact Energy を使用することにより、比較的良く予測できると考えられます。

表 1. HLA-peptide 結合におけるスコアと pIC₅₀ との相関

Scoring function	r ²	AUC
Contact Energy	0.301	0.748
Affinity_dG	0.105	0.669
GBVI/WSA_dG	0.067	0.631
London_dG	0.007	0.569

まとめ

HLA-Modeler は、新規 HLA の 3 次元構造をホモロジーモデリングで構築するツールであり、HLABAP は与えられた HLA の 3 次元構造に基づいて親和性の高いペプチド配列を提案する MOE のカスタムプログラムです。これらは MOE の保守ユーザーの方には、無償で提供いたします。ご希望の方は弊社のサポート窓口までご連絡ください。

- 1) Amari, S.; Kataoka, R.; Ikegami, T.; Hirayama, N. HLA-Modeler: Automated Homology Modeling of Human Leukocyte Antigens. *Int. J. Med. Chem.* **2013**, *2013*, Article ID 690513, 6 pages.
- 2) Kataoka, R.; Amari, S.; Ikegami, T.; Hirayama, N. HLABAP: HLA Class I-Binding Antigenic Peptide Predictor. *Chem-Bio Inf. J.* **2020**, *20*, 1-4.